



**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**

Facultad de Medicina

Licenciatura en Biomedicina



Instituto de Fisiología

Laboratorio de Neuromodulación

**“EFECTO DE LA ACETILCOLINA SOBRE LA MODULACIÓN  
GLUTAMATÉRGICA TIPO NMDA EN NEURONAS PIRAMIDALES DE CAPAS  
II/III DE LA CORTEZA PREFRONTAL DE RATA”**

Tesis para obtener el grado de

**Licenciada en Biomedicina**

Presenta

**Diana María Vázquez Candanedo**

Director

**D.C Jorge Luis V. Flores Hernández**

Codirector

**D.C Oswaldo Torres Ramírez**

**Puebla, Pue. Octubre 2020**

**Agradecimientos:**

A mis padres, hermanos y toda mi familia por su constante e incondicional apoyo. A mis maestros que me guiaron a lo largo de toda mi formación. Al laboratorio de Neuromodulación, por la oportunidad de realizar mi proyecto de tesis, su apoyo, guía y paciencia.

## ÍNDICE

1. Abreviaturas	5
2. Resumen	6
3. Introducción	6
4. Antecedentes Generales	8
4.1 Corteza Prefrontal	8
4.2 Estructura y conexiones de la Corteza Prefrontal	8
4.3 Funciones asociadas a la Corteza Prefrontal	11
4.4 Capas II-III de la Corteza Prefrontal	15
4.4.1 Características de las Capas II-III de la Corteza Prefrontal	15
4.4.2 Morfología y Proyecciones	15
5. Glutamato	21
5.1 Receptores Glutamatérgicos	21
5.1.1 Receptores ionotrópicos AMPA y Kainato	21
5.1.2 Estructura, función y farmacología de los receptores NMDA	26
5.2 Receptores Metabotrópicos	32
6. Acetilcolina	35
6.1 Síntesis y Estructura de la Acetilcolina	35
6.2 Funciones asociadas de la Acetilcolina en la Corteza cerebral	38
6.3 Receptores de Acetilcolina	39
6.3.1 Estructura y Función de los Receptores Nicotínicos	39
6.3.2 Estructura y Función de los Receptores Muscarínicos	46
6.3.3 Farmacología	49
7. Antecedentes Específicos	50
7.1 Interacción de la Acetilcolina con los receptores Glutamatérgicos	50
8. Justificación	52

9. Planteamiento del problema	53
10. Hipótesis Científica	54
11. Objetivos	54
11.1    Objetivo General	54
11.2    Objetivos Particulares	54
12. Material y Métodos	55
12.1    Diseño del estudio	55
12.2    Ubicación espacio-temporal	55
12.3    Estrategia de Trabajo	55
12.4    Muestreo	55
12.5    Definición de Variables y Escalas de Medición	55
12.6    Método recolector de datos	56
12.7    Técnicas y Procedimientos	56
12.8    Análisis de Datos	56
12.9    Diseño Estadístico	57
13. Resultados	58
14. Discusión	70
15. Conclusiones	75
16. Bibliografía	75
17. Anexos	115

## 1.ABREVIATURAS

ACh - Acetilcolina

ACN- 3a, 5a, 17b-3-hidroxiandrostano-17-carbonitrilo

AMPAr – Receptores a ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico

ATP- Adenosín trifosfato

CCA - Corteza cingulada anterior

CIL – Corteza infralímbica

CM1 - Corteza motora primaria

COL - Corteza orbital lateral

COM - Corteza orbital medial

CPF - Corteza prefrontal

CPFm - Corteza prefrontal media

CPL - Corteza prelímbica

CPOV - Corteza prefrontal orbital ventral

CPOVL - Corteza prefrontal orbital ventrolateral

CPrC - Corteza precentral

DAT- Dominio amino terminal

DLP - Depresión a largo plazo

ECL –Bucles Extracelulares

LBD- Dominio de unión a ligando extracelular

mGluR – Receptores a glutamato metabotropicos

MK-801 – Dizoclipina

nAChRs - Receptores a acetilcolina nicotínicos

NMDAR -Receptores a ácido N-metil-D-aspártico

PCP-Fenciclidina

PIP<sub>2</sub> - Fosfatidilinositol bisfosfato

PIP<sub>3</sub> - Fosfatidilinositol trifosfato

PLP - Potenciación a largo plazo

RNA - Ácido ribonucleico

SNC- Sistema nervioso central

## 2. RESUMEN

En el presente trabajo realizado en el laboratorio de neuromodulación del instituto de fisiología de la Benemerita Universidad Autonoma de Puebla, se analizaron neuronas piramidales de las capas II-III de la corteza prefrontal de ratas macho de 30 días de la cepa Wistar, en las cuales se encontró una potenciación de la Acetilcolina (ACh) sobre la corriente de ácido N-metil-D-aspartico (INMDA) la cual fue resistente a la aplicación de dos antagonistas clásicos de los receptores nicotínicos y muscarínicos de la ACh, lo cual sugiere que la ACh puede estar actuando de manera directa sobre el receptor a ácido N-metil-D-aspartico .

## 3. INTRODUCCIÓN

La ACh es un neurotransmisor no-monoaminérgico abundante en el sistema nervioso central (SNC). La innervación colinérgica en el cerebro conocida hasta ahora involucra dos vías; la primera comienza en el área tegmental lateral del tallo cerebral (Núcleo Pedúnculo Pontino) y proyectan hacia los ganglios basales, mientras que la segunda vía inicia en los núcleos basales de Meynert, cuyas proyecciones llegan al hipocampo, la amígdala y los lóbulos frontales (Kapalka y George, 2010).

La ACh está implicada en varios procesos de comportamiento, tales como la atención y la toma de decisiones, así como regular los efectos de pérdida de una recompensa o incluso el estar consciente. Así mismo, tiene un rol importante en las áreas de asociación de la corteza cerebral, en donde actúa como estimulador de la actividad neuronal en la corteza prefrontal de ratas, o estimulador de una actividad neuronal relacionada con el comportamiento en la corteza orbitofrontal de primates (Perry y Perry, 1995; Dalley *et al.*, 2004; Botly y De Rosa, 2009).

Por otra parte, el receptor a NMDA (NMDAR) juega un papel importante sobre procesos fisiológicos y patológicos a nivel del SNC, como la potenciación a largo plazo (PLP), la depresión a largo plazo (DLP), la plasticidad cerebral y la

excitotoxicidad (Dildy-Mayfield *et al.*, 1996; Cull-Candy *et al.*, 2001; Zito, 2009; Collingridge y Bliss, 1995; Bliss y Collingridge, 1993).

Algunos estudios han reportado que el NMDAR y la ACh interactúan entre ellos, lo cual estaría regulando varios procesos en el SNC. Makram y Segal en 1990 fueron de los primeros en describir una potenciación por parte de la ACh sobre las corrientes generadas por NMDA (INMDA), así mismo se han reportado efectos reguladores y efectos inhibidores (Metherate y Ashe, 1995). Sin embargo, dichos efectos se han atribuido a la interacción de los receptores colinérgicos (nicotínicos o muscarínicos) con los receptores glutamatérgicos, incluido el NMDAR (Segal.,1992; Marino *et al.*, 1998; Aramakis y Metherate, 1998).

No obstante, algunos estudios sugieren una interacción directa de la molécula de ACh con el NMDAR. Flores-Hernández (*et al.*, 2009) describen un efecto inhibitorio directo sobre la INMDA dada por compuestos colinérgicos en las cortezas prefrontal y auditiva de rata, mismo que no es debido a proteínas G. Además, Ávila-Ruiz (*et al.*, 2014) reporta un aumento de la INMDA, en neuronas espinosas medianas y piramidales de rata tras un tratamiento crónico con Nicotina. Este estudio detalla que tras el uso de antagonistas del AMPc, el efecto persiste; proponiendo que posiblemente es un mecanismo diferente al muscarínico. Sin embargo se considera importante mencionar la posible existencia de un remanente de nicotina en el SNC que este potenciando la corriente, aunque este efecto fue visto en presencia de glicina.

Ambos estudios sugieren la existencia de un sitio de unión a agentes colinérgicos en el NMDAR, y plantean la posibilidad de que ese dominio estructural es el sitio asociado a glicina en la subunidad GluN1 del NMDAR. Así mismo, en el laboratorio de neuromodulación de la BUAP, se reportó que la D-tubocurarina (agente colinérgico nicotínico) inhibe en presencia de glicina la INMDA en neuronas del estriado (Luna-Leal, 2016).

Teniendo los anteriores estudios como antecedentes, en el presente trabajo realizado en el laboratorio de neuromodulación del instituto de fisiología de la BUAP,

se analizaron neuronas piramidales de las capas II-III de la corteza prefrontal de ratas macho de 30 días de la cepa Wistar, para determinar si existe una potenciación por parte de la acetilcolina sobre el receptor a NMDA, y si este efecto es mediado por los propios receptores de la acetilcolina o si tiene un efecto directo sobre el receptor a NMDA.

## **4. ANTECEDENTES GENERALES**

### **4.1 La Corteza Prefrontal**

### **4.2 Estructura y conexiones de la corteza prefrontal**

La corteza prefrontal (CPF) es una zona del Lóbulo frontal, el cual se extiende desde el surco central hasta el polo central, ocupando así casi la mitad de la corteza cerebral en primates, del cual casi la mitad del lóbulo frontal representa la CPF en primates y aproximadamente dos tercios en el cerebro humano (Barbas, 2009). La CPF corresponde al área cortical que recibe proyecciones del núcleo medial dorsal del tálamo y se considerada como una corteza de asociación, la cual se ve implicada en los llamados “procesos superiores” tales como: la memoria operativa, la toma de decisiones, la planificación del comportamiento y el procesamiento de señales emocionales, entre otros (Lozano y Ostrosky, 2011).

En primates, el Lóbulo Frontal se encuentra delimitado posteriormente por el área motora primaria (CM1), en la posición rostral se encuentra el área premotora y al frente de esta se encuentra el área prefrontal (Barbas, 2009). En el mapa original de Brodmann (1909) la CPF abarca 13 áreas arquitectónicas en humanos (8, 9,10, 11, 12, 13, 24, 25, 32, 33, 44, 45, 46 y 47) y 12 en primates (Fuster, 2001; Figura 1).



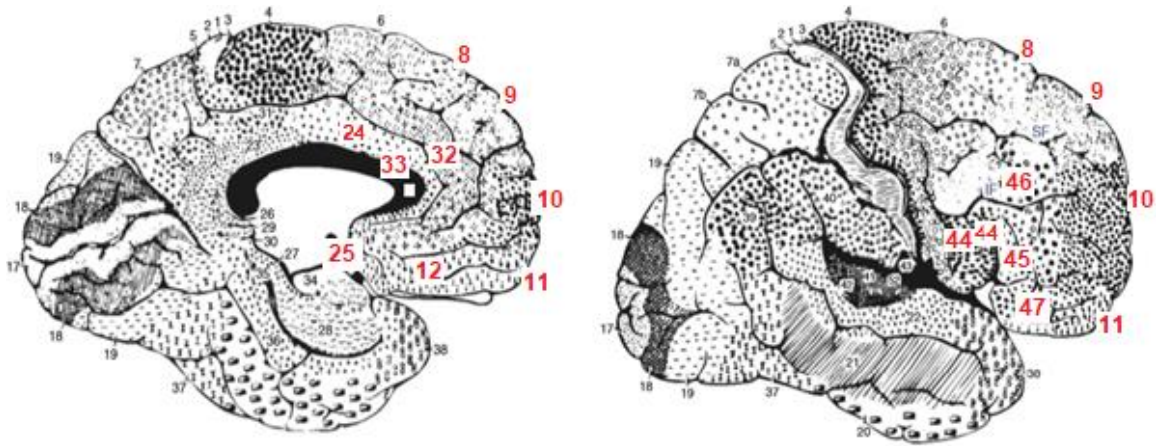


Figura 1. El mapa arquitectónico de la corteza humana por Brodmann. En rojo se muestran las áreas de Brodmann que corresponden a la corteza prefrontal (Modificado de Barbas, 2009).

De acuerdo con Uylings y Van Eden (1985) y Uylings *et al.* (2003) las subregiones de la CPF incluyen la corteza prefrontal medial, ventral medial, lateral y ventral. La corteza prefrontal medial a su vez, se puede dividir en una región medial dorsal que incluye la corteza precentral (PrCm) y la corteza cingulada anterior ventral y dorsal (CCA). La CPF medial ventral se puede subdividir en la corteza prelímbica y la corteza infralímbica, así como en la corteza orbital medial. La CPF lateral se puede subdividir en la corteza dorsal y la corteza ventral insular y las cortezas orbitales laterales. La corteza prefrontal ventral se puede subdividir en las orbitales ventrales y ventrolaterales (CPOVL / CPOV; Figura 2).

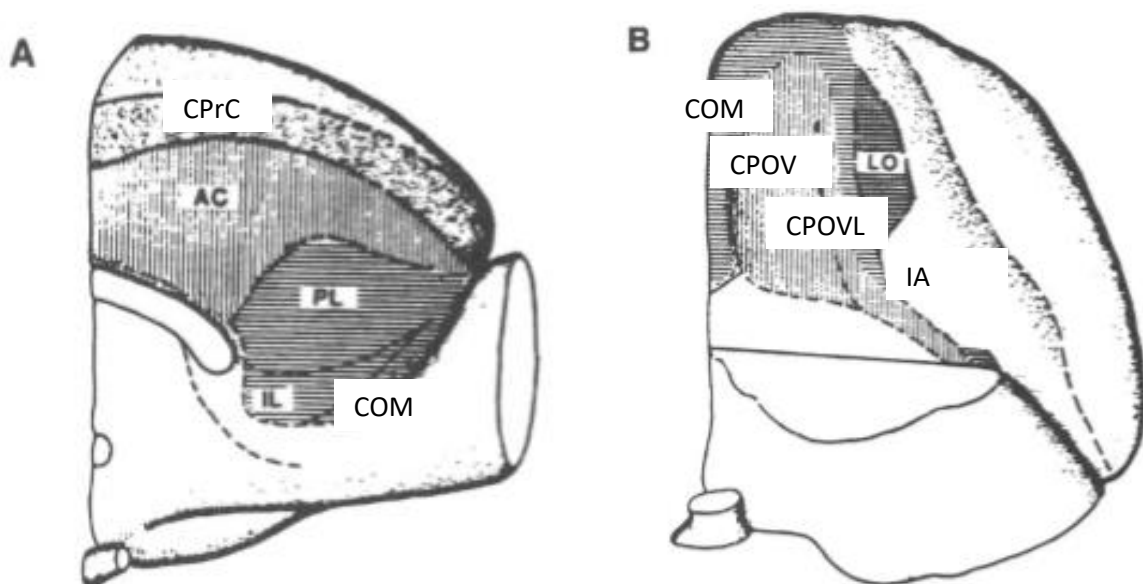


Figura 2. Representación de la CPF en rata. (A) Vista medial. (B) Vista ventral. CPrC, corteza precentral; Cingulada anterior dorsal y ventral; PL-IL, corteza prelímbica e infralímbica; COM, corteza orbital medial; IA, donal y corteza insular agranular ventral; COL, corteza orbital lateral; CPOV, corteza orbital ventral; CPOVL, corteza orbital ventrolateral (Tomado de Kesner, 2000).

Es importante considerar la organización de las capas de la CPF, la mayoría de las zonas mencionadas anteriormente, están conformadas por seis capas que se enumera de I a VI. Sin embargo, el ancho y la cantidad de neuronas presentes en esta capa varían ampliamente dependiendo de la zona en la que se encuentran. La capa IV es la más densa y ancha en la zona lateral (área 8 en humanos y 46 en macacos), pero la menos desarrollada en la zona medial y orbitofrontal (Fuster, 2008). Las diferentes zonas en las que se divide la CPF son áreas citoarquitectónicas que son más pequeñas que las identificadas por Brodmann, y por lo tanto constituyen subdivisiones de ellas (Barbas, 2009).

Las conexiones de la CPF están íntimamente relacionadas con la función que desempeñan: la zona medial y la zona orbital de la CPF se ven implicadas en el control de las emociones ya que están conectadas con estructuras límbicas; mientras que la CPF postero-medial y la CPF orbital, que se conectan con el hipotálamo, el tálamo anterior y la amígdala, se ven implicadas en funciones ejecutivas como la toma de decisiones, y el procesamiento de estímulos del medio ambiente (Fuster, 2008).

Las principales conexiones aferentes y eferentes de la CPF media (CPFm), son la entrada sensorial-motora y la entrada de las áreas neocorticales de asociación, incluidas las áreas talámicas asociadas, así como los núcleos talámicos dorsales mediales y los núcleos talámicos intralaminares. Además, las proyecciones córtico-estriatales de la corteza pre-central medial inervan la parte central del caudado putamen, mientras que la corteza anterior del cíngulo termina más medialmente y también inerva el centro del núcleo accumbens (Heidbreder y Groenewegen, 2003; Hoover y Vertes, 2007).

La CPFm ventral se puede subdividir en la corteza prelímbica e infra límbica, así como en la órbita medial. Las aferencias principales de la CPFm ventral incluyen el núcleo dorsal medial, el núcleo parataenial del tálamo, los núcleos talámicos de la línea media, el sistema límbico y las áreas de asociación límbica, como la corteza perirhinal, la corteza entorhinal, el hipocampo, el núcleo basal de la amígdala y la zona medial basal del cerebro. Las conexiones eferentes de la corteza prelímbica incluyen la parte ventromedial del caudado-putamen y el centro del núcleo accumbens, mientras que la corteza infralímbica y la orbital medial se proyectan a la capa medial del núcleo accumbens (Heidbreder y Groenewegen, 2003; Hoover y Vertes, 2007).

En resumen, la región medial dorsal tiene sus conexiones principales con el neocórtex, la CPF medial ventral con el sistema límbico, la CPF lateral y la CPF ventral con las áreas neocorticales, incluidas las conexiones con los sistemas olfativo y gustativo, pero no con el sistema límbico. Las cuatro áreas diferentes de la CPF proyectan a diferentes partes del caudado putamen (Kesner y Churchwell, 2011).

### **4.3 Funciones asociadas a la CPF**

Como se mencionó anteriormente, las funciones de la CPF están relacionadas con las conexiones que esta posee con otras estructuras del cerebro, como otras regiones corticales y estructuras subcorticales; principalmente el estriado y el tálamo (Fuster, 2008). Casi todas las funciones de la CPF fueron descubiertas gracias a lesiones, por lo tanto se sabe que una lesión en esta área, altera tanto los aspectos cognitivos de la personalidad como los aspectos afectivos y emocionales.(Fuster, 2008).

#### *1) Funciones ejecutivas*

Las funciones ejecutivas se describen como tareas cognitivas de alto nivel las cuales otorgan la habilidad de organizar una secuencia de acciones para lograr una meta específica, y se consideran como las principales funciones de la CPF. Estas poseen cuatro componentes: las habilidades de formación de objetivos, la planificación, la realización de planes dirigidas a un objetivo y el desempeño efectivo (Jurado y Roselli, 2007). La unión de estos componentes permite la adaptación a diversas situaciones al mismo tiempo que inhibe comportamientos inapropiados. La misma unión permite crear un plan, iniciar su ejecución y continuar la tarea hasta llegar al objetivo planteado. Las funciones ejecutivas median la capacidad de organizar nuestros pensamientos y acciones dirigidos a un objetivo en específico y, por lo tanto, son esenciales en la vida diaria. El concepto de moralidad y comportamiento ético también representa una función ejecutiva (Ardila y Surloff, 2007).

El control de las funciones ejecutivas se encuentra principalmente en la CPF lateral; sin embargo, también se involucran otras zonas de la CPF en mayor o menor grado. La CPF orbital contribuye en mayor grado a los componentes afectivos de la toma de decisiones y la CPF medial contribuye a la atención para realizar las acciones. Por lo tanto, existe una participación homogénea de los lóbulos frontales, y específicamente de la CPF. Así mismo, las funciones ejecutivas están asociadas con diferentes regiones de los lóbulos frontales, y están distribuidas en una amplia red cerebral que incluye estructuras subcorticales y vías talámicas (Stuss y Alexander 2000; Stuss et al. 2002; Koechlin *et al.* 2000).

Por otro lado, los circuitos originados en la CPF que se dirigen al tálamo y los ganglios basales son considerados importantes para la realización de tareas ejecutivas: el circuito prefrontal dorso lateral se ve implicado en funciones de planeación, selección de metas, cambio de posición, memoria de trabajo, y autocontrol; mientras que el circuito prefrontal orbito frontal se encarga de evaluar riesgos y la inhibición de conductas inapropiadas (Royall *et al.*, 2002).

El control de la atención es una función ejecutiva que incluye atención selectiva, atención sostenida e inhibición de la respuesta (Anderson, 2002). Este control se

compone de cinco aspectos: Alerta, preparación del sistema (mejor rendimiento, mayor eficiencia para lograr una tarea), Atención espacial (visión, exploración y concentración), el control de la interferencia y la inhibición de estímulos que perturban la atención (Fuster, 2008; Chao y Knight, 1997).

La planificación es una función ejecutiva que se encarga de identificar y organizar los pasos y elementos necesarios para lograr un objetivo (Lezak *et al.* 2004). Estudios de imagen sugieren que distintas partes de la corteza prefrontal en humanos realiza diferentes partes en la guía del comportamiento, por ejemplo la CPF anterior lateral se le atribuye procesos de planificación en un modo de comportamiento impredecible (es decir, aleatorio), mientras que la CPF anterior medial es más activa en el modo predecible (Koechlin *et al.*, 2000).

La flexibilidad cognitiva es una función ejecutiva que se refiere a la capacidad de cambiar rápidamente entre diferentes conjuntos de respuestas (Anderson, 2002). Wise (*et al.*, 1996) sugirieron que la flexibilidad puede depender de diferentes subregiones dentro de la CPF .

El control cognitivo de la memoria nos permite recuperar conocimiento, de manera ordenada y planeada para llevar a cabo acciones encaminadas hacia un plan (Fuster, 2003). La CPF es el depositario de las redes de memoria ejecutiva, es decir, las redes que representan acciones pasadas, acciones futuras o ambas. Las funciones de memoria ubicadas en la CPF se clasifican en: la recuperación de memorias remotas y recientes, la consolidación de memorias y la memoria de corto plazo (Euston *et al.*, 2012).

Una función ampliamente estudiada de la CPF es su rol en la mediación de la memoria de trabajo, el cual es un proceso para el mantenimiento activo a corto plazo de la información, así como para el procesamiento de la información mantenida (Goldman-Rakic, 1987; Baddeley, 2003; Lara y Wallis, 2015) y es necesaria para la anticipación de las acciones. (Fuster, 2008). En resumen el rol de la CPF en la memoria de trabajo es el control de los procesos necesarios para realizar una tarea, tales como selección de la atención (Postle, 2006).

La síntesis o integración temporal, es otra función ejecutiva que nos permite organizar elementos de percepción y acción temporalmente separados en el pensamiento, habla o comportamiento dirigidos a un objetivo. (Fuster, 2001). La memoria de trabajo y la planificación, se complementan entre sí para cumplir la función más general de la integración temporal: la capacidad de llevar a cabo acciones. (Fuster, 2008).

El control verbal es una función ejecutiva que se da por la iniciativa y la productividad al hablar. El lenguaje hablado es, por supuesto, una forma de comportamiento secuencial que se basa en el ejercicio de la integración temporal y las funciones cognitivas que lo apoyan (Lezak *et al.*, 2004; Jurado y Roselli 2007).

## 2) *Control Emocional*

Los estímulos emocionales negativos activan una amplia red de regiones del cerebro, incluyendo la corteza prefrontal medial (CPFm) en relación con la corteza del cíngulo anterior (CCA) (Etkin *et al.*, 2011).

La actividad de la CCA está involucrada en las respuestas de conductancia de la piel condicionadas por el miedo y con el aumento de la frecuencia cardíaca bajo una situación de estrés social. Estudios indican que la estimulación eléctrica directa de la CCA provoca estados de miedo y por lo tanto sugieren que la CCA dorsal y la CPFm están involucradas en la generación de respuestas de miedo (Wager *et al.*, 2008; Milad *et al.*, 2007). Así mismo, estudios de imagen sugieren que estas áreas no funcionan exclusivamente en la expresión de respuesta a estímulos, si no también pueden apoyar los procesos de evaluación de estímulos (Meyer *et al.*, 1975). La CCA dorsal y la CPFm están asociados con la conciencia interoceptiva de los latidos del corazón, y la activación de la CCA dorsal y la CPFm durante la percepción interoceptiva lo cual se correlaciona con los niveles de ansiedad del organismo. Por lo tanto, la CCA y la CPFm dorsales funcionan en la evaluación y expresión del miedo o la ansiedad (Critchley *et al.*, 2004).

Las funciones relacionadas con la evaluación de los conflictos emocionales implican mecanismos neuronales superpuestos con la valoración y expresión del miedo, así

como el miedo a la extinción, por lo tanto apoyan el hecho de que la CCA y la CPFm estén involucrados no solo en el procesamiento del miedo, si no que también en las emociones negativas. Cabe destacar que, aunque la intensidad de las emociones negativas provocadas por un miedo condicionado y evocadas por el conflicto emocional difiere significativamente, se involucran en un circuito neuronal similar, probablemente porque tanto el miedo como el conflicto emocional reflejan eventos biológicamente destacados (Etkin *et al.*, 2011).

Durante la regulación del conflicto emocional, el procesamiento emocional se modula espontáneamente en ausencia de una instrucción explícita para regular la emoción. El procesamiento emocional también se puede modular mediante la aplicación consciente y voluntaria del control ejecutivo sobre el procesamiento de un estímulo emocional (Etkin *et al.*, 2011).

La regulación de conflictos emocionales, utiliza áreas ventrales de la CCA y la CPFm para inhibir el procesamiento emocional negativo en la amígdala, lo que reduce la interferencia de tareas. La CCA ventral y la CPFm podrían realizar una función inhibitoria de una emoción negativa, que fue desencadenada por otras regiones cuando existe la necesidad de suprimir la actividad límbica (Schiller y Delgado, 2010).

Las emociones positivas, que regulan y disminuyen las emociones negativas, se ha asociado con la activación en la CCA y la CPFm ventral. La evaluación y el procesamiento de estímulos positivos, se propone que esta mediada por la CCA y la CPF orbital, en donde la CCA se ocupa de calcular el valor de refuerzo de las acciones, mientras que la CPF orbital se ocupa de medir los valores de refuerzo de los estímulos (Dixon *et al.*, 2007).

#### **4.4 Capas II-III de la Corteza prefrontal**

##### **4.4.1 Características de las capas II-III de la Corteza prefrontal**

##### **4.4.2 Morfología y Proyecciones**

La corteza cerebral se conforma de seis capas, ordenadas paralelamente a la superficie cortical, de modo que la capa superior es la más superficial. Éstas se clasifican según el tipo celular que es más prominente en estas (Siegel y Sapru, 2011; Figura 3).

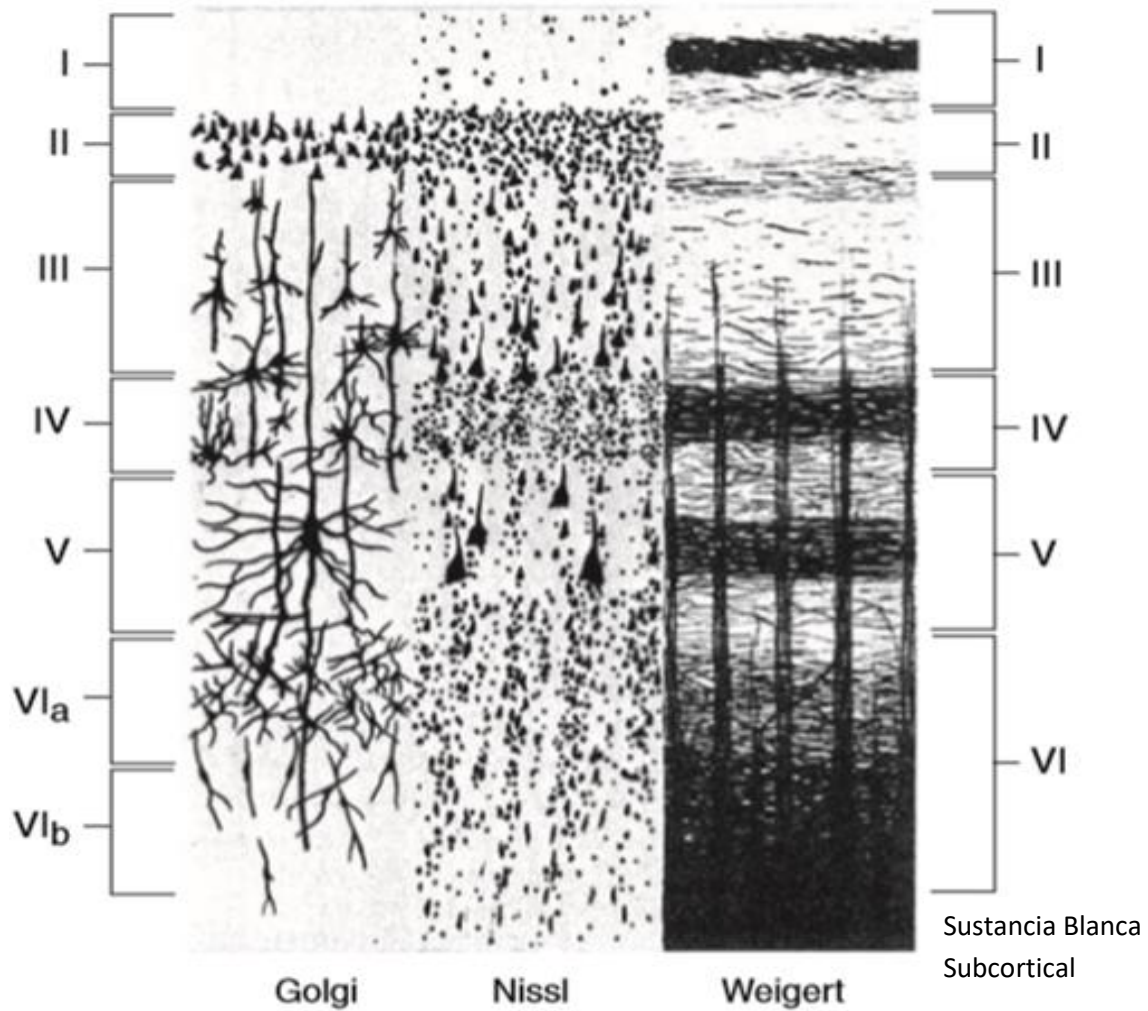


Figura 3. Estructura de seis capas de la corteza cerebral. La ilustración de la izquierda muestra las células en una sección teñida mediante la técnica de Golgi-Cox para la identificación de células neuronales, la ilustración en el centro muestra la apariencia cortical cuando se tiñe para el soma o cuerpo celular y la ilustración en la derecha representa la tinción para fibras nerviosas (Axones y dendritas) (Williams y Wilkins, 1996)

Las capas de interés par este estudio son las capas II-III. Sin embargo, se incluye a la capa I la cual no presenta neuronas piramidales, también describiremos las



características de la misma. La capa I, la más superficial, se conoce como la capa molecular, la cual contiene principalmente axones, dendritas y terminales axónicas de células, cuyos somas se encuentran en las capas más profundas; El tipo celular que predomina en esta capa es la célula horizontal cuyo axón viaja paralelamente a la superficie de la corteza (Siegel y Sapru, 2011).

La capa II se conoce como la capa granular externa, la cual se compone de células granulares, y estas pueden clasificarse en diversos tipos: Un tipo contiene axones cortos que se ramifican cerca del árbol dendrítico, llamadas células Golgi de tipo II; Otro tipo celular contiene un axón más largo que se extiende más que el árbol dendrítico, el cual asciende hacia la superficie cortical donde puede hacer contacto con dendritas de otras células, las cuales son llamadas células Golgi tipo I. La principal característica de las células de esta capa es que son células de recibimiento de aferentes e integradoras de información (Siegel y Sapru, 2011).

La capa III contiene principalmente células piramidales, y se conoce como capa piramidal externa. Las células piramidales tienen una dendrita apical que se extiende hacia la superficie cortical, y axones basales que se extienden fuera del soma celular. Las eferencias primarias de la corteza incluyen axones de células piramidales que se proyectan en todo el SNC (Siegel y Sapru, 2011).

De igual modo es importante mencionar que la apariencia histológica de la corteza cerebral varía entre regiones, lo cual se asocia con las diferencias de las funciones de estas zonas. Por ejemplo la CPF contiene gran abundancia de células piramidales, y pocas células granulares (Ver tabla 1).

Tabla 1. Composición celular de la corteza prefrontal.

Estructura	Consideraciones anatómicas	Importancia funcional
Células estrelladas (Granulares)	Cuerpos pequeños, localizados entre ramificaciones dendríticas. Todas las capas de la corteza, principalmente en la capa IV.	Neuronas receptoras de aferencias tálamicas. Modulan la excitabilidad de otras neuronas corticales.
Células piramidales	Cuerpos celulares variados. Patrones emplos de ramificación dendrítica apical y basal discurren perpendiculares a la superficie cortical y arborizan en las capas superiores.	Neuronas de proyección (p. ej., fibras [tractos] corticonucleares bulbares, corticoreticulares, y corticotálamicas).
Células de Martinotti	Células triangulares pequeñas presentes en todas las capas corticales.	Neuronas intracorticales.
Célula horizontal (de Cajal)	Células fusiformes pequeñas presentes principalmente en la capa cortical superficial.	Neuronas intracorticales.
Célula de Betz	Células piramidales gigantes.	Concentradas en el área 4 de Brodmann, corteza motora primaria. Da origen al tracto corticoespinal.
		Modificado de Rubin y Safdieh, 2008.

Las capas II-III de la CPF son las últimas en madurar (Clancy *et al.*, 2001) y en roedores estas capas muestran un desarrollo postnatal mediante sus conexiones con otras zonas corticales y la amígdala (Zhang, 2004). Estas capas de la CPF se encuentran inervadas por fibras serotoninérgicas, y la dopamina aumenta la amplitud de los potenciales postsinápticos excitatorios (Gonzalez-Islas, 2003). Además, la neuronas son sensibles a glucocorticoides, los cuales causan una reorganización en sus dentritas (Radley *et al.*, 2004).

Las células no piramidales de la capa II / III, se subdividen en cuatro subgrupos fisiológicos, que también difieren en las propiedades electrofisiológicas:

1. Las células de espigas rápidas muestran un episodio abrupto de descargas repetitivas no adaptativas de potenciales de acción de menor duración. Estas células muestran arbustos axonales locales y horizontales que no entran en la capa I. Este tipo de célula incluye células en canasta y células inmunoreactivas a parvalbúmina.
2. Células de espigas tardías las cuales exhiben despolarizaciones de rampa de curso lento, al ser depolarizada cerca del umbral. Estas células con células neurogliaformes.
3. Células con espigas de bajo umbral, las cuales exhiben espigas prominentes de bajo umbral activadas por hiperpolarizaciones. Los axones principales de las células ascienden y los axones colaterales llegan hasta la capa I.
4. Células no piramidales de espiga regular las cuales no pueden clasificarse en los tres subgrupos anteriores. Algunas de estas células muestran una rápida despolarización de pequeñas muescas de amplitud cuando se despolarizaron por hiperpolarizaciones (Kawaguchi, 1995).

La capa I es principalmente un área de recepción para fibras aferentes no específicas del tálamo intralaminar y de las neuronas monoaminérgicas del tronco cerebral. Las capas II y IV son principalmente áreas de recepción: la capa II es recibe aferentes corticales (callosales y de asociación), y la capa IV es un aferentes del tálamo. Las capas III y V contienen principalmente eferentes: la capa III contiene fibras de asociación callosa y cortical, y la capa V contiene eferentes que se

proyectan al cuerpo estriado, el tronco cerebral y la médula espinal (Figura 4; Siegel y Sapru, 2015).

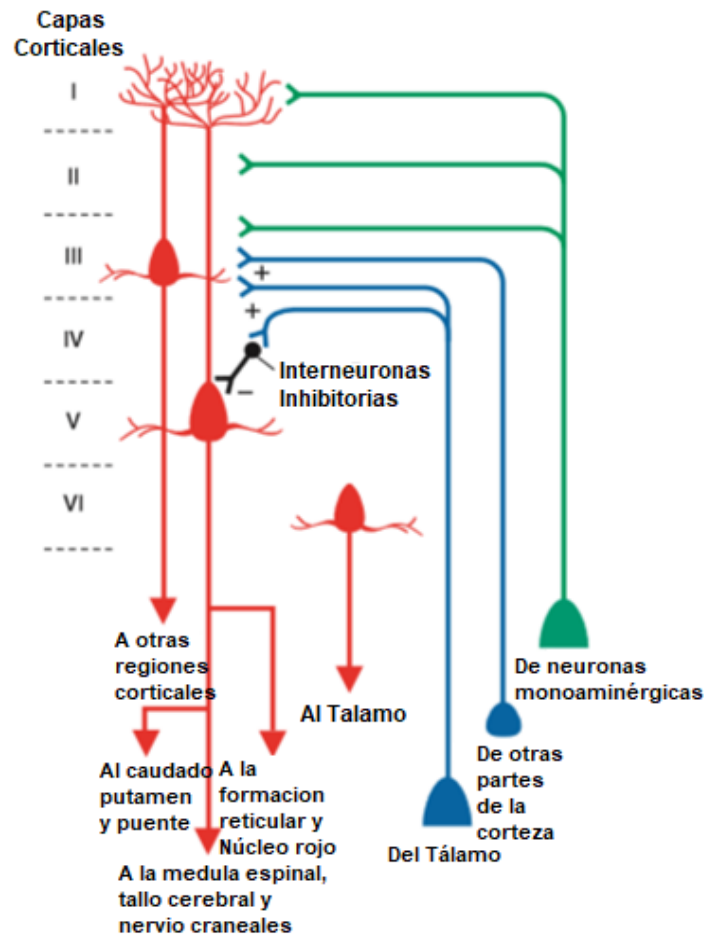


Figura 4. Distribución de las conexiones generales entre las diferentes capas de la CPF. Las capas I, II y III reciben información de las neuronas monoaminérgicas (en verde). Las capas III y IV reciben del tálamo y otras zonas corticales (en azul). La capa IV envía información al tálamo, la capa V al caudado putamen, al puente, a la médula espinal, a los nervios craneales, a la formación reticular y el núcleo rojo; y la capa VI envía información al tálamo (en rojo) (Modificado de Siegel y Sapru, 2015).

## 5. GLUTAMATO

### 5.1 Receptores Glutamatérgicos

#### 5.1.1 Receptores ionotropicos a AMPA y Kainato

Los receptores a AMPA ( $\alpha$ -amino 3-hidroxi 5 metil – ácido isoxazolepropiónico) o receptores a quisqualato, son hetero-tetrameros que se componen de subunidades denominadas GluR1 a GluR4, también conocidas como subunidades GluRA a GluRD. Un receptor funcional se compone generalmente de un dímero de subunidades GluR2 en combinación con otro dímero compuesto de cualquiera de las tres subunidades restantes, por lo que al receptor a AMPA se le conoce como un “dímero de dímeros” (Hollmann y Heinemann 1994, Wisden y Seeburg 1993; Figura 5).

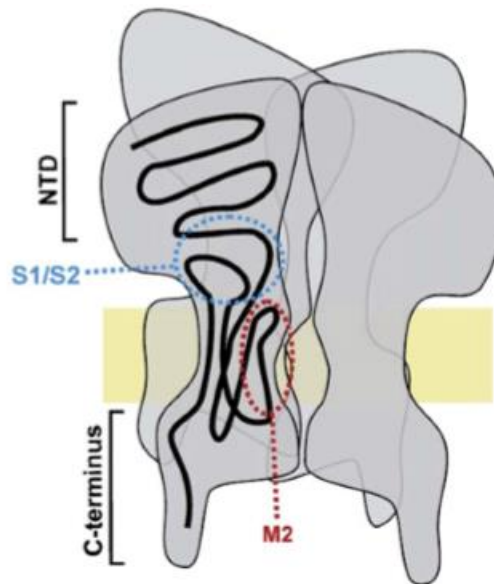


Figura 5. Representación tridimensional de un receptor a AMPA, compuesto de 4 subunidades. En la imagen se muestran las partes de cada subunidad, un dominio N- terminal, un dominio C- Terminal, y dos lazos intramembranales M1 (en rojo) y S1 o S2 (en azul cielo) (Tomado de Isaac *et al.*, 2007).

En el sistema nervioso central de mamíferos, los AMPAR están implicados en la modulación de la plasticidad sináptica. La plasticidad sináptica de largo plazo es la base del aprendizaje y la memoria (Hebb, 1949; Eccles, 1964; Alkon & Nelson 1990) ; Los principales ejemplos de plasticidad sináptica son la potenciación a largo plazo

(PLP) y la depresión a largo plazo (DLP), lo cual resulta de cambios en la liberación presináptica de glutamato y/o cambios en la función o localización del receptor postsináptico de glutamato (Linden, 1994; Kullmann y Siegelbaum, 1995; Maren y Baudry, 1995; Rison y Stanton, 1995; Asztely y Gustafsson, 1996; Levenes *et al.*, 1998; Carroll *et al.*, 1999; Malenka y Nicoll, 1999). Una característica de estos fenómenos es que un corto período de actividad sináptica, puede desencadenar cambios en la transmisión sináptica de larga duración (Bliss y Gardner-Medwin 1973, Bliss y Lomo 1973).

Los mecanismos que regulan la PLP y la DLP y por ende la plasticidad sináptica son la exocitosis postsináptica, específicamente por las proteínas de fusión de membrana (Lledo *et al.*, 1998); La regulación de la fosforilación de segundos mensajeros intracelulares y el reclutamiento de AMPAR a la membrana celular (Malinow y Malenka, 2002).

Otra función importante de los AMPAR es la liberación estimulada por glutamato de noradrenalina en la CPF y el hipocampo en modelos de ratas hipertensas (Lockhart *et al.*, 2000; Russell y Wiggins, 2000). Estos procesos sugieren una posible regulación positiva de los AMPAR en la CPF de estos modelos animales, la cual se mantiene aun en presencia del antagonista a AMPA (CNQX; Revisado posteriormente; (Russell *et al.*, 2000; Russell and Wiggins, 2000; Russell, 2001).

En cuanto a la farmacología del AMPAR, se encuentra resumida en la tabla 2.

Tabla 2. Farmacología de los receptores a AMPA

Farmacología del receptor a AMPA				
<i>Moduladores alostericos positivos.</i>	<i>Moduladores alostericos negativos.</i>	<i>Agonistas</i>	<i>Antagonistas</i>	
			<i>Competitivos</i>	<i>No Competitivos</i>
-Pyrrolidinas (Aniracetam, el Piracetam, el CX614, el 1-BCP) -Benzothiadiazidas (y el cyclothiazide, el diazoxide, IDRA-21 )	-2,3 Benzodiacepinas (la GYKI 53655, la GYKI 53784, la GYKI52466, la LY30016, el CMF-2 y la ISYM2202)	-EI( S)-2-Me-Tet-AMPA -ácido quisquálico -ácido glutámico, -La dysiherbaina -Willardiinas (1- (2-amino-2-carboxietil)	- Quinoxalinas (DNQX, NBQX, YM.90K y YM-872)	-la GYKI 52466
Petocz, 1975; Isaacson and Nicoll, 1991; Vyklicky <i>et al.</i> , 1991; Zorumski <i>et al.</i> , 1991; Hestrin, 1992; Patneau <i>et al.</i> , 1993; Barbour <i>et al.</i> , 1994 ; Wong <i>et al.</i> , 1994; Partin <i>et al.</i> , 1996; Chimirri <i>et al.</i> , 1997; Armstrong y Gouaux, 2000; Szabados <i>et al.</i> , 2001; O'Neil <i>et al.</i> ,2004.				

Los receptores a Kainato son tetrámeros, que, pueden ser homómeros o heterómeros, los cuales se componen de subunidades KA1, KA2, GluR5, GluR6 y GluR7. Las subunidades KA1 y KA2 muestran una especificidad alta hacia kainato y muestran una homología alta entre ellas, pero no con las subunidades GluR1-4 (Werner *et al.*, 1991; Herb *et al.*, 1992; Kamboj *et al.*, 1994). Mientras que las subunidades Glu5-7 muestran una especificidad hacia kainato baja (London y Coyle, 1979; Hampson *et al.*, 1987; Bettler *et al.*, 1990).

Los homotetrámeros que forman los receptores a kainato, pueden formarse de cualquiera de las subunidades GluR5-GluR7, sin embargo, las subunidades KA1, KA2, GluR5 no son capaces de formar homotetrámeros funcionales (Egebjerg *et al.*, 1991; Bettler *et al.*, 1992; Sommer *et al.*, 1992a; Schiffer *et al.*, 1997); Por otro lado, los heterotetrámeros pueden formarse por combinaciones de KA1 o KA2 y alguno de las subunidades GluR5-7 (Hollmann y Heinemann, 1994) (Figura 6).

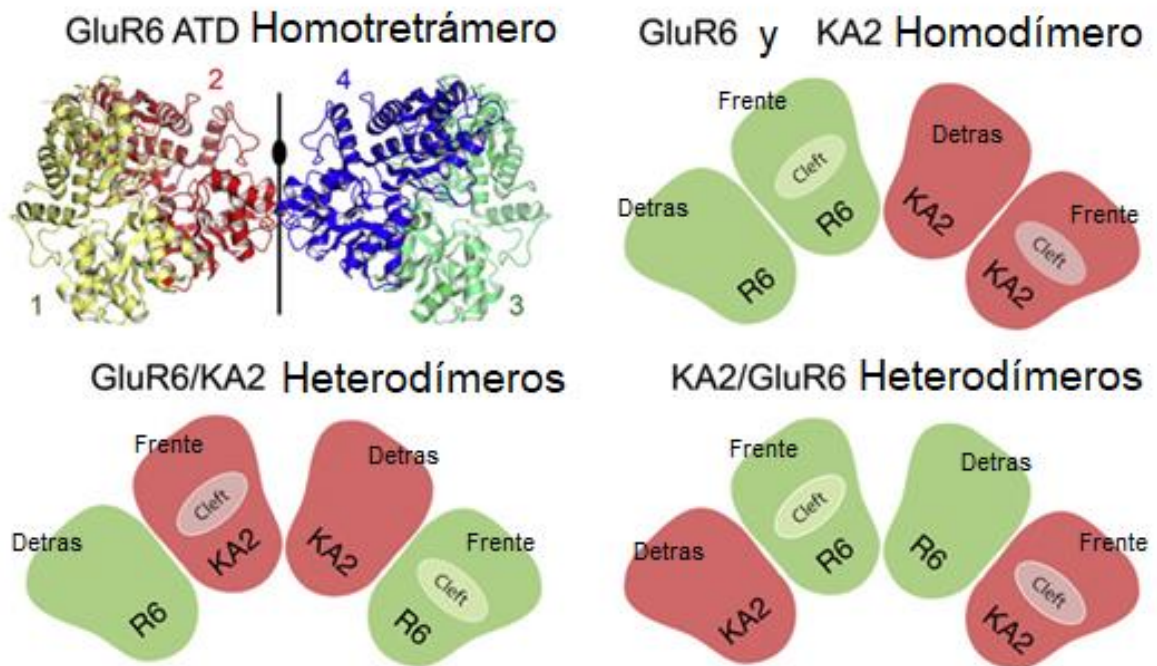


Figura 6. Estructura cristalográfica de un tetrámero formando un receptor a kainato, con las diferentes subunidades en diferentes colores (en rojo se muestra la subunidad KA2 y en verde la subunidad R6). También se muestran algunos ejemplos de combinaciones de las diferentes subunidades (Tomado de Kumar *et al.*, 2011).

La función de los receptores a kainato ha sido caracterizada gracias a la identificación de antagonistas selectivos al AMPAr, para así lograr aislar la corriente de kainato (Paternain *et al.*, 1995). Gracias a esto, se pudo identificar que estos receptores se ven implicados en la regulación de la actividad de las redes sinápticas, mediante mecanismos como la modulación presináptica, tanto de la transmisión excitatoria como la inhibitoria, el refinamiento de la fuerza sináptica durante el desarrollo y la mejora de la excitabilidad neuronal, todos estos mecanismos actúan en cierta medida en el comportamiento oscilatorio y en la cognición (Huxter *et al.*, 2007).

Los receptores a kainato también tienen una importante actividad como reguladores presinápticos de la liberación de neurotransmisores, visto por primera vez en neuronas hipocámpales. La modulación de la actividad de este receptor regula la liberación del transmisor en las sinapsis tanto excitadoras como inhibitorias de



manera bifásica, dependiendo del tipo de sinapsis, y la concentración de los moduladores (Pinheiro y Mulle, 2008; Lerma, 2006; Huettner, 2003). De esta manera, la activación de los receptores a kainato facilita la liberación de glutamato y contribuye a la plasticidad neuronal en las fibras musgosas del hipocampo. Asimismo, la activación de estos receptores es facilitada por la activación de los receptores a kainato, estos receptores contienen las subunidades KA1 y GluR5 (Contractor *et al.*, 2001; Lauri *et al.*, 2001; Pinheiro *et al.*, 2007; Schmitz *et al.*, 2001; Bortolotto *et al.*, 1999; Schmitz *et al.*, 2003; Scott *et al.*, 2008).

Por último, la activación de los receptores a kainato altera la transmisión GABAérgica, dependiendo del tipo de neurona así como las conexiones que esta posee con otras estructuras. El papel que el receptor a kainato juega en la depresión de la transmisión GABAérgica, es debido a la despolarización neuronal provocado por el receptor a kainato (Clarke *et al.*, 1997; Rodriguez-Moreno *et al.*, 1998; Frerking *et al.*, 1999; Jiang *et al.*, 2001; Mulle *et al.*, 2000). La farmacología del receptor a Kainato se encuentra resumida en la tabla 3.

Tabla 3. Farmacología del receptor a Kainato

Farmacología del receptor a Kainato	
Agonistas	Antagonistas
-EI ATPA	- LY382884
-La 5-iodowillardiina	-GAMS
-La 5-iodo-6-azawillardiina	-Derivados de quinoxalinediona (la LU115455, la LU136541, la LU 97175
-EI (2S, 4R)-4-methylglutamato	-Derivados de decahidroisoquinolina
-EI LY338434	-Derivados de willardiina (UBP282, UBP302)
-EI (S)- Glutamato	-La dysiherbaina
-La dysiherbaina y sus análogos (Neodysiherbaina, 8-deoxy-neoDH, 9-F-8-epi-neoDH, 9-deoxy-neoDH, el MSVIII-19)	-La neodysiherbaina.
Davies y Watkins, 1985; Fletcher <i>et al.</i> , 1988; Sheardown <i>et al.</i> , 1990; Zhou <i>et al.</i> , 1993; Wong <i>et al.</i> , 1994; Gu <i>et al.</i> , 1995 ;Jones <i>et al.</i> , 1997; Clarke <i>et al.</i> , 1997; Jane <i>et al.</i> , 1997; Møller <i>et al.</i> , 1999; Smolders <i>et al.</i> , 2002 ; More <i>et al.</i> , 2002; Alt <i>et al.</i> , 2004; Lash <i>et al.</i> , 2008	

### 5.1.2 Estructura, función y farmacología de los receptores a NMDA

Los receptores a N-metil-D-aspartato o NMDAR, son tetrámeros que pueden ser formados por tres diferentes subunidades denominadas GluN1-3. El procesamiento de RNA, después de la transcripción produce ocho diferentes variantes de la subunidad GluN1, mientras que la subunidad GluN2 y GluN3 son codificadas por cuatro y dos genes respectivamente, por lo tanto se conocen GluN2A-D y GluN3A y B (Moriyoshi *et al.* 1991, Sugihara *et al.* 1992, Zukin y Bennett 1995; Figura 7).

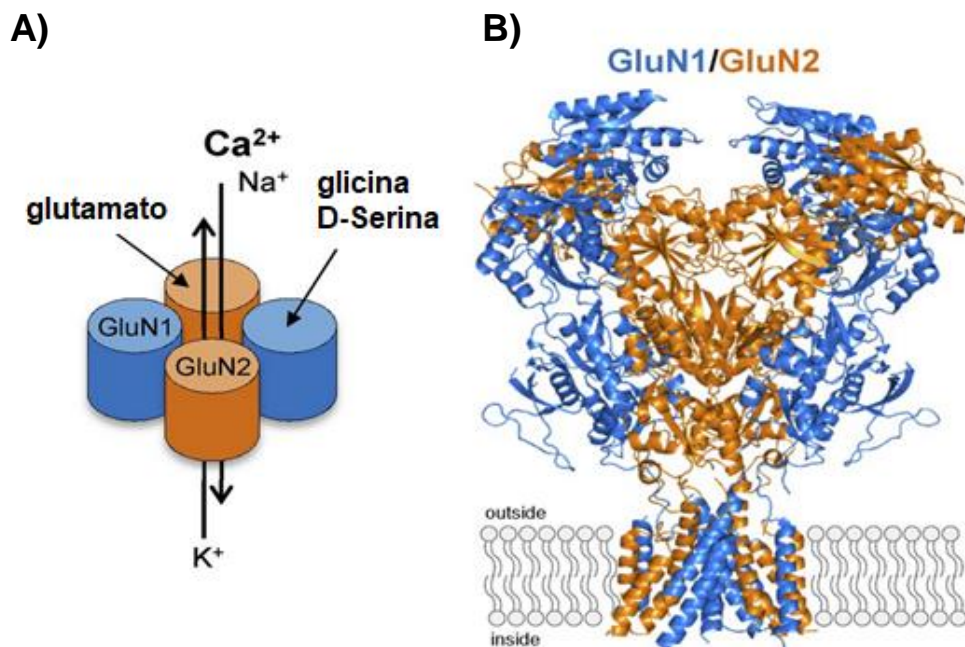


Figura 7. La estequiometría de las subunidades y la disposición de las subunidades de los receptores de NMDA. A) Se esquematiza un tetrámero formado x2 subunidades GluN1 se muestran en azul y las subunidades GluN2 en anaranjado. La figura ilustra como la subunidad GluN1 es afin a la Glicina y la D-Serina, mientras que la subunidad GluN2 es afin al glutamato. B) Se muestra la cristalografía del tetrámero de NMDA, con los dominios extracelulares e intracelulares (Tomado de Kasper *et al.* 2018).

Los receptores a NMDA funcionales son heterotetrámeros, que se componen de dos subunidades GluN1 obligatorias, junto con dos subunidades GluN2 o GluN3 (Monyer *et al.* 1992, Ulbrich y Isacoff 2008). Las subunidades de los NMDAR comparten una estructura de membrana, la cual consiste de un dominio amino

terminal (ATD) que está vinculado a un dominio de unión a ligando extracelular (LBD); que a su vez está conectado a un dominio transmembrana (MD) que forma el canal iónico formado por tres segmentos (TM1,3 y4), un poro reentrante (M2), un circuito extracelular entre TM3 y TM4; las hélices transmembrana a su vez se comunican con un dominio carboxilo terminal intracelular (CTD; Mullasseril *et al.*, 2010; Paoletti y Neyton, 2007; Figura 8)

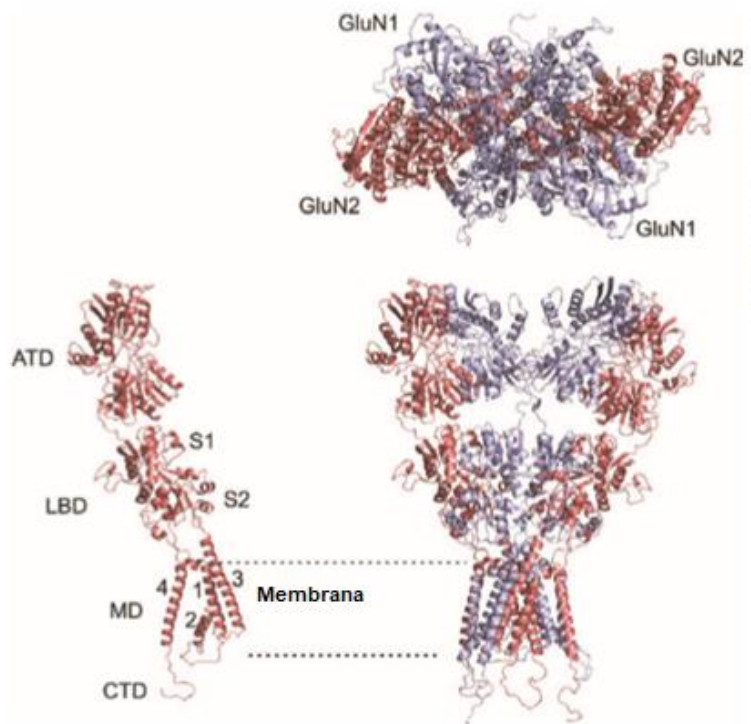


Figura 8. Modelo de homología del receptor tetramérico GluN1 / GluN2. La vista superior ilustra la disposición heterodimérica de subunidades GluN1 (en gris) - GluN2 (en rojo) actualmente predicha. Izquierda. Organización del dominio de una sola subunidad del receptor de glutamato. Dos dominios extracelulares similares a la cubierta (el terminal amino (ATD) y el dominio de unión al ligando (LBD) compuesto por dos lóbulos (S1 superior y S2 inferior)) están conectados al canal iónico formado por cuatro hélices de membrana (MD) que se comunican con el dominio intracelular carboxiterminal (CTD; Tomado de Vyklicky *et al.*, 2013).

La región extracelular de las subunidades NMDAR, se organiza como un conjunto de dos dominios. El dominio amino terminal desempeña un papel importante en el ensamble de las subunidades (Meddows *et al.*, 2001), en GluN2, este dominio

también contiene sitios de unión para inhibidores alostéricos, como  $Zn^{2+}$  e ifenprodil (Furukawa *et al.*, 2005; Mayer, 2006).

La activación de los NMDAR compuestos de subunidades GluN1/GluN2 requiere dos moléculas del coagonista glicina (Johnson y Ascher, 1987; Kleckner y Dingledine, 1988) y dos moléculas del agonista glutamato. Los NMDAR compuestos de GluN1/GluN3 requieren solo glicina para la activación (Watkins y Evans 1981, Patneau y Mayer 1990, Clements y Westbrook, 1991).

El glutamato es el principal neurotransmisor excitador en el SNC el cual se libera de los terminales presinápticos de las sinapsis glutamatérgicas y activa los NMDAR, ocupando dos sitios de unión localizados en la LBD de las subunidades GluN2. La concentración de glutamato extracelular determina el patrón específico de activación del NMDAR. El glutamato liberado sinápticamente alcanza un pico de concentración de  $\sim 1$  mM y luego se elimina rápidamente por difusión y recaptura, con una constante de tiempo de  $\sim 1$  ms (Bergles *et al.* 1999). Esta concentración transitoria de glutamato da como resultado la activación de los NMDAR, lo que contribuye a la transmisión sináptica. El sistema altamente eficiente de recaptura de glutamato, normalmente mantiene la concentración basal extracelular en el rango bajo de nM, impidiendo la activación del NMDAR en reposo (Herman y Jahr 2007, Herman *et al.* 2011).

Tras la unión de coagonistas y agonistas, el canal iónico se abre selectivamente para los cationes  $Na^+$ ,  $K^+$  y  $Ca^{2+}$  (Mayer y Westbrook 1987; Johnson y Asher, 1987).

Los dominios GluN1 y GluN2 forman un poro formado entre los dos lóbulos. Los agonistas estabilizan una conformación cerrada, mientras que los antagonistas competitivos evitan su cierre (Furukawa y Gouaux, 2003).

En el NMDAR, la disposición de las subunidades alrededor del eje de central determinará las posibilidades de dimerización. Alternar las subunidades GluN1 y GluN2 evita la formación de homodímeros, mientras que una disposición NR1 / NR1

/ NR2 / NR2 permite la formación de homo-dímeros, así como heterodímeros (Schorge y Colquhoun, 2003).

Los estudios de receptores recombinantes, proporcionan un entendimiento de cómo las propiedades del receptor se definen por las subunidades que posee; Existe un acuerdo general de que las moléculas de glutamato se unen con alta afinidad a las subunidades GluN2 de NMDAR (Chao *et al.*, 1997; Kashiwagi *et al.*, 2002; Chenard y Mettini, 1999), mientras que las moléculas de glicina se unen a las subunidades GluN1 (Perin-Dureau *et al.*, 2002).

Aparte de estas diferencias cinéticas, existen otras propiedades dependientes de las subunidades de los NMDAR: las conductancias y el bloqueo por  $Mg^{2+}$  extracelular. Por lo tanto, los NMDAR que contienen subunidades GluN2A y B generan aperturas de canal de "alta conductancia" con una alta sensibilidad al bloqueo por  $Mg^{2+}$ ; Mientras que los receptores que contienen GluN2C o GluN2D dan lugar a aperturas de "baja conductancia" con una menor sensibilidad a  $Mg^{2+}$  extracelular. También, hay diferencias en las características de activación de los receptores que contienen GluN2C y GluN2D; Si bien, la permeabilidad de  $Ca^{2+}$  es característica de los NMDAR, esta no se ve afectada significativamente por su composición de subunidades, por lo cual, es probable que la diferencia marcada en la sensibilidad de  $Mg^{2+}$  afecte el paso de  $Ca^{2+}$  generado por la activación sináptica de los diferentes subtipos de NMDAR (Momiya *et al.*, 1996; Flint *et al.*, 1997; Wyllie *et al.*, 1996). La subunidad GluN3 también puede dar lugar a aperturas de canal de baja conductancia, cuando se ensamblan con GluN2A, estos canales muestran una reducción de aproximadamente cinco veces la permeabilidad relativa de  $Ca^{2+}$  en comparación con los receptores formados por GluN1 y GluN2A (Das *et al.*, 1998).

Relacionado a esto, se ha demostrado que el empalme del exón 5, en los genes que codifican las diferentes subunidades de los NMDARs puede influir en las propiedades de inactivación de los NMDARs (Rumbaugh *et al.*, 2000). A diferencia

de los receptores que contienen GluN2A (Vicini *et al.*, 1998), el tiempo de desactivación de los receptores que contienen GluN2B depende de si GluN1 contiene o no el exón 5. La velocidad de inactivación es aproximadamente cuatro veces más rápida para los receptores que contienen el exón 5 que para los receptores que carecen del exón 5. Esto parece de interés en el tálamo y el cerebelo, donde hay evidencia de un aumento en el desarrollo del ARNm para los diferentes recombinantes de GluN1 que contienen el exón-5 durante el desarrollo (Laurie y Seeburg, 1994).

La actividad del NMDAR se puede modular tanto positiva como negativamente. Los moduladores positivos aumentan la respuesta o la afinidad por el agonista y contienen un sitio de unión diferente del sitio de unión para el agonista (Mullasseril *et al.*, 2010). Algunos compuestos endógenos, como las poliaminas, pueden potenciar la actividad de los receptores que contienen GluN2B (Williams *et al.* 1990) al aumentar la sensibilidad del receptor a glicina (Traynelis *et al.* 1995), estas se unen en el sitio que se encuentra entre los ATD de las subunidades GluN1 y GluN2B (Mony *et al.* 2011). Por otro lado, algunos neuroesteroides modulan positivamente la función de los NMDAR: el sulfato de pregnenolona potencia los receptores que contienen GluN2A o GluN2B al aumentar la probabilidad de que se abra el canal (Wu *et al.* 1991, Malayev *et al.* 2002, Horak *et al.* 2006). Por otro lado, un potenciador alostérico altamente selectivo se identificó: el (3-clorofenil) (6,7-dimetoxi-1 ((4-metoxifenoxi) metil) 3,4-dihidroisoquinolin2 (1H) -il) metanona (CIQ), que mejora la actividad de receptores recombinantes que contienen subunidades GluN2C o GluN2D al aumentar la frecuencia de apertura del canal (Mullasseril *et al.*, 2010).

Los antagonistas pueden clasificarse según su lugar de acción: en el sitio de unión del agonista (competitivo), dentro del poro del canal iónico (bloqueadores de canal), o en sitios de modulación específicos (no competitivos). Los antagonistas competitivos compiten con el agonista por el sitio de unión, pero no activan el receptor. Un ejemplo de antagonista competitivo, el (R)-2-amino-5-

fosfonopentanoato (R-AP5), muestra una fuerte afinidad por los NMDAR sobre todos los demás receptores a glutamato ionotrópicos; También muestra cierta selectividad entre las diferentes subunidades GluN2, mostrando una selectividad mayor para GluN2A y disminuyendo hacia el GluN2D (Akazawa et al., 1994). Otros antagonistas el (R)-CPP y el (R)-AP7 muestran una mayor selectividad a subunidades GluN2A y GluN2D que sus homólogos más cortos, PMPA y (R)-AP5 (Feng, 2005); El compuesto NVP-AAM077 es otro antagonista competitivo con selectividad mejorada para los receptores que contienen GluN2A sobre GluN2B (Neyton y Paoletti, 2006).

Los compuestos que inhiben al NMDAR ocupando el poro del canal iónico, son antagonistas no competitivos porque su acción requiere de la activación previa del receptor. Los bloqueadores del poro de los NMDAR generalmente no discriminan entre los subtipos NMDAR, tal es el caso de la fenciclidina (PCP), la tienilciclohexilpiperidina (TCP) y la ketamina, y de los fármacos clínicamente usados, como la memantina y la amantadina que son anestésicos usados en la medicina. El bloqueador de canal NMDAR altamente selectivo, la dizolcipina (MK-801) es más potente para inhibir los receptores GluN1, GluN2A o B que los receptores GluN1, GluN2C o D; Se observa un patrón de selectividad similar para los derivados de poliamina voluminosos, como la toxina de araña argiotoxina-636 o N1-dansil-espermina. Sin embargo, es interesante que estos bloqueadores de canales muestran más selectividad al menos unas 50 veces más para los receptores GluN1y GluN2A o GluN1 y GluN2B en comparación con los receptores GluN1 y GluN2C o GluN1 GluN2D (Raditsch *et al.*, 1993; Chao *et al.*, 1997).

Por último, los únicos compuestos conocidos que muestran una alta selectividad de subtipo NMDAR son el ifenprodil y derivados, que son antagonistas selectivos de los receptores que contienen GluN2B (Williams, 1993), los cuales son antagonistas selectivos de los receptores que contienen GluN2B (Perin-Dureau *et al.*, 2002; Malherbe *et al.*, 2003). También se hipotetiza que el ion  $Zn^{2+}$ , se une al NTD del GluN2A con afinidad nanomolar (Paoletti y Neyton, 2007); Este ion también se une

al NTD del GluN2B, pero con una afinidad 100 veces menor y no se une a los NTD del GluN2C o GluN2D (Traynelis *et al.*, 1998; Rachline *et al.*, 2005).

## 5.2 Receptores Metabotrópicos

Los receptores metabotrópicos a glutamato (mGluR) forman parte de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G, que como su nombre lo dice, ejercen su acción mediante una cascada de reacciones mediada por segundos mensajeros (Kew y Kemp, 2005). Estos receptores se dividen en ocho subtipos denominados mGluR1-8 y también existen variantes de splicing para algunos de ellos en el SNC mGluR1 (mGluR1a-d), mGluR5 (mGluR5a y b), para mGluR4 (mGluR4 a y b), para GluR6 (mGluR6a-c), y para mGluR8 (mGluR8a-c) (Pin *et al.*, 1992; Minakami *et al.*, 1994).

Estos ocho subtipos de receptores se clasifican en tres grupos: grupo I, conformado por mGluR5 y mGluR1; el grupo II que incluye a mGluR2 y mGluR3 y el grupo III que incluye a mGluR4, mGluR6, mGluR7 y mGluR8 (Niswender y Conn, 2010; Figura 9).

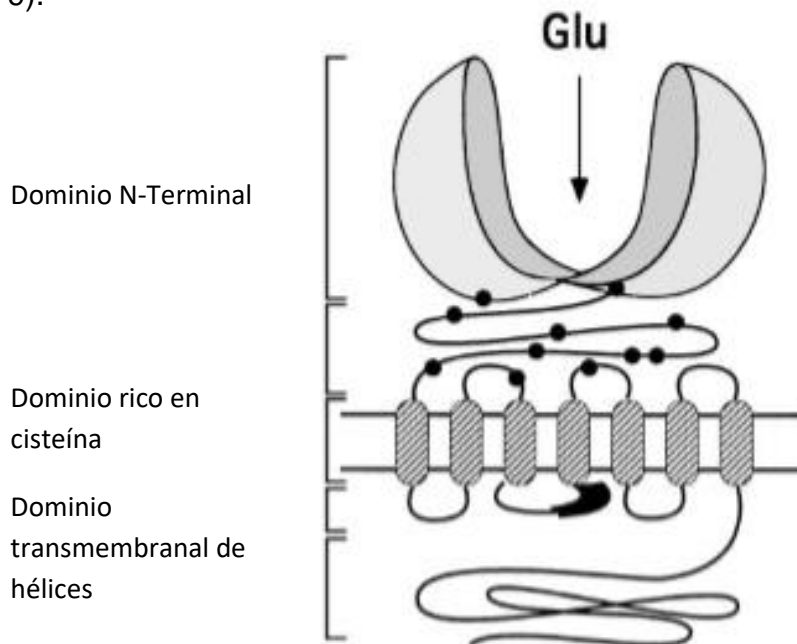


Figura 9. Representación de la estructura de un mGluR, en la cual se señala el dominio N-terminal, el dominio rico en cisteína, el dominio transmembranal y el dominio C-Terminal. (Tomado de Conn, 1997).



Los mGluR's se encuentran distribuidos en todo el SNC, en neuronas y células gliales, específicamente en sitios sinápticos y extrasinápticos (Anwyl, 1999). De manera general, los mGluRs modulan los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje, la activación de mGluR reduce las corrientes de calcio tipo L, pero no tipo N, en corteza, núcleo estriado y retina (Sayer *et al.*,1992; Stefani *et al.*,1994; Choi y Lovinger, 1996); y en neuronas cerebelosas la activación de mGluR reduce tanto las corrientes de calcio de tipo N como de L, estas funciones parecen estar mediadas por receptores pertenecientes al grupo I y grupo II (Chavis *et al.*,1995). También los mGluR sirven como autorreceptores presinápticos en las sinapsis glutamatérgicas, (Glaum y Miller, 1996). Los mecanismos por los cuales los mGluR regulan la liberación de glutamato no se encuentran bien definidos, sin embargo, se especula que la reducción de las corrientes de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje esta involucrado, así como la activación de las corrientes de  $\text{K}^+$  presinápticas (Gereau y Conn, 1995).

La farmacología de los mGluR's se divide dependiendo del grupo en el que el receptor se encuentre los ligandos del grupo I se encuentran resumidos en la figura 10, mientras que los ligandos del grupo II y grupo III se encuentran en la figura 11.

Group I

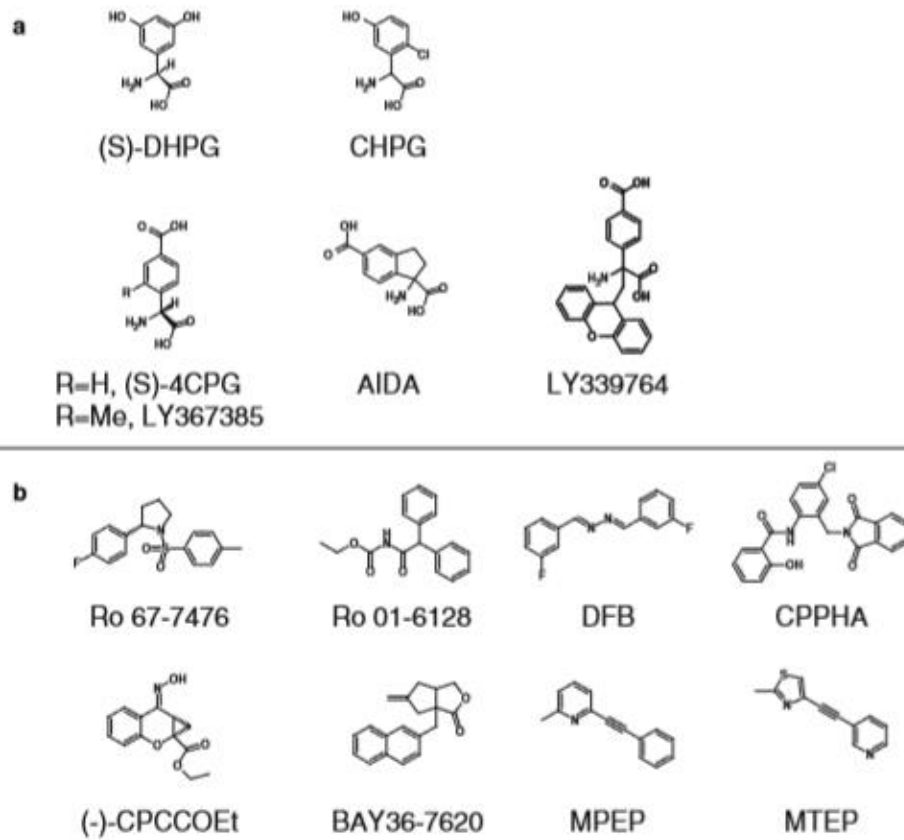


Figura 10. Estructuras químicas de los ligandos competitivos (a) y no competitivos (b) del grupo I de mGluRs (Tomado de Kew y Kemp ,2005).

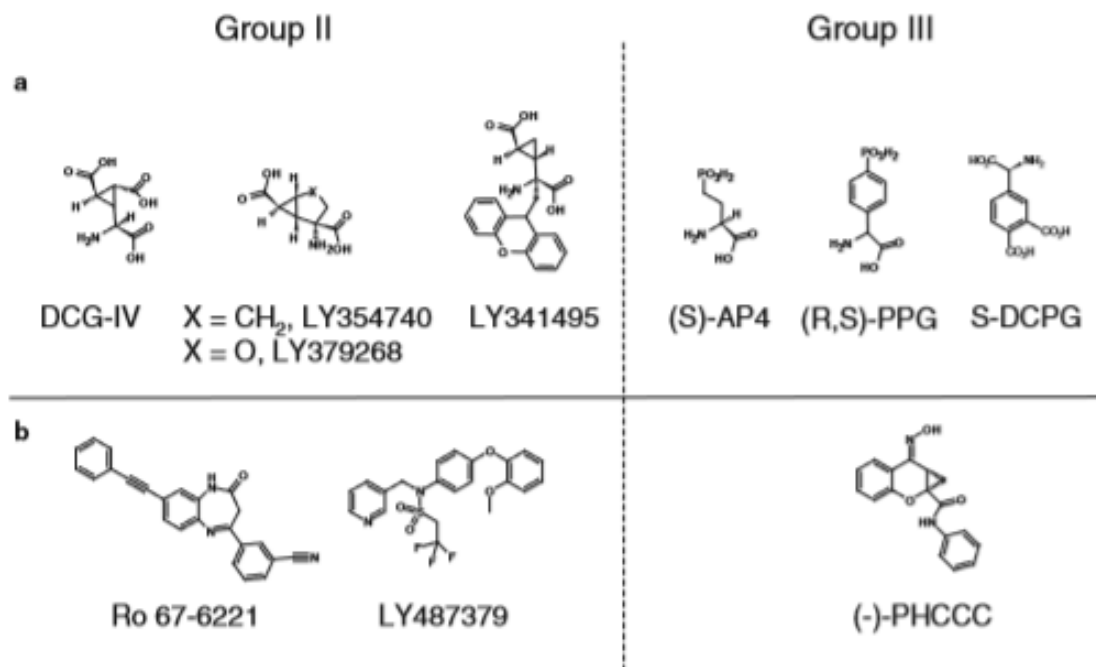


Figura 11. Ligandos selectivos competitivos (a) y no competitivos (b) a los grupos II y III. Recuperado de Kew y Kemp (2005).

## 6. ACETILCOLINA

### 6.1 Síntesis y Estructura de la Acetilcolina

La acetilcolina (ACh) es un neurotransmisor con actividad tanto en la periferia como en el sistema nervioso central, fue el primer neurotransmisor descubierto y sintetizado cuya fórmula química es C<sub>7</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>2</sub> y posee un peso molecular de 146.21 g/mol. La ACh es una molécula pequeña, la cual posee un éster, y un nitrógeno cuaternario, el cual le confiere cierta polaridad (PubChem, 2019; Fig. 12)

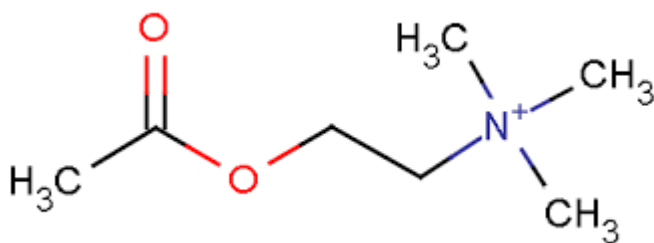


Figura 12. Estructura de la acetilcolina. Recuperado de National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Acetylcholine, CID=187.

## Síntesis

La ACh se deriva de su precursor colina, el cual se transporta de la periferia al SNC en la sangre. La colina puede ser ingerida en los alimentos o es sintetizada en el hígado cuando se ingieren alimentos. La colina es tomada por las células específicamente colinérgicas, el cual es un proceso dependiente de  $\text{Na}^+$  y de ATP, con lo cual se incrementa con una actividad excitadora neuronal (Webster, 2002).

La síntesis de ACh se lleva a cabo por la reacción de la colina junto con la acetilcoenzima A, la cual es un producto del metabolismo de carbohidratos, la cual es catalizada por la enzima acetilcolintransferasa, que acetila la colina para formar acetilcolina. La acetilcolinesterasa se sintetiza en el retículo endoplásmico y su actividad enzimática se ve mediada por la cantidad de colina en el medio (Wester, 2002; Figura 13).

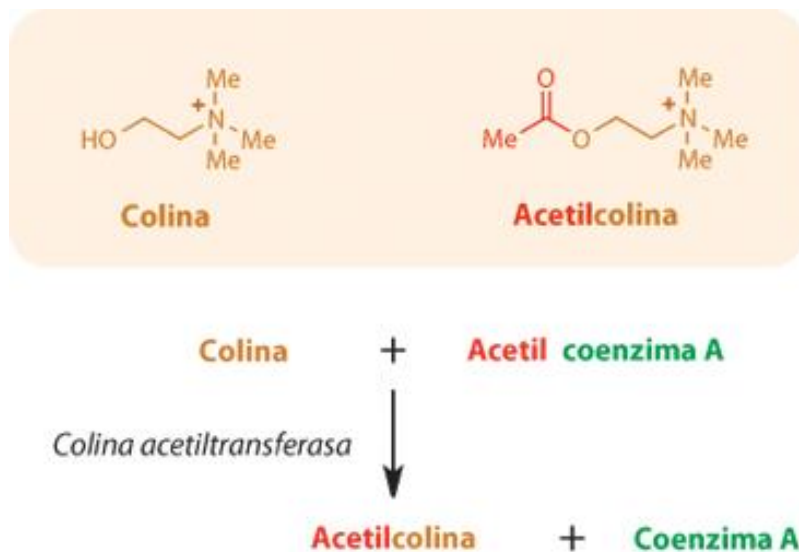


Figura 13. Reacción de la síntesis de la acetilcolina, en la cual la acetilcolintransferasa toma una molécula de Colina y una molécula de Acetil coenzima A para formar una molécula de acetilcolina y una molécula de Coenzima A (Tomado Nestler, Hyman, Holtzman y Malenka, 2006)

## *Metabolismo*

Después de que la ACh se sintetiza y se utiliza en el SNC, es recuperada por transportadores de poca afinidad y la almacenan en vesículas, donde se encuentra la acetilcolintransferasa, enzima de alta potencia, la cual elimina la ACh rápidamente del medio extracelular. Una molécula de acetiltransferasa es capaz de romper a aproximadamente 10,000 moléculas de ACh por segundo. También existen otras enzimas que escinden a la ACh como la butirilcolinesterasa, la cual se encuentra principalmente en las células gliales (Wu y Hersh, 1994).

La ACh se une al grupo aniónico de la acetilcolintransferasa y reacciona con el grupo hidroxilo de la serina de la enzima, entonces la acetilcolinesterasa se acetila, liberando la colina, la cual se separa y regresa al medio para formar más ACh, después la enzima se hidroliza y vuelve a su estado activo, formando ácido acético (Webster, 2002; Figura 14).

La acetilcolinesterasa puede ser inhibida, tanto reversible como irreversiblemente por distintas moléculas, las cuales actúan sobre el tiempo de duración del efecto de la ACh, aumentándolo. Actualmente, análogos de las colinesterasas como el donepezil, la rivastigmina o ENA 713, la eptastigmina, y la galantamina, están siendo usadas como tratamiento para la enfermedad de Alzheimer (Wilkinson *et al.*, 2004).

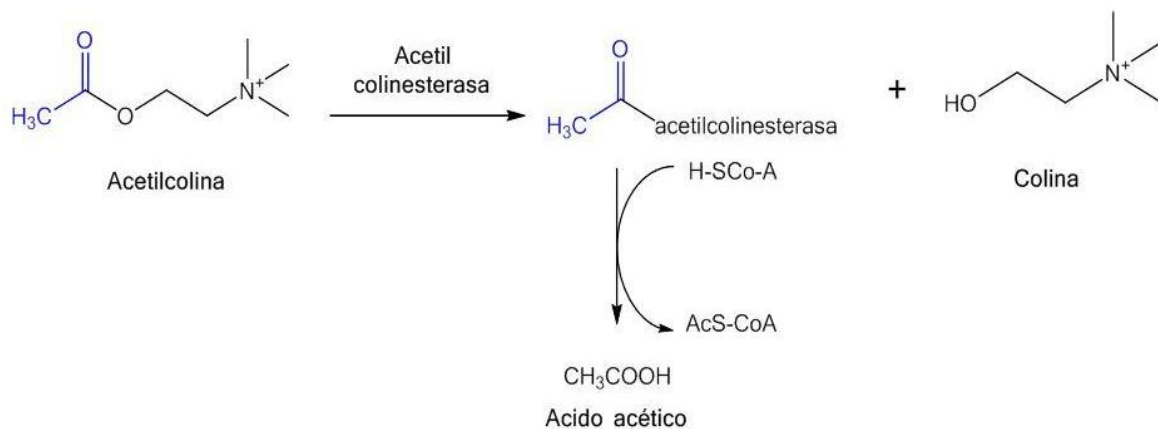


Figura 14. Metabolismo de la acetilcolina, catalizado por la acetilcolinesterasa. La ACh se une al grupo aniónico de la acetilcolinesterasa y reacciona con el grupo hidroxi-serina de la enzima, permitiendo la acetilación de la acetilcolinesterasa, liberando la colina, la cual regresa al medio para formar más ACh, después la enzima se hidroliza y vuelve a su estado activo, formando ácido acético. (Tomado de Balanta D.J, 2016).

## 6.2 Funciones asociadas de la Acetilcolina en la corteza cerebral.

La ACh tiene un rol importante en las áreas de asociación de la corteza cerebral, en donde actúa como estimulador de la actividad neuronal en la CPF de ratas, o estimulador de la actividad neuronal relacionada con el comportamiento en la corteza orbito frontal de primates. Sin embargo, estos roles también se dividen a su vez en dos posibles funciones de la ACh en la actividad cortical, uno es que la ACh media el procesamiento de la información dependiendo del área y la capa de la corteza a la cual este llegando la ACh de manera fásica y dependiente de un estímulo, esto se ve relacionado con procesos “*top-down*” los cuales son mecanismos que optimizan el procesamiento de estímulos y asociaciones, y ayudan a la discriminación de estímulos importantes de distractores (Kastner y Ungerleier, 2000), esto es importante para que un individuo espere un estímulo y sepa reaccionar ante este, influyendo en el comportamiento final del individuo. Igualmente esta regulación fásica de la ACh se ve implicada en procesos “*bottom-up*”, los cuales tienen que ver con el procesamiento de las características del estímulo sensorial y el contexto en el que este estímulo se está dando (Treisman y Gelade, 1980), estos procesos se ven implicados con las habilidades de un individuo

para detectar objetivos y el procesamiento de la atención, provocado por un estímulo prolongado y su rol en la activación de áreas corticales. Estos dos tipos de procesos son regulados por la proyección corticoseptal colinérgica, la cual es controlada por las conexiones de la CPFm (Nelson, Sarter y Bruno, 2002), así mismo, lesiones en la CPF y la amígdala, que inervan al prosencéfalo basal, se ven implicadas en un malfuncionamiento de los receptores NMDA en esta zona y por lo tanto un malfuncionamiento de los procesos “*top-down*” (Turchi, Bruno y Sarter, 2001; Sarter *et al.*, 2001; Yu y Dayan, 2002). Igualmente, es importante mencionar que la memoria se ve implicada en ciertos procesos de atención, por lo cual es de esperarse que un mal funcionamiento de la transmisión colinérgica se vea implicado en una interrupción de los procesos “*top-down*”. Además, la consolidación de la memoria se puede ver regulada por el procesamiento de la información por los procesos “*top-down*” durante el periodo de adquisición de la información, y por lo tanto se ve implicada en los procesos de adquisición de la memoria (Miyashita y Hayashi, 2000).

Por otro lado, una acción tónica de la ACh, en la cual esta se vería implicada en procesos de estado de alerta o un estado consciente, también se relaciona con el ritmo circadiano el cual esta regulado por conexiones del tallo cerebral que llegan al prosencéfalo basal y se ahí pasan a las zonas corticales (Consolo *et al.*, 1990; Kametani y Kawamura, 1991), de igual manera, la liberación de ACh en la región del prosencéfalo basal incrementa el estado de alerta, suprimiendo el sueño de movimientos oculares rápidos (Baghdoyan, Spotts y Snyder, 1993).

## **6.3 Receptores de Acetilcolina**

### **6.3.1 Estructura y función de los receptores Nicotínicos**

Los receptores a acetilcolina nicotínicos (nAChRs) forman parte de la superfamilia de canales iónicos activados por ligando, los cuales también son conocidos como receptores de bucle-cys, por que poseen una secuencia conservada que contiene

un par de cisteínas separadas por 13 residuos aminoacídicos y unidas por un puente disulfuro. Los nAChRs se dividen en dos subgrupos: receptores musculares, los cuales se encuentran en las sinapsis de la unión neuromuscular, y receptores neuronales, encontrados a lo largo del sistema nervioso central y periférico, por el interés de este estudio sólo se profundizará en estos últimos (Hogg, Ragganbass y Bertrand, 2003).

Existen doce subunidades identificadas que forman los nAChRs neuronales, las cuales se pueden dividir en dos subgrupos  $\alpha$ , que abarcan  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 5$ ,  $\alpha 6$ ,  $\alpha 7$ ,  $\alpha 8$ ,  $\alpha 9$  y  $\alpha 10$ , y el subgrupo  $\beta$  el cual abarca  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  y  $\beta 4$ . Las subunidades  $\alpha 7$ ,  $\alpha 8$  y  $\alpha 9$  pueden formar receptores homopentaméricos funcionales, mientras que también pueden combinar ambos tipos de subunidades en una conformación de dos subunidades  $\alpha$  y tres  $\beta$ . Generalmente estas se forman con el mismo tipo de subunidad  $\alpha$  y el mismo tipo de subunidad  $\beta$ , con excepción de la subunidad  $\beta 3$  y  $\alpha 5$ , las cuales sólo forman receptores funcionales cuando se expresan con diferentes subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ , formando receptores tripletes, los receptores heteroméricos (Anand *et al.*, 1991; Boorman *et al.* 2000).

Todas las subunidades que forman los nAChRs tienen una estructura similar conformada por un dominio NH<sub>2</sub>-terminal extracelular conservado de 200 aminoácidos; tres regiones transmembrana que están formadas por cuatro secciones que abarcan la membrana hidrófoba (TM1-TM4) y un bucle intracelular entre TM3 y TM4 que contiene secuencias de sitios de fosforilación, el cuarto dominio TM contiene una secuencia COOH-terminal extracelular corta y variable, así mismo, estas subunidades, como todas las de los canales iónicos activados por ligando, poseen un bucle de cisteína en el primer dominio extracelular, la presencia de este bucle define a una subunidad como  $\alpha$  o  $\beta$ , y es el sitio para la unión del ligando (Karlin *et al.*, 1986; Lukas *et al.*, 1999; Corringer *et al.*, 2000; Figura 15).



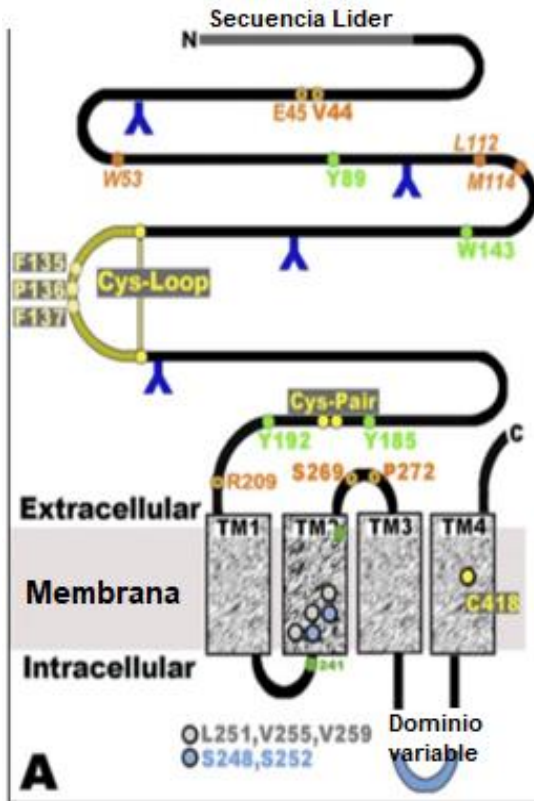


Figura 15. Subunidades que conforman un nAChR. Conformada por un dominio NH<sub>2</sub>-terminal ; tres regiones transmembrana que están formadas por cuatro secciones que abarcan la membrana hidrófoba (TM1-TM4) y un bucle intracelular entre TM3 y TM4 que contiene secuencias de sitios de fosforilación, el cuarto dominio contiene una secuencia COOH-terminal extracelular corta y variable, también poseen un bucle de cisteína en el primer dominio extracelular. (Tomado de Albuquerque *et al.*, 2009).

Las diferentes subunidades que forman los nAChRs se arreglan de manera circular, formando un poro central, el bucle cys se encuentra envuelto alrededor de la subunidad adyacente, este bucle y una hendidura formada entre dos subunidades vecinas forman el sitio de unión al ligando y son esenciales para el movimiento del receptor cuando el ligando se une. Por otra parte, el segundo dominio TM recorre el poro hidratado, la cara exterior del cuarto dominio TM está principalmente en contacto con la bicapa lipídica, el poro del canal es grande y consiste en los dominios extracelulares circundados, y está fuertemente envuelto por el anillo TM2. Formando el poro para los iones en el receptor cerrado (Miyazawa *et al.* 1999; Albuquerque *et al.*, 2009; Figura 16).

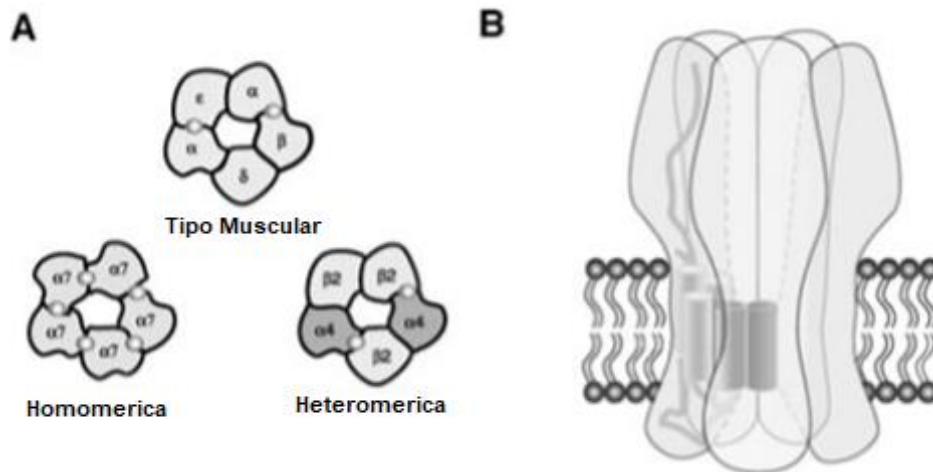


Figura 16. A) Posibles conformaciones para un nAChR, de tipo muscular, formada por subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  ; de tipo homomérico solo formado por un tipo de subunidad, en este caso la subunidad  $\alpha 7$  ; y de tipo heteromérico formado por 2 tipos de subunidades  $\alpha 4$  y  $\beta 2$ ; todas las combinaciones forman un poro en el centro. B) Estructura tridimensional de un nAChR (Tomado de Hogg *et al.* ,2003).

Los nAChRs se encuentran distribuidos en distintas áreas del sistema nervioso central, por ejemplo, en el hipocampo modulan la inducción de la plasticidad sináptica y por lo tanto tienen un rol en el aprendizaje y la memoria (Ji *et al.*, 2001). En el núcleo accumbens del área ventral tegmental, es una área que se ve implicada en el circuito de recompensas, por lo tanto los nAChRs de esta área se pueden ver implicados en la adicción a la nicotina, induciendo a la transmisión glutamatérgica a largo plazo, así como facilitando la transmisión GABAérgica (Dani *et al.*, 2001; Mansvelder *et al.* 2002) y en los núcleos supraópticos y paraventriculares del hipotálamo los nAChRs podrían facilitar la liberación de vasopresina y oxitocina mediada por ACh (Pow y Morris 1989).

Por otro lado, los nAChRs median la transmisión sináptica rápida en la ausencia de glutamato y GABA, en el hipocampo, en la corteza visual y en el hipotálamo, convirtiéndose en un neurotransmisor excitatorio en casos de una actividad por glutamato reducida o suprimida (Hefft *et al.* 1999; Belousov *et al.*, 2001; Hatton y Yang 2002).

También, se sabe que los receptores formados por las subunidades  $\alpha 7$ , se encuentran en las terminales presinápticas, donde modulan la liberación de neurotransmisores como dopamina, glutamato y GABA, también se encuentran las subunidades  $\beta 2$ . Esta regulación de la liberación de neurotransmisores se conoce como “autorregulación”; Cuando la estimulación de nAChRs estimula la liberación de ACh, mientras que, para neurotransmisores como la noradrenalina, el GABA, la serotonina y el glutamato, se conoce como modulación hetero sináptica. Por el contrario, la activación de nAChRs postsinápticos reduce la expresión de NMDAR y por lo tanto reduce también su respuesta. En el caso de la modulación de GABA por acetilcolina, el GABA causa inhibición de neuronas piramidales adyacentes (MacDermott *et al.*, 1999; Fisher y Dani 2000; Alkondon *et al.* 2000; Ji y Dani 2000; Jones *et al.* 2001).

Además, es de interés analizar los efectos que tiene la nicotina, sobre el SNC para comprender de mejor manera las funciones de los nAChRs. Por un lado, está la mejora de la memoria y el aprendizaje, estos efectos son bloqueados por antagonistas de los receptores nicotínicos. Estos resultados han abierto las posibilidades de utilizar la nicotina que actúa por los nAChRs como posible tratamiento terapéutico para la enfermedad de Alzheimer y la esquizofrenia (Newhouse *et al.* 1992; Rusted *et al.* 1994; Rusted y Warburton 1992; Levin y Rezvani 2000), sin embargo, la aplicación de nicotina en el periodo neonatal deteriora la memoria y por el contrario, la administración de antagonistas a los nAChRs causa un deterioro de la memoria, irreversible al administrar nicotina (Bettany y Levin 2001; Levin *et al.* 2002).

En cuanto a las funciones de cada subunidad, se han utilizado modelos animales “*knock-out*” para estudiar las posibles alteraciones en caso de que alguna subunidad de los nAChRs no se codifique. En el caso de la subunidad  $\alpha 3$ , los ratones que la carece, mueren en su primera semana de vida debido a una disfunción multiorgánica, por lo tanto se cree que la subunidad  $\alpha 3$  es esencial para mediar la transmisión sináptica rápida en el sistema nervioso autónomo; en el caso de la subunidad  $\beta 4$ ,

los animales que la carecen muestran una reducción en la corriente activada por nicotina (Xu *et al.*, 1999); En ratones que solo carecen de  $\beta 2$  su locomoción se vio reducida, así como la liberación de dopamina mediada por ACh, además el deterioro neuronal en el envejecimiento se vio aumentado (Zoli *et al.* 1999); Ratones que carecen de la subunidad  $\beta 3$  muestran una reducción en la liberación de dopamina; Los ratones que carecen la subunidad  $\alpha 6$  no muestran ninguna anomalía neuroanatómica o de comportamiento evidente (Champtiaux *et al.* 2002); ratones que carecen de la subunidad  $\alpha 9$  muestran un desarrollo anormal de conexiones sinápticas (Vetter *et al.* 1999); los ratones que carecen de  $\alpha 7$  presentan una carencia de corrientes nicotínicas que se desensibilizaban rápidamente en el hipocampo, lo que sugiere que los receptores que contienen  $\alpha 7$  están involucrados en el aprendizaje y la memoria: También, ratones que presentan una mutación en esta subunidad, son más propensos a convulsiones inducidas por nicotina (Orr-Urtreger *et al.* 1997; Broide *et al.* 2002; Gil *et al.* 2002).

Los moduladores de los nAChRs se muestran a continuación, en la figura 17 se encuentran resumidos los agonistas a los nAChRs.

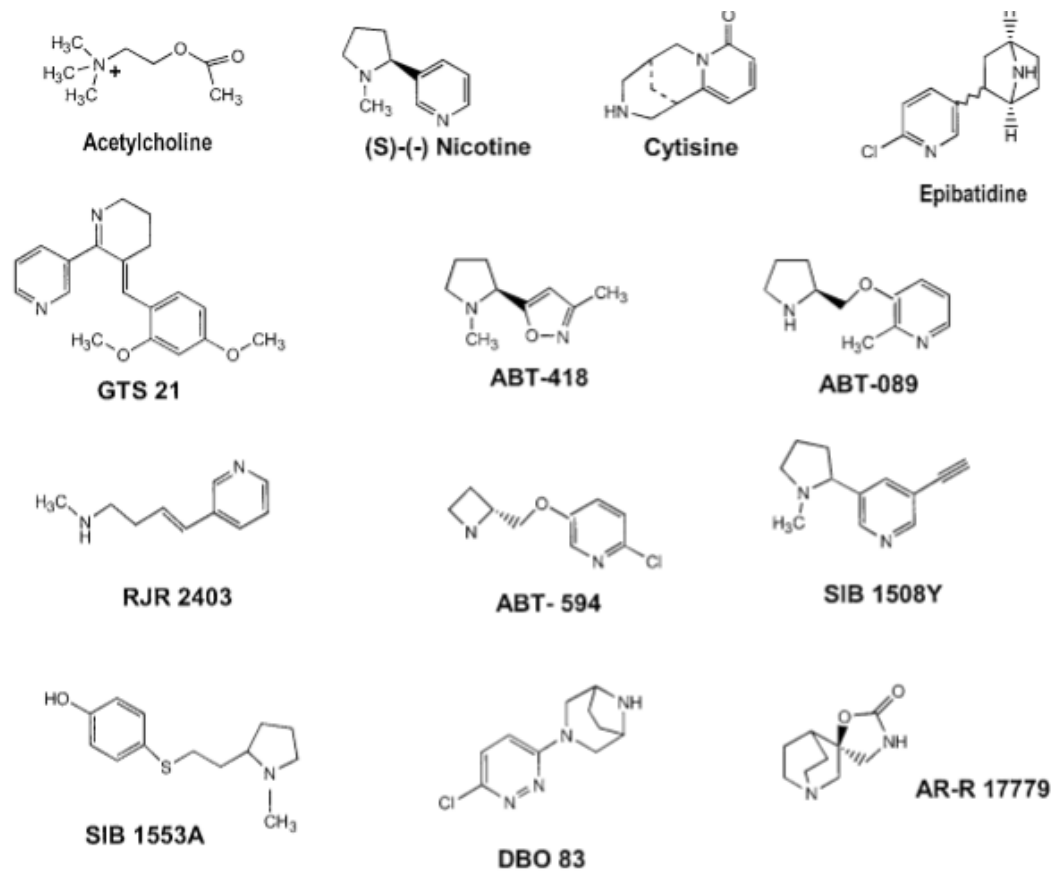


Figura 17. Estructura química de los agonistas de los receptores nicotínicos de acetilcolina (Tomado de Lloyd y Williams, 2000).

### Antagonistas

La lophotoxina, la neosurugatoxina, la Alpha-Bungarotoxina, la erisodina, las cuales son todas neurotoxinas, con antagonistas competitivos a nAChRs, que muestran preferencia por nAChRs que contienen  $\beta 2$ , la conotoxina-MII antagoniza a los nAChRs que se conforman por  $\alpha 3\beta 2$  y la metilcaconitina es un potente bloqueador de nAChRs que contienen  $\alpha 7$  (Holladay *et al.*, 1997).

### Otros moduladores

Los esteroides se conocen también por interactuar con los receptores ionotrópicos, estos se sintetizan en las células gliales en el SNC, un gran número de estos

esteroides interactúan con nAChRs. Como ejemplos de esteroides que bloquean la actividad de nAChRs están la promegestona, la hidrocortisona, la progesterona, el 3a, 5a, 17b-3-hidroxiandrostano-17-carbonitrilo o ACN; y por otro lado ejemplos de esteroides que potencian la actividad de los nAChRs con el 17β estradiol (Bertrand *et al.*, 1991; Valera *et al.*, 1992; Curtis *et al.*, 2002; Paradiso *et al.*, 2001).

Por otro lado, existen cationes divalentes que también modulan la actividad de los nAChRs, como Ca<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> y Cd<sup>2+</sup>. El de mayor importancia es el Ca<sup>2+</sup> el cual potencia la acción de los nAChRs (Eisele *et al.*, 1993), así como también modula la activación, la inactivación, la desensibilización y la recuperación de nAChRs (Bonfante-Cabarcas *et al.*, 1996). Por el contrario, el Zn<sup>2+</sup> inhibe la actividad de los nAChRs (Palma *et al.*, 1998).

### **6.3.2 Estructura y función de los receptores Muscarínicos**

Los receptores muscarínicos a ACh forman parte de la superfamilia de receptores transmembranales acoplados a proteínas G. Estos receptores se dividen en cinco subtipos M1, M2, M3, M4 y M5, los cuales se organizan en 2 clases, la primera conformada por los subtipos no pares (M1, M2, M3) se acoplan a Gq/11, por lo tanto activan a la fosfolipasa C que a su vez inicia la cascada de fosfatidilinositol trifosfato (PIP3), esto lleva a la disociación de fosfatidilinositol difosfato (PIP2) en 2 componentes el inositol trifosfato o IP3, el cual media la liberación de Ca<sup>2+</sup> de la reserva intracelular y el diacilglicerol el cual activa la proteína cinasa C (Winks *et al.*, 2005). Por otro lado, los subtipos pares (M2 y M4) se unen a la clase Gi/o de las proteínas G e inhiben la actividad de la adenil ciclasa, y también activan a los canales de K<sup>+</sup> abiertos por proteínas G (Kurachi e Ishii, 2004).

La estructura general de estos receptores consiste de siete hélices transmembranales (TM1-TM7) unidas por tres bucles extracelulares (ECL) en los cuales se une el ligando y tres intracelulares (ICL), donde se acopla la proteína G,

además, presentan una pronunciada curva hacia afuera en el extremo extracelular de TM4 (Wess, 1996; Kruse, 2012; Figura 18).

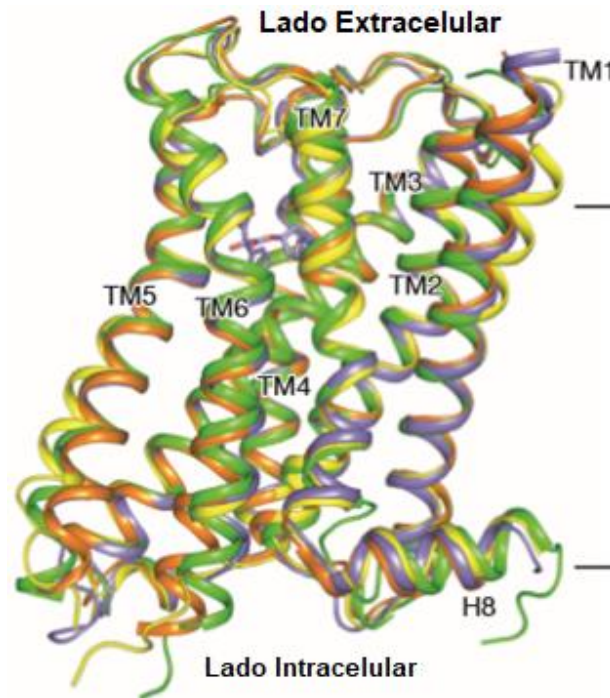


Figura 18. Estructura receptor muscarínico hélices

general de un que consta de siete transmembrana

(TM1-TM7) unidas por tres bucles extracelulares (ECL) en los cuales se une el ligando y tres intracelulares (ICL), donde se acopla la proteína G, presentan una curva hacia afuera en el extremo extracelular de TM4 (Tomado de Kruse *et al.*, 2012).

### RECEPTORES NO PARES

Debido a la cascada de señalización que activa cada receptor, la función de estos se ve atada al tipo celular y también al tipo de proteína G a la que se encuentre, por lo que dividiremos las funciones en las clases que están divididas los subtipos de receptores. Los receptores de la clase 1 o los receptores impares se acoplan a Gq/11. Los receptores M1 se expresan mayormente en el cerebro anterior, incluyendo la corteza cerebral, el hipocampo y el cuerpo estriado, y sus funciones se lograron descubrir gracias a modelos animales “knock-out” de estos receptores. Estos modelos demostraron que los receptores M1 se ven implicados en el

comportamiento, debido a que ratones *knock-out* de estos receptores tienen déficits en el comportamiento, también estos receptores juegan un papel en la fisiopatología de los ataques epilépticos, así como la actividad locomotora, la potenciación a largo plazo y en la corriente "M" de K<sup>+</sup> o activada por receptores muscarínicos (Hamilton *et al.*, 1997; Miyakawa *et al.*, 2001; Anagnostaras *et al.*, 2003).

Por su parte los receptores M3, se expresan en mayor medida en la periferia, en músculo liso y tejido glandular; Modelos animales *knock-out* de M3 no exhibieron deficiencias o diferencias significativas a nivel del sistema nervioso central, y a nivel de sus efectos periféricos se ven implicados en la contracción de músculo liso, secreción glandular y la ingesta de alimentos (Miyakawa *et al.*, 2001; Gerber *et al.*, 2001).

Por último, los receptores M5 fueron los últimos receptores muscarínicos en ser caracterizados, estos se ven mayormente expresados en neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra pars compacta, por lo tanto, estos receptores juegan un papel importante en la liberación dopaminérgica al cuerpo estriado, esto comprobado con ratones que no expresan M5, los cuales presentan una reducción en la liberación de dopamina reducida (Yamada *et al.*, 2001).

## *RECEPTORES PARES*

Los receptores de la clase 2 están acoplados a una proteína Gi / o , por lo cual inhiben la actividad de la adenilil ciclasa. Estos receptores también activan los canales de K<sup>+</sup> activados por la proteína G, lo que conduce a la hiperpolarización de la membrana en células excitables. Estos receptores se ven implicados en la inhibición de la excitabilidad neuronal (Bolden *et al.*, 1992).

Por su parte los receptores M2, se ven implicados en procesos de analgesia siendo los agonistas que actúan sobre este receptor igual de efectivos que la morfina, así mismo, inhiben algunos canales de Ca<sup>2+</sup>, y a nivel de la periferia los receptores M2



están implicados en la desaceleración colinérgica del ritmo cardiaco (Shapiro *et al.*, 1999; Widman *et al.*, 1985; Stengel *et al.*, 2000).

Por otro lado, los receptores M4, que se encuentran de manera abundante en el estriado, tienen un papel importante en la actividad locomotora, debido a que ratones *knock-out* de estos receptores mostraron un aumento en su actividad locomotora por un aumento de liberación de dopamina en el estriado, estos receptores también se ven implicados en el aprendizaje, la memoria y la cognición (Levey, 1993; Gomeza *et al.*, 1999).

### **6.3.3 Farmacología**

#### *Agonistas*

Además del principal agonista acetilcolina, otros agonistas no selectivos entre subtipos de receptores son el carbacol, el cual es un éster del ácido carbámico, la muscarina, la metacolina, la arecolina, la axotremorina, la pilocarpina una amina terciaria, la oxotremorina-m, la metoclopramida, el betanechol el cual es un éster de carbamoil que es parecido estructuralmente a la acetilcolina, por otro lado, otros compuestos que favorecen la acción de la acetilcolina mediante la inhibición de la acetilcolinesterasa son el edrofonio, la fisostigmina, la neostigmina, la piridostigmina y el ecotiofato. En caso de agonistas específicos a subtipos de receptores muscarínicos como ejemplo están el McN-A-343, la Xanomelina, y el CDD-0097 los cuales son selectivos a M1, mientras que el L-689,660 es selectivo a M1 y M3 (Ishii y Kurachi, 2006; Flores y Segura, 2005).

#### *Antagonistas*

En el caso de los compuestos que bloquean la acción de los mAChRs que no son selectivos a subtipos, el principal antagonista es la atropina y sus derivados como el Ipratropio, el tiotropio, la tropicamida, el ciclopentolato, pero también están la escopolamina, la benzotropina, el bromuro de quinuclidlio, la pirenzepina, la

telenzepina y el Quinuclidinyl- $\alpha$ - hidroxidifenilacetato QNB. Por otro lado, ejemplos de antagonistas selectivos a los subtipos de mAChRs la pirenzepina, la telenzepina y la toxina muscarínica tipo 7 son selectivos a M1; el AF-DX 116, el AF-DX 384, la metoctramina, la hibacina y la tripitramina son selectivos a M2; el 4-DAMP, el p-fluorohexahidrosila-difenidol y la darifacina son selectivos a M3, y la tropicamida, la himbacina y el AF-DX 384 también tienen cierta selectividad a M4 (Ishii y Kurachi, 2006; Flores y Segura, 2005).

## **7. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS**

### **1.2.1 Interacción de la Acetilcolina con los receptores Glutamatérgicos**

Como se mencionó en secciones anteriores, la ACh tiene diferentes funciones a nivel del sistema nervioso central, una de ellas y la que es de interés en esta sección es el rol que posee la acetilcolina, mediante la activación de sus receptores nicotínicos, en la liberación de glutamato y otros neurotransmisores (Girod *et al.*, 2000; Bancila *et al.*, 2009) y este efecto es el responsable de otras funciones de la ACh, por ejemplo, la ACh juega un papel en la transmisión pre sináptica en el hipocampo (Valentino, 1981) aumentando la frecuencia de los potenciales excitatorios postsinápticos, pero no su amplitud, la cual posteriormente se describió es dependiente del  $Ca^{2+}$  y a su vez es caudado por los receptores nicotínicos a acetilcolina (Radcliffe, 1999). El hipocampo es una de las regiones más estudiadas en cuestión de los efectos de la ACh sobre la transmisión glutamatérgica, debido a que recibe tanto proyecciones glutamatérgicas, como colinérgicas (Isaacson y Pribram, 1975), en 1989, Mattson reportó un efecto de la ACh sobre la degeneración de células hipocampales causada por glutamato, en la cual la acetilcolina aumento la muerte celular en concentraciones de glutamato de 100  $\mu$ M, este efecto fue bloqueado por el antagonista a receptores muscarínicos atropina y no fue modificado por el antagonista nicotínico tubocurarina, así mismo en pinealocitos de rata, la ACh aumentó la exocitosis inducida por glutamato mediante la activación de receptores nicotínicos (Yamada *et al.*, 1998).

Para ser más específicos, nos centraremos en describir las diversas funciones que tiene la acetilcolina al interactuar con el receptor glutamatérgico tipo NMDA. Se cree que la ACh y el NMDAR se regulan mutuamente, debido a que la activación de NMDAR's reduce la liberación de ACh (Metherate y Ashe, 1995). Uno de los primeros efectos descritos de la ACh sobre el NMDAR, se realizó en rebanadas de hipocampo de rata en las cuales se observó una potenciación de la corriente de NMDA mediante la aplicación tópica de ACh, ya sea por iontoforesis o por microgotas, la cual fue bloqueada cuando se realizó una pre incubación con atropina (Markham y Segal, 1990) posteriormente se observaron efectos similares en células cultivadas de hipocampo de rata que fueron perfundidas con NMDA y ACh, en este estudio solo corrientes pequeñas fueron potenciadas mientras que las corrientes grandes no se vieron afectadas por la acetilcolina (Segal, 1992), también la acetilcolina aumenta la unión del NMDAR (Daniel y Dohanich, 2001). Sin embargo, Aizenman (*et al.*, 1991) describieron el efecto inhibitorio de distintos agonistas nicotínicos sobre la corriente de NMDA.

Se sugiere que es una acción muscarínica la responsable de los efectos que la acetilcolina tiene sobre los receptores glutamatérgicos y los NMDARs (Markham y Segal, 1990; Segal, 1992; Marino *et al.*, 1998). Sin embargo, estudios han demostrado una acción nicotínica, por ejemplo en 1998, Aramakis y Metherate, describieron una potenciación de los potenciales excitatorios postsinápticos Glutamatérgicos, en los cuales el componente tardío está modulado por NMDA, mediante la aplicación de nicotina, en este estudio se describió que los receptores nicotínicos a acetilcolina responsables de este efecto son los receptores  $\alpha 7$  debido a que el efecto de la nicotina se vio bloqueado por un antagonista específico a esta subunidad. El efecto de este receptor nicotínico sobre la actividad de los receptores a NMDA también se ha estudiado más a fondo, por ejemplo se han encontrado receptores  $\alpha 7$  nicotínicos en neuronas piramidales de la corteza prefrontal dorso lateral donde estos receptores nicotínicos juegan un rol permisivo sobre la activación de los receptores a NMDA (Yang *et al.*, 2013), así mismo el efecto potenciador de los receptores Nicotínicos sobre el NMDAR activa la liberación de glutamato (Zappettini *et al.*, 2014), es importante destacar la importancia de los

receptores  $\alpha 7$  nicotínicos debido a que se ha observado que una delección de estos a nivel del desarrollo de un organismo reduce de manera significativa la presencia de receptores a NMDA (Lin *et al.*, 2014).

Por último, algunos estudios sugieren una interacción directa de la molécula de Ach con el NMDAR. Flores-Hernández (*et al.*, 2009) describen un efecto inhibitorio directo sobre la INMDA dada por agonistas y colinérgicos nicotínicos, así como por la fisostigmina, un inhibidor de la colinesterasa, en las cortezas prefrontal y auditiva de rata, el cual no se debe a proteínas G. Así mismo el efecto inhibitorio se conserva aun en presencia de atropina lo cual sugiere que el mecanismo de este efecto no es muscarínico. Además, Ávila-Ruiz (*et al.*, 2014) reportó un aumento de la INMDA, en neuronas espinosas medianas y piramidales de rata tras un tratamiento crónico con Nicotina. Este estudio detalla que tras el uso de antagonistas del AMPc, el efecto persiste; proponiendo que actúa por un mecanismo diferente al muscarínico.

## 8. JUSTIFICACIÓN

La corteza prefrontal es una estructura del sistema nervioso central que ha sido de interés en un número considerable de investigaciones científicas debido a que alteraciones de las funciones en esta región y sus circuitos asociados son la causa de trastornos cognitivos y del comportamiento, debido a que la corteza prefrontal está involucrada principalmente en las llamadas funciones ejecutivas tales como la selección de atención, resistencia a interferencias, monitoreo, inhibición de comportamiento, cambio de tareas, planeación y toma de decisiones memoria de trabajo, también la corteza prefrontal se ve involucrada en el control de las emociones y el comportamiento social asociados con trastornos neuropsiquiátricos importantes como el déficit de atención o trastorno de hiperactividad y esquizofrenia.

Por su parte el receptor a NMDA ha sido de gran interés debido a su función como modulador de la actividad sináptica, su rol en el control de la excitotoxicidad, por su alta permeabilidad al ion Calcio, así como en la potenciación a largo plazo. Este receptor ha sido un foco de actividad terapéutica para reducir los efectos negativos de la activación de estos receptores y potenciar los efectos positivos.

Por otro lado la acetilcolina es un neurotransmisor con actividad tanto en el sistema nervioso central como en el periférico, fue el primer neurotransmisor descubierto y sintetizado y por mucho tiempo fue de gran interés debido a su rol en los músculos de la periferia, en el sistema nervioso central la acetilcolina está implicada en los procesos de comportamiento, tales como la atención y el uso de instrucciones para tomar decisiones acerca del comportamiento, así como procesos de función mental como regular los efectos de pérdida de una recompensa o incluso el estar consciente.

Por todo lo anterior es de interés estudiar al tipo de receptor a NMDA que específicamente se encuentre en la corteza prefrontal para lograr un entendimiento de su función fisiológica y su modulación con otros neurotransmisores, que en este caso en particular es la acetilcolina.

## **9. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En experimentos anteriores se ha destacado la importancia de la presencia de Glicina en la activación de la corriente de NMDA, en la cual se consideraba esencial la presencia de este aminoácido para la correcta activación de este receptor, por otro lado se tiene como resultados de una investigación realizada previamente en el laboratorio de Neuromodulación; relacionada a la corriente de glutamato activada por NMDA y Glicina, en la cual, aun en la ausencia de Glicina se observa la presencia de la corriente de Glutamato, a una amplitud menor. Así mismo debido a la presencia de aferentes colinérgicas a la corteza cerebral de mamíferos, se consideró estudiar la función que este neurotransmisor desempeña sobre la corriente de NMDA.

## **10. HIPÓTESIS CIENTÍFICA**

El neurotransmisor acetilcolina tiene un efecto potenciador sobre la corriente de NMDA el cual podría ser de menor o igual amplitud a la potenciación dada por el aminoácido glicina, y este efecto potenciador se vería conservado aun en la presencia de antagonistas colinérgicos tanto nicotínicos como muscarínicos, lo cual sugeriría una acción directa de la acetilcolina sobre el receptor a NMDA.

## **11. OBJETIVOS**

### **11.1 OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar el efecto de la Acetilcolina y sus antagonistas clásicos sobre la corriente activada por NMDA en las neuronas piramidales de las capas I/III de la corteza prefrontal de rata.

### **11.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar el efecto de la acetilcolina sobre la corriente activada por glutamato en las neuronas piramidales de las capas I/III de la corteza prefrontal de rata.
- Caracterizar el efecto de la acetilcolina sobre la corriente activada por NMDA en las neuronas piramidales de las capas I/III de la corteza prefrontal de rata.
- Caracterizar el efecto de la acetilcolina sobre la corriente activada por NMDA en presencia del antagonista colinérgico muscarínico atropina en las neuronas piramidales de las capas I/III de la corteza prefrontal de rata.
- Caracterizar el efecto de la acetilcolina sobre la corriente activada por NMDA en presencia del antagonista colinérgico nicotínico tubocurarina en las neuronas piramidales de las capas I/III de la corteza prefrontal de rata.
- Caracterizar el efecto de la acetilcolina sobre la corriente activada por NMDA en presencia de los antagonistas colinérgicos clásicos atropina y

tubocurarina en las neuronas piramidales de las capas I/III de la corteza prefrontal de rata.

## **12. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **12.1 DISEÑO DEL ESTUDIO**

Estudio básico experimental.

### **12.2 UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL**

Este estudio fue realizado en el laboratorio de Neuromodulación dentro del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla durante el período comprendido entre 2019 y 2020.

### **12.3 ESTRATEGIA DE TRABAJO**

Para comenzar con este trabajo de tesis, primero se aprendieron las técnicas necesarias, una vez completado este proceso, se comenzó a trabajar en experimentos probando el efecto de la acetilcolina sobre las corrientes de glutamato y si se observa una potenciación de la corriente se procederá a probar el efecto de la acetilcolina sobre la corriente de NMDA y en caso de observar una potenciación similar, se procederá a probar esta potenciación en presencia de los antagonistas colinérgicos Atropina y Tubocurarina.

### **12.4 MUESTREO**

No aplica

### **12.5 DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN**

No aplica

## **12.6 MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

No aplica

## **12.7 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS**

Las células a utilizar se extraen de ratas Wistar, de 30 días, pesando 100-120 gr, las cuales fueron anestesiadas, para posteriormente decapitarlas y realizar la extracción de cerebro en menos de un minuto y treinta segundos. El cerebro fue sumergido en una solución Isetionato, burbujeando con O<sub>2</sub>, posteriormente se extrajo de esta solución para realizar rebanadas de 350 nm en un micrótomo, finalmente se separó la zona de interés y se sumergieron estas rebanadas en solución de Earl, por al menos una hora, burbujeadas con CO<sub>2</sub>.

El siguiente paso consiste en mover las rebanadas de la solución de Earl a solución de Hanks, preparada anteriormente con 30mg de papaína y a 35°C, pasados 10 minutos se extrajeron de la solución y se lavaron con Isetionato, posteriormente se pasaron por pipetas de vidrio previamente seleccionadas por tamaño para disociar el tejido mecánicamente.

Finalmente, una vez teniendo células disociadas, la muestra se observa al microscopio para buscar células viables para registrar, cuando se encuentra una célula, se utiliza un capilar de vidrio previamente preparado para cubrir el electrodo del equipo de registro y así lograr acercarse a la célula, una vez que el electrodo ha tocado la célula se ha logrado el sello y se procede a romper la membrana celular mediante un proceso de succión, una vez que este proceso se completa y la célula se encuentra en un estado estable, se procede a realizar un protocolo de RAMPA para comprobar su estado, y posteriormente se cambia el protocolo a uno de aplicación en el cual mediante dos capilares se bañan las células con una solución de control libre de TEA "*TEA-free*" y una solución con el fármaco deseado.

## **12.8 ANÁLISIS DE DATOS**

Para el análisis de datos se utilizarán los programas ClampFit, SIGMA y Origin.

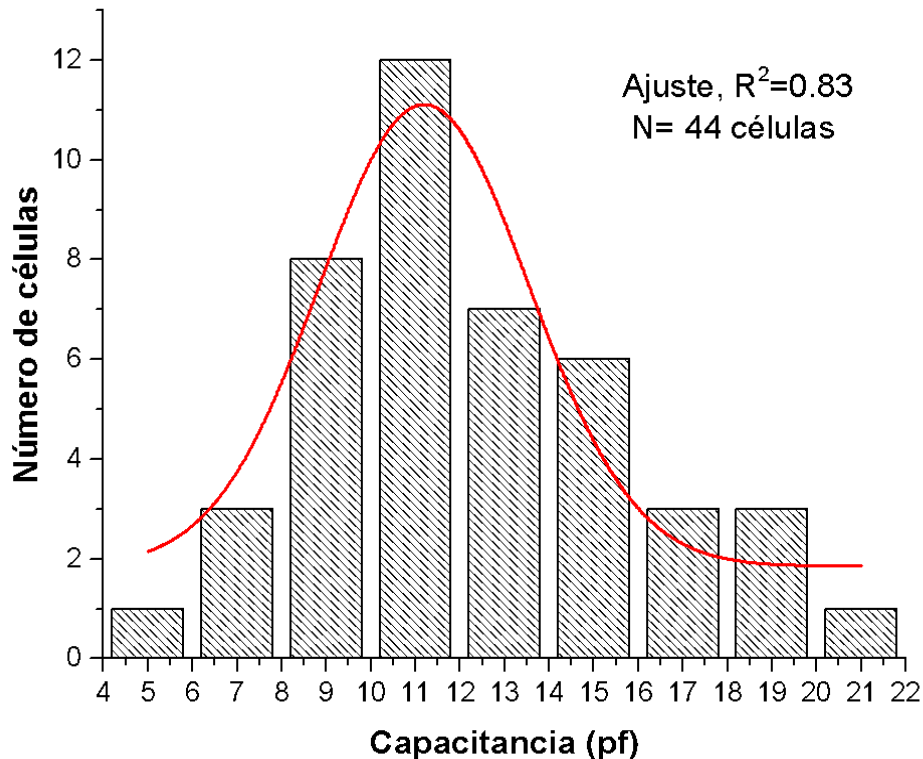


## **12.9 DISEÑO ESTADÍSTICO**

Para comparar la diferencia de los efectos de dos condiciones diferentes se aplicará una prueba t de Student o una prueba ANOVA de 1 vía cuando se requiera.

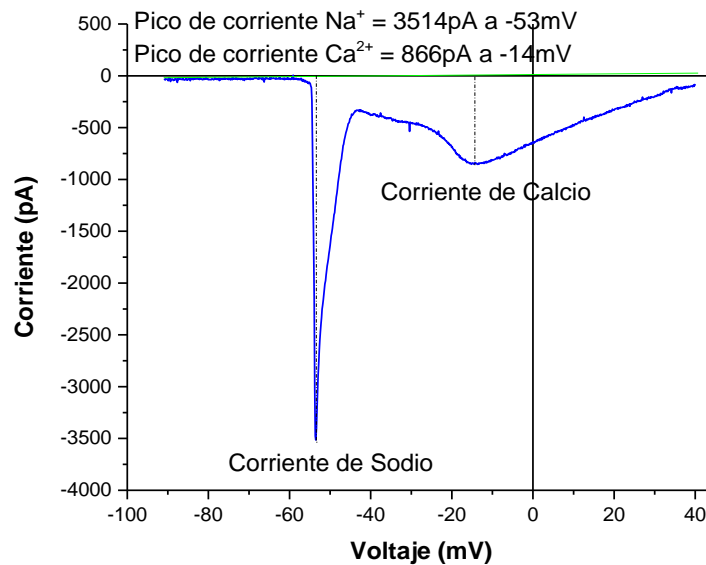
### 13. RESULTADOS

En esta sección se describirán los resultados obtenidos siguiendo la metodología anteriormente mencionada. Se registró un total de 44 neuronas de las capas II/III de la corteza prefrontal de cerebro de ratas de la cepa Wistar, de las cuales se midió la propiedad electrofisiológica pasiva de la membrana, que es la capacitancia obteniendo el siguiente histograma (Fig. 1).



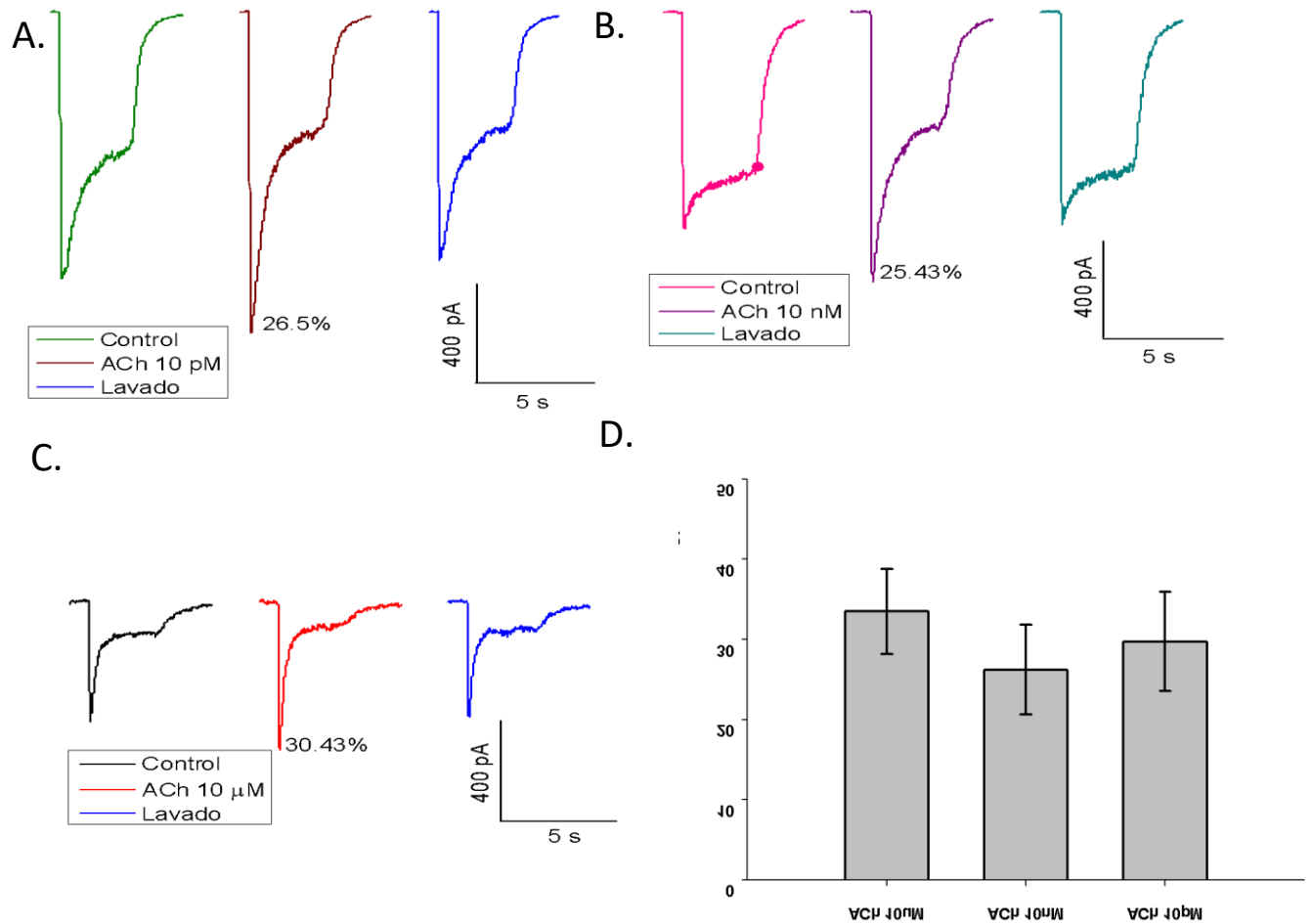
**Figura 1. Histograma de las capacitancias celulares obtenidas de las 44 neuronas registradas de la corteza prefrontal de la rata.** Esta propiedad se midió antes de aplicar algún protocolo electrofisiológico. Se obtuvo la capacitancia (en picofaradios) de 44 neuronas y se les aplicó un ajuste de Gauss con una  $R^2= 0.83$ .

Posteriormente se estableció la viabilidad de las células, mediante la aplicación de un protocolo de RAMPA, y en caso de contar con una corriente de  $\text{Na}^+$  mayor a 2000 pA y una corriente de  $\text{Ca}^{2+}$  mayor a 300 pA, se considera como un indicativo de la viabilidad celular, de este modo solo se aplicaron los siguientes protocolos a aquellas células que cumplieron estas características. Un ejemplo de una rampa característica con ambos parámetros cumplidos se puede observar en la figura 2.



**Figura 2. Corrientes de Na<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup> generados por el protocolo de rampa.** Corrientes de Na<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup> dependientes de voltaje representativas de un protocolo de RAMPA en el cual se considera que la célula es viable para continuar con el experimento. En este registro se obtuvo un pico de corriente de Na<sup>+</sup> de 3514 pA a -53 mV y un pico de corriente de Ca<sup>2+</sup> de 866 pA a -14 mV.

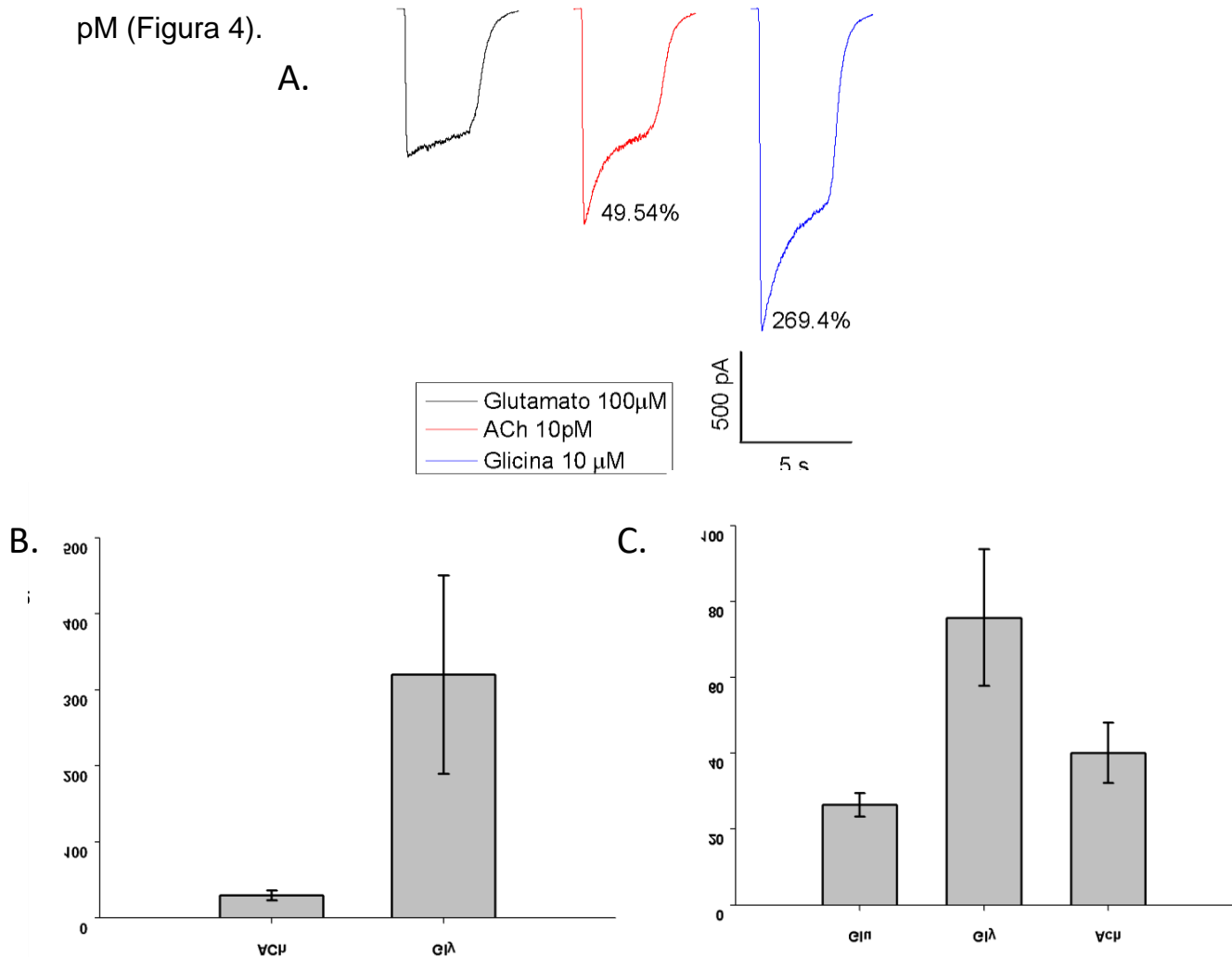
Una vez confirmada la viabilidad de las células, se procedió a la co-aplicación de Glutamato y las tres concentraciones de acetilcolina (10 pM, 10nM y 10 μM), con el protocolo aplicación NMDA 3s -80mV, con el objetivo de determinar el porcentaje de efecto sobre la corriente de Glutamato causado por la acetilcolina. En esta fase del experimento se registraron 28 células y se realizó una gráfica tomando la media del efecto ± la desviación estándar para comparar los promedios del efecto de las concentraciones de acetilcolina, de los cuales se encontró que la Acetilcolina 10 pM potencia la corriente de glutamato con un promedio de  $29.72 \pm 6.18\%$ , la Acetilcolina 10 nM potencia la corriente de glutamato con un promedio de alrededor del  $26.23 \pm 5.61\%$  y la Acetilcolina 10 μM potencia la corriente de glutamato con promedio de alrededor del  $33.5 \pm 5.3\%$ . Se realizó una prueba ANOVA de 1 vía, con no obteniéndose una diferencia significativa entre los tres grupos (Fig.3). Con este resultado, se decidió ocupar la concentración de ACh más baja probada.



**Figura 3. Efectos de las distintas concentraciones de acetilcolina (10 pM, 10nM y 10 μM) aplicadas separadamente sobre la corriente generada por glutamato. A.** Trazos representativos del efecto de ACh 10pM sobre la corriente de Glutamato. **B.** Trazos representativos del efecto de ACh 10nM sobre la corriente de Glutamato. **C.** Trazos representativos del efecto de ACh 10μM sobre la corriente de Glutamato. El efecto en cada concentración potencia la corriente generada por glutamato y este fue casi completamente lavado. **D.** Gráfica de barras donde se muestran la media ± EEM del efecto de cada una de las concentraciones de acetilcolina sobre la corriente de glutamato. Se realizó una prueba de ANOVA de una vía de las tres condiciones y no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa.

Posteriormente, se co-aplicó el aminoácido glicina a una concentración de 10 μM con el glutamato, La glicina tuvo un efecto potenciador con una media del 319.75% en una n de 22 neuronas. El efecto potenciador de la glicina se comparó con el efecto potenciador de la concentración menor de acetilcolina. El efecto de la glicina fue notoriamente mayor que el efecto de la acetilcolina. Con la finalidad de normalizar el efecto tanto de la acetilcolina y la glicina se obtuvo la densidad de corriente y se comparó la densidad de corriente que se obtuvo con la sola aplicación

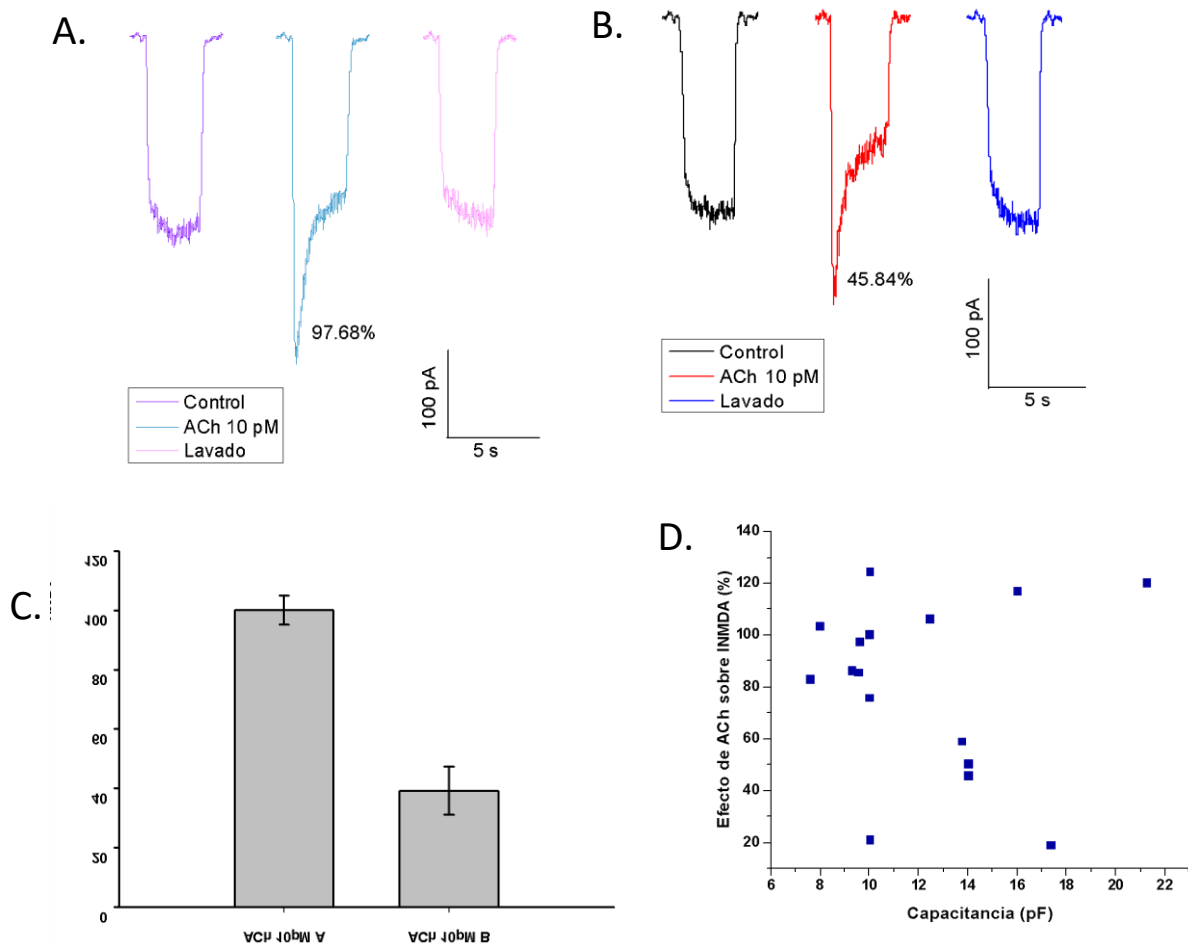
del glutamato, acetilcolina y glicina; las medias  $\pm$  EEM obtenidas fueron:  $26.38 \pm 3.04$  pA/pf en presencia de glutamato,  $75.72 \pm 18.03$  pA/pf en presencia de glutamato y glicina y  $40.08 \pm 7.9$  pA/pf en presencia de glutamato y acetilcolina  $10$  pM (Figura 4).



**Figura 4. Comparación del efecto de la acetilcolina  $10$  pM y la glicina  $10$   $\mu\text{M}$  sobre la corriente generada por el glutamato. A.** Trazos representativos de tres condiciones: la aplicación de glutamato *per se*, co-aplicación de glutamato y ACh  $10$  pM y co-aplicación de glutamato y glicina  $10$   $\mu\text{M}$ . **B.** Comparación del efecto de ACh y glicina sobre la corriente generada por glutamato. El efecto de glicina es mayor que el de ACh, sin embargo se considera que la concentración de glicina es aplicada  $1000\ 000$  veces mayor que la ACh. **C.** Densidad de corriente de las tres condiciones anteriormente mencionadas.

La corriente generada por la aplicación de glutamato puede ser debida a la activación de tres receptores ionotrópicos: el receptor de NMDA, el receptor AMPA y el receptor a Kainato. Con la finalidad de determinar si el efecto de la acetilcolina se debe en específico a la activación de alguno de estos receptores, se decidió

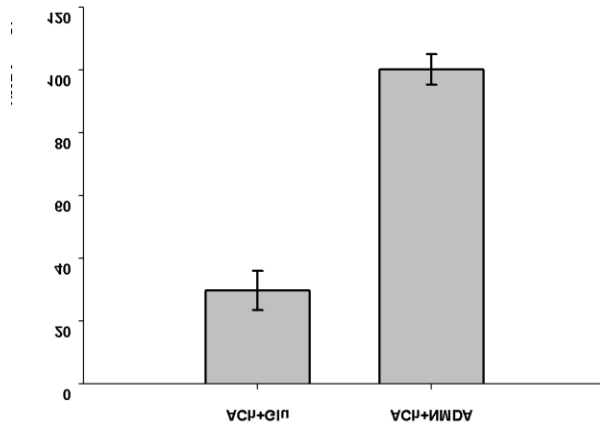
probar el efecto de la acetilcolina 10 pM sobre el receptor de NMDA. Se co-aplicó la acetilcolina 10pM con el ligando NMDA a una concentración de 100 $\mu$ M sin la presencia de la glicina. La acetilcolina conservó su efecto potenciador sobre la corriente generada por NMDA. Así mismo se obtuvieron dos grupos de efectos potenciadores: A) donde el efecto de ACh fue de una potenciación superior al 70% y B) donde el efecto de ACh potenció por debajo del 50%. Del total de neuronas registradas (n=16) de la co-aplicación de ACh y NMDA, 11 tuvieron un efecto mayor al 70% (figura 5A), con una media de  $100.18 \pm 4.8$  % (figura 5C) y cinco tuvieron un efecto menor al 50% (figura 5B) con una media de  $39.21 \pm 8.07$ % (figura 5C). Entre los dos grupos se realizó una prueba t de student la cual dio como resultado -1.406 con una P=0.182 y 14 grados de libertad (figura 5C). Posteriormente se realizó una gráfica de correlación entre la capacitancia de las células y el efecto de la acetilcolina sobre la corriente de NMDA, de la cual se obtuvo que la capacitancia no influye sobre el efecto de la acetilcolina (Figura 5D).



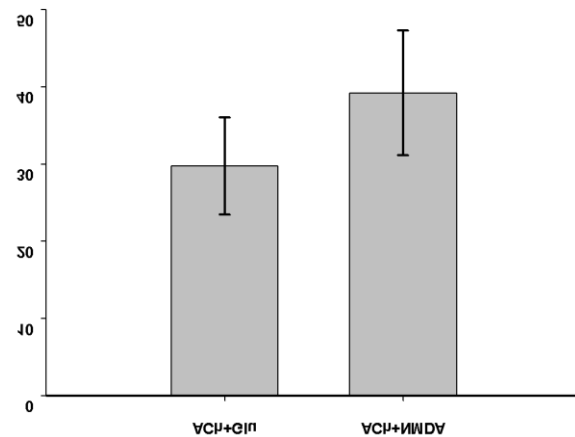
**Figura 5. Efecto de la ACh 10 pM sobre la corriente activada por NMDA. A.** Trazos representativos del efecto de ACh del grupo donde el efecto fue superior al 70% (grupo A). **B.** Trazos representativos del efecto de ACh del grupo donde el efecto fue inferior al 50% (grupo B). En ambos grupos el efecto fue completamente lavable. **C.** Gráfica de barras que muestran la media  $\pm$  EEM de ambos grupos. **D.** Gráfica de correlación entre la capacitancia de las células y el % del efecto potenciador de la ACh. En todas las células registradas se obtuvo un efecto potenciador por la ACh. La capacitancia celular no influye sobre el porcentaje del efecto potenciador de la ACh sobre la corriente generada por NMDA

Asimismo se comparó el efecto de la acetilcolina sobre la corriente de glutamato y sobre la corriente de NMDA en ambos grupos (Figura 6). Se observó que solo el grupo A es estadísticamente significativo con respecto al efecto de ACh sobre la corriente generada por glutamato con una  $t = 1.685$  con 2 grados de libertad y una  $P = 0.234$ .

A.



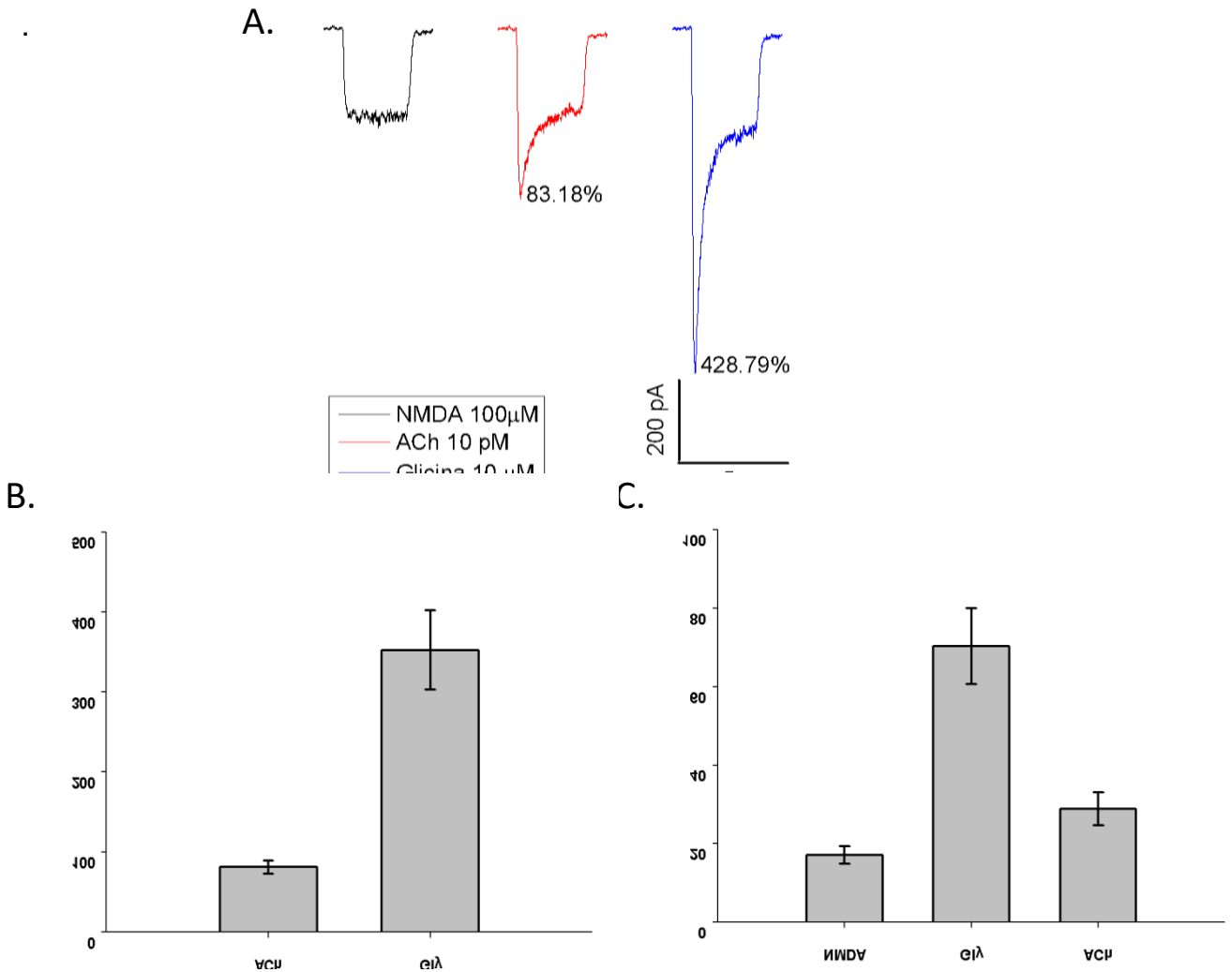
B.



**Figura 6. Comparación del efecto de acetilcolina 10 pM sobre la corriente de glutamato y la corriente de NMDA.** Se aplicó una prueba t de Student y se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa entre el efecto de ACh sobre el glutamato y el efecto de ACh del grupo A sobre el receptor NMDA, con una  $t = 1.685$  con 2 grados de libertad y una  $P = 0.234$ . **A.** Gráfica del grupo (A). **B.** Gráfica del grupo (B).

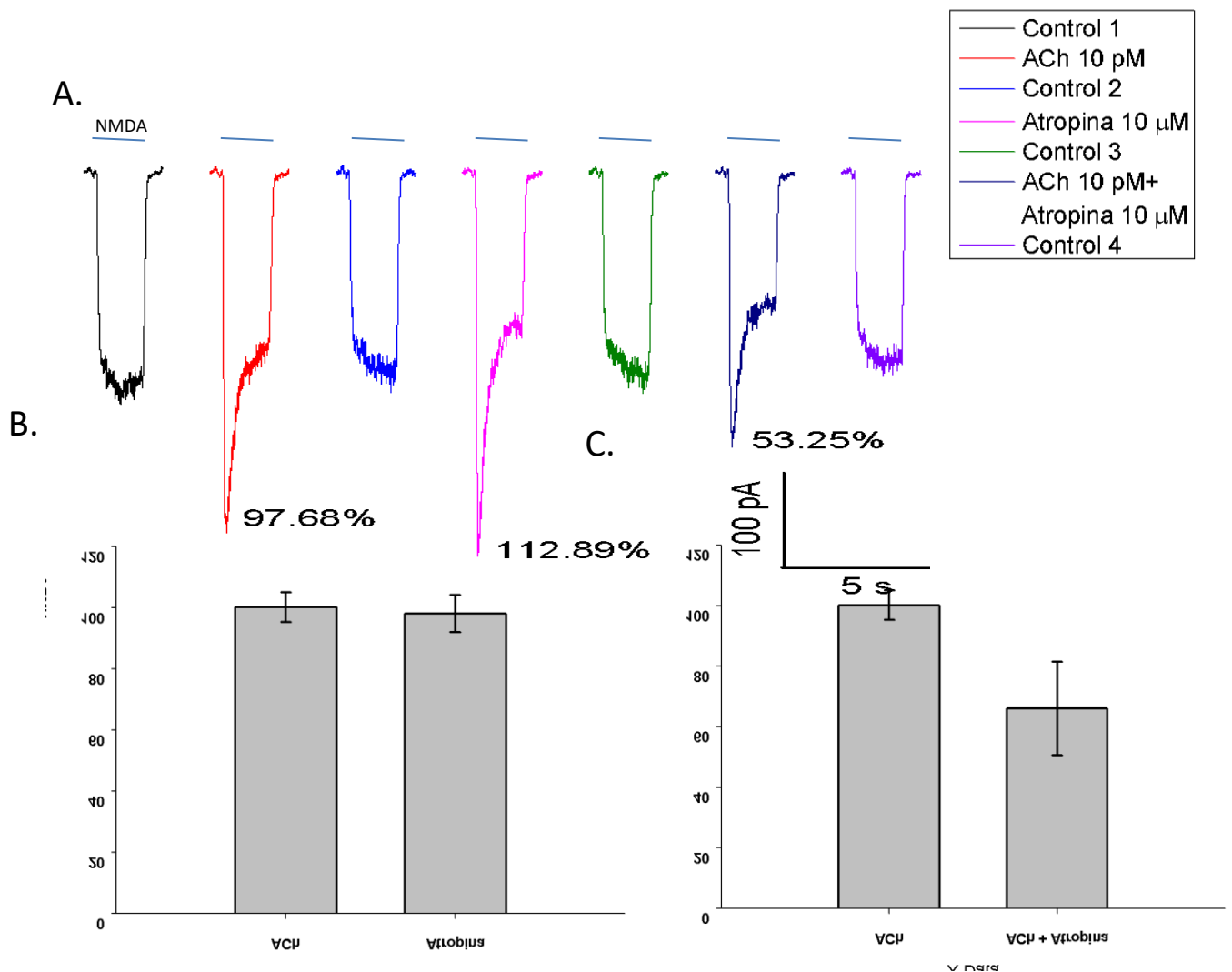
De igual manera que con la corriente de glutamato, se co-aplicó el aminoácido glicina a una concentración de 10  $\mu\text{M}$  junto con NMDA, la cual tuvo un efecto potenciador con un promedio de alrededor del 350% y se comparó con el efecto de acetilcolina 10 pM, aunado a esto se realizó una comparación de la densidad de corriente del NMDA, del NMDA co-aplicado con glicina 10  $\mu\text{M}$  y del NMDA co-aplicado con acetilcolina, las cuales tuvieron promedios de alrededor de 20 pA/pf, 70 pA/pf y 30 pA/pf respectivamente (Figura 7).





**Figura 7. Comparación del efecto de la acetilcolina 10 pM y la glicina 10  $\mu$ M sobre la corriente generada por NMDA. A.** Trazos representativos de tres condiciones: la aplicación de NMDA *per se*, co-aplicación de NMDA y ACh 10 pM y co-aplicación de NMDA y glicina 10  $\mu$ M. **B.** Comparación del efecto de ACh y glicina sobre la corriente generada por NMDA. El efecto de glicina es mayor que el de ACh, aunque la concentración de glicina es aplicada 1000 000 veces mayor que la ACh. **C.** Densidad de corriente de las tres condiciones anteriormente mencionadas.

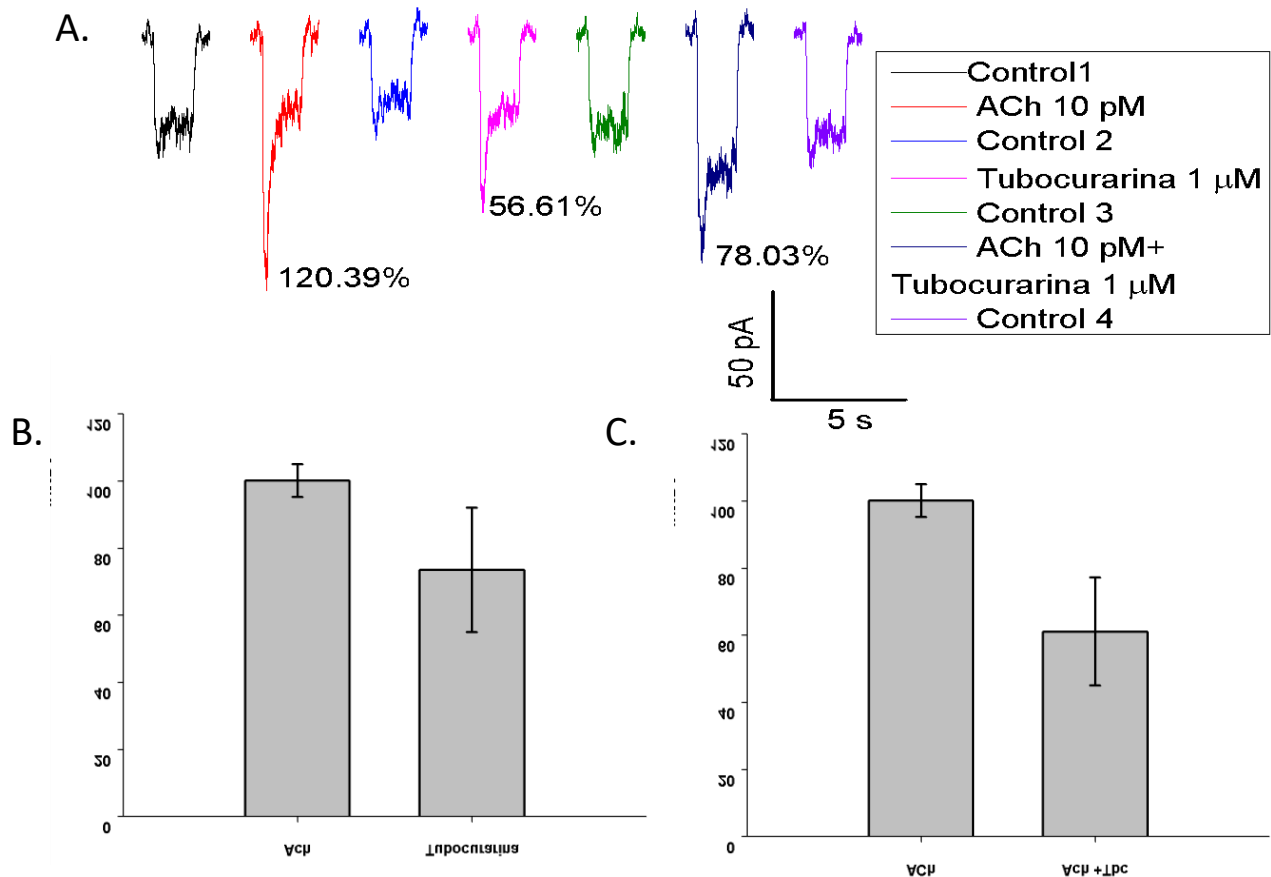
Después que se obtuvo un efecto de la acetilcolina sobre la corriente de NMDA similares o mayores a los observados sobre la corriente de glutamato, se procedió a realizar experimentos para determinar los receptores sobre los cuales la acetilcolina ejerce su efecto, primeramente se probó la aplicación del antagonista clásico muscarínico atropina, para descartar que la acetilcolina ejerza su efecto sobre sus receptores muscarínicos, de esta manera se aplicó el antagonista atropina a una concentración de 10  $\mu$ M (Flores-Hernandez y cols., 2009) para determinar si la aplicación *per se* ejercía un efecto sobre la corriente de NMDA y posteriormente se co-aplicó con la acetilcolina a la misma concentración de 10  $\mu$ M para determinar si el efecto anteriormente observado era conservado. En cuanto a la atropina, está por si sola ejerció un efecto similar a la acetilcolina con una potenciación con promedio alrededor del 100% de efecto sobre la corriente de NMDA y cuando esta se co-aplicó con la acetilcolina, el efecto se redujo a un promedio de alrededor del 60%, sin embargo la acetilcolina no perdió su efecto potenciador sobre la corriente de NMDA, como se esperaría si esta ejerciera su efecto por sus receptores muscarínicos (Fig. 8). Esto es indicativo de que el efecto potenciador de acetilcolina sobre la corriente de NMDA no es mediado mayormente por los receptores muscarínicos clásicos de la acetilcolina.



**Figura 8. Comparación del efecto de la acetilcolina 10 pM, la atropina 10 μM y co-aplicadas sobre la corriente generada por NMDA. A.** Trazos representativos de cuatro condiciones: la aplicación de NMDA *per se*, co-aplicación de NMDA y ACh 10 pM, co-aplicación de NMDA y la atropina 10 μM y co-aplicación de NMDA, ACh 10 pM y la atropina 10 μM **B.** Comparación del efecto de ACh y atropina sobre la corriente generada por NMDA. Se realizó una prueba t de Student de las dos condiciones y no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa. **C.** Comparación del efecto de ACh y la acetilcolina co-aplicada con atropina sobre la corriente generada por NMDA. Se realizó una prueba de t de Student de las dos condiciones y no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa, se realizó una prueba Mann-Whitney la cual arrojó una T=7.000 con una P=0.333 en ambos casos.

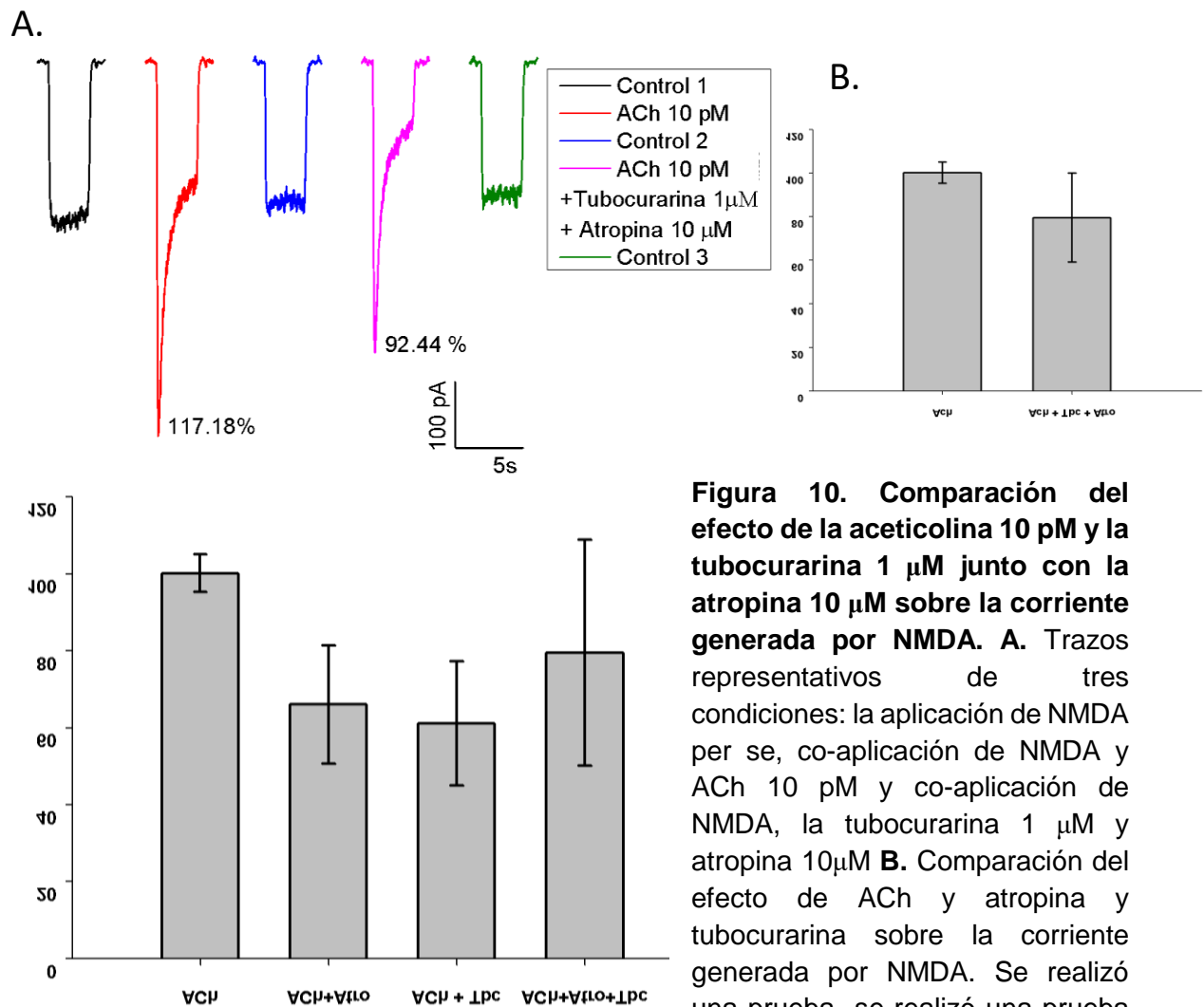
Una vez descartado el rol de los receptores muscarínicos de la acetilcolina sobre el efecto que esta ejerce sobre la corriente de NMDA se probó el posible rol de los receptores nicotínicos de la acetilcolina, para esto se aplicó el antagonista clásico nicotínico tubocurarina a una concentración de 1 μM para determinar si por si solo ejercía un efecto sobre la corriente de NMDA y posteriormente se coaplicó con la

acetilcolina a la misma concentración de 10 pM para determinar si el efecto anteriormente observado era conservado. En cuanto a la tubocurarina, está por sí sola ejerció un efecto potenciador con un promedio alrededor del 80% de efecto sobre la corriente de NMDA y cuando esta se coaplicó con la acetilcolina, el efecto se redujo a un promedio de alrededor del 60%, sin embargo la acetilcolina no perdió su efecto potenciador sobre la corriente de NMDA, como se esperaría si esta ejerciera su efecto por sus receptores nicotínicos (Fig. 9).



**Figura 9. Comparación del efecto de la acetilcolina 10 pM, la tubocurarina 1 μM y co-aplicadas sobre la corriente generada por NMDA. A.** Trazos representativos de cuatro condiciones: la aplicación de NMDA per se, co-aplicación de NMDA y ACh 10 pM, co-aplicación de NMDA y la tubocurarina 1 μM y co-aplicación de NMDA, ACh 10 pM y la tubocurarina 1 μM **B.** Comparación del efecto de ACh y atropina sobre la corriente generada por NMDA. Se realizó una prueba t de Student de las dos condiciones y no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa. **C.** Comparación del efecto de ACh y la acetilcolina co-aplicada con tubocurarina sobre la corriente generada por NMDA. Se realizó una prueba se realizó una prueba Mann-Whitney de las dos condiciones y no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa, arrojando una T=7.001 con una P=0.333.

Para corroborar que la acetilcolina no ejerciera su efecto sobre la corriente de NMDA por medio de sus receptores clásicos muscarínicos y nicotínicos, se coaplicaron ambos antagonistas clásicos, la atropina y la tubocurarina a las mismas concentraciones ya mencionadas junto con la acetilcolina. En este caso el efecto potenciador de la acetilcolina se redujo a un promedio de alrededor del 80 % y aun así la acetilcolina no perdió su efecto potenciador sobre la corriente de NMDA, como se esperaría si esta ejerciera su efecto por sus receptores clásicos muscarínicos y nicotínicos (Fig. 10). Finalmente se realizó una comparación de los efectos de acetilcolina, acetilcolina coaplicada con atropina, acetilcolina coaplicada con tubocurarina y acetilcolina coaplicada con tubocurarina y atropina (Figura 11.)



**Figura 10. Comparación del efecto de la acetilcolina 10 pM y la tubocurarina 1 μM junto con la atropina 10 μM sobre la corriente generada por NMDA. A.** Trazos representativos de tres condiciones: la aplicación de NMDA per se, co-aplicación de NMDA y ACh 10 pM y co-aplicación de NMDA, la tubocurarina 1 μM y atropina 10 μM **B.** Comparación del efecto de ACh y atropina y tubocurarina sobre la corriente generada por NMDA. Se realizó una prueba se realizó una prueba

Mann-Whitney de las dos condiciones y no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa, arrojando una T=7.001 con una P=0.333

**Figura 11.** Comparación de los efectos de acetilcolina, acetilcolina co-aplicada con atropina, acetilcolina co-aplicada con tubocurarina y acetilcolina co-aplicada con tubocurarina y atropina. Se realizó una prueba de ANOVA de una vía de las cuatro condiciones y no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa con un poder = 0.050 y una P= 0.114.

## 14. DISCUSIÓN

Como se describió en la figura 1 de los resultados, se coaplicó el glutamato con acetilcolina a tres diferentes concentraciones en donde la acetilcolina tuvo un efecto potenciador sobre la corriente de glutamato, en primer lugar es importante discutir la cinética de la corriente, la cual es una cinética característica de la corriente de glutamato, sin embargo se pueden apreciar ciertas diferencias en los trazos característicos de cada concentración de acetilcolina se sugiere que estas diferencias están mediadas por los componentes de los receptores a glutamato inotrópicos (AMPA, Kainato y NMDA).

En segundo lugar se discutirá el efecto que tuvieron las diferentes concentraciones de acetilcolina sobre la corriente de glutamato, del cual se sugiere que la concentración no influye sobre su efecto, debido a que los tres efectos registrados fueron similares y no tuvieron una diferencia estadísticamente significativa después de realizar una prueba ANOVA de dos vías que arrojó una P mayor a 0.5, sin embargo las pequeñas diferencias que se apreciaron entre ellas se puede deber a los componentes de los receptores a glutamato inotrópicos, o a otra razón, que requeriría más experimentos para definir qué es lo que está causando estas diferencias.

Todo lo anterior se considera de importancia ya que se ha reportado que los colinérgicos tienen un efecto potenciador sobre la liberación de glutamato, sin embargo se ha comprobado que estos efectos actúan por medio de los receptores nicotínicos de la acetilcolina (Radcliffe, 1999; Girod, 2000) para ser más específicos el receptor  $\alpha 7$  (Cheng, 2013), lo cual es de importancia debido a que se ha reportado que estos efectos, también llegan a potenciar la exitotoxicidad del

glutamato y a su vez potenciar los efectos neurodegenerativos del glutamato (Mattson, 1989), y por otro lado el efecto de la acetilcolina sobre el glutamato puede influir sobre el desarrollo del sistema nervioso, ya que se ha comprobado que en el hipocampo las interacciones de acetilcolina y glutamato inhiben el crecimiento dendrítico, lo cual influye en el desarrollo del circuito hipocampal (Mattson, 1988) posteriormente, en el hipocampo maduro el glutamato y la acetilcolina podrían estar interaccionando para influir sobre la plasticidad celular y los procesos de memoria (Lynch, 1986).

Como se mencionó anteriormente los receptores a NMDA inotrópicos, se componen de 3 diferentes receptores, AMPA, Kainato y NMDA. En este caso nos enfocamos al receptor de NMDA, debido a su rol importante sobre procesos fisiológicos y patológicos a nivel del sistema nervioso central. Se ha comprobado que la activación del receptor a NMDA controla la inducción de procesos de potenciación a largo plazo (LTP) y depresión a largo plazo (LTD) (Harris et al., 1984; Cull-Candy et al., 2001; Zito, 2009; Collingridge y Bliss, 1995; Bliss y Collingridge, 1993), estos procesos juegan un papel importante sobre la plasticidad cerebral la cual a su vez actúa en los procesos cognitivos de memoria y aprendizaje (Morris et al., 1986; Bourne y Nicoll, 1993; Malenka, 1994; Rison y Stanton, 1995; Zito, 2009). Así mismo una función reducida del receptor a NMDA ha sido vinculado con patologías como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson y esclerosis amiotrófica lateral (Farber et al. 1999; Newcomer et al., 2000; Cepeda et al., 2001; Anticevic et al., 2012) y una activación excesiva del receptor ha sido vinculada con muerte celular después de algún trauma al sistema nervioso central (Choi, 1988). Por todo lo anterior consideramos que es de importancia estudiar la modulación de la activación de este receptor.

Como se observó en la figura 3, se aplicó NMDA como un control y posteriormente se aplicó junto con acetilcolina 10 pM, la concentración más baja aplicada con glutamato, por convención, para observar su efecto sobre la corriente de NMDA. En primer lugar se puede observar que por sí solo el NMDA produce una corriente si bien menor que la corriente de glutamato es una corriente considerable, lo cual es

interesante, debido a que se considera que la Glicina es necesaria para la activación del receptor. Por otro lado además de conseguir una corriente de NMDA, se observó una potenciación por parte de la acetilcolina que fue mayor a la potenciación observada con glutamato, esta potenciación se dividió en dos grupos en base a su porcentaje de potenciación, un grupo cercano al 50% de potenciación y un segundo grupo cercano al 100% de potenciación, al observar una diferencia significativa entre estos dos grupos se consideró la posibilidad de que una propiedad electrofisiológica pasiva de la membrana, la capacitancia estuviera ligada a esta diferencia, sin embargo, al realizar una gráfica de correlación no se encontró una relación concluyente entre la capacitancia celular y el efecto que la acetilcolina tenía sobre la corriente de NMDA.

Se han observado potenciaciones similares en otros estudios donde se observó una potenciación de la corriente de NMDA mediante la aplicación tópica de ACh, la cual fue bloqueada cuando se realizó una pre-incubación con atropina (Markram y Segal, 1990) también se han observado efectos similares, sin embargo en este estudio solo corrientes pequeñas fueron potenciadas mientras que las corrientes grandes no se vieron afectadas por la acetilcolina (Segal et al., 1992).

La pregunta que prevalece es ¿Por qué la acetilcolina tiene efector heterogéneos sobre la corriente de NMDA? Sugerimos que la razón está vinculada con la expresión y función de los receptores a NMDA, debido a que se ha reportado que a los tres días post-natales, el receptor a NMDA no genera corriente alguna, y a partir de los 7 días hasta los 14 días la respuesta comienza a subir hasta llegar a un pico, el cual comienza a atenuarse entre los días 21 y 28 (Cowell et al., 1998) esto puede ser debido a la expresión de las subunidades del receptor a NMDA, Hofer et al. Demostraron en ratas que la subunidad NR1 tiene un aumento en su expresión entre las semanas 6 a 19, cuando alcanza su pico y comienza a bajar hasta llegar a niveles en ratas adultas, y por otro lado la subunidad NR2 llega a su pico durante el nacimiento y comienza a bajar durante las primeras semanas neonatales, este desarrollo en la expresión de las subunidades es proporcional en humanos (Anand and Scalzo, 2000).



Después de que se logró obtener una corriente de NMDA y un efecto potenciador de acetilcolina similar e incluso mayor, a través de que receptores la acetilcolina ejercía este efecto potenciador, para lo cual se comenzó probando el antagonista clásico de los receptores muscarínicos a acetilcolina, atropina para bloquear el efecto de estos receptores, ya que se ha observado una potenciación de la actividad de los receptores a NMDA por efecto de los receptores muscarinicos (Marino et al., 1998; Kirkwood et al., 1999; Sevilla y Buño, 2012).

Para comenzar se coaplico la atropina junto con el NMDA para probar que el antagonista no tuviera efecto sobre la corriente, sin embargo lo que se observó es que la atropina tenía un efecto muy similar a la acetilcolina del grupo de alrededor del 100% de potenciación, como se observa en la figura 9.

Después de obtener una potenciación por parte de la atropina sobre el receptor de NMDA, se esperaba que al coaplicar NMDA, con acetilcolina y atropina el efecto de atropina y acetilcolina fuera sumatorio, sin embargo como se observó en la figura 8, el efecto que se obtuvo fue menor que el efecto solo de atropina y solo de acetilcolina, llegando a reducir hasta el 50% de potenciación de la corriente de NMDA, sin embargo el antagonista atropina no bloqueo por completo la potenciación de la corriente de NMDA por la acetilcolina lo cual era de esperarse en caso que la acetilcolina actuara sobre sus receptores muscarinicos por lo cual se sugiere que la acetilcolina y la atropina compitieran por un posible lugar en el receptor a NMDA. Un efecto similar fue reportado por Zwart et al. En 2017, donde observaron una potenciación por parte del agonista de acetilcolina Oxotremorina-M la cual se conservó aun con la presencia de atropina, sin embargo también se probaron otros agonistas a acetilcolina como la oxotremorina y la xanomelina que de igual modo potenciaron la corriente de NMDA pero este efecto fue bloqueado por la atropina.

Una vez que se descartó la acción de los receptores muscarinicos sobre la potenciación observada en la corriente de NMDA, se prosiguió a descartar que los receptores nicotínicos de la acetilcolina tuvieran un rol sobre la potenciación, debido a que también se ha reportado el efecto potenciador del receptor nicotínico  $\alpha 7$  sobre

la corriente de NMDA (Yang et al., 2013) y este efecto activa la liberación de glutamato (Zappettini et al., 2014), así mismo se ha observado que una deleción de estos a nivel del desarrollo de un organismo reduce de manera significativa la presencia de receptores a NMDA (Lin et al., 2014).

Similarmente que con la atropina, en primer lugar se aplicó el antagonista nicotínico Tubocurarina junto con el NMDA para descartar que este tuviera un efecto sobre la corriente de NMDA y de nuevo contrario a lo que se creía y como se observa en la figura 9, la tubocurarina tuvo un efecto potenciador de alrededor del 70%, menor que el de acetilcolina pero igualmente significativo.

Siguiendo el mismo procedimiento que con la atropina, después de obtener una potenciación por parte de la tubocurarina sobre el receptor de NMDA, se esperaba que al coaplicar NMDA, con acetilcolina y tubocurarina el efecto de atropina y acetilcolina fuera sumatorio, sin embargo como se observó en la figura 9, el efecto que se obtuvo fue menor que el efecto solo de tubocurarina y solo de acetilcolina, llegando a reducir hasta al 60% de potenciación de la corriente de NMDA, sin embargo el antagonista tubocurarina no bloqueo por completo la potenciación de la corriente de NMDA por la acetilcolina lo cual era de esperarse en caso que la acetilcolina actuara sobre sus receptores nicotinicos por lo cual se sugiere que la acetilcolina y la tubocurarina compitieran por un posible lugar en el receptor a NMDA.

Para confirmar que efectivamente la acetilcolina no ejercía su efecto potenciador sobre la corriente de NMDA por medio de sus receptores clásicos muscarínicos y nicotínicos se coaplico NMDA, acetilcolina, atropina y tubocurarina. Si la acetilcolina ejerciera su efecto por sus receptores clásicos, se esperaría que el efecto de la acetilcolina se viera bloqueado por ambos antagonistas clásicos, sin embargo como se observó en la figura 10, la acetilcolina conservó su efecto significativo de aproximadamente un 80% de potenciación por lo cual sugerimos que la acetilcolina puede estar actuando sobre un sitio en el receptor a NMDA, sin embargo se necesitarían más experimentos para asegurar la existencia de este sitio en el receptor a NMDA.

## 15. CONCLUSIONES

1. La acetilcolina tiene un efecto potenciador sobre la corriente de glutamato.
2. La acetilcolina tiene un efecto potenciador sobre la corriente de NMDA.
3. La atropina tiene un efecto similar a la acetilcolina sobre la corriente de NMDA.
4. La acetilcolina conserva su efecto aun con la presencia del antagonista muscarínico atropina.
5. La tubocurarina tiene un efecto potenciador sobre la corriente de NMDA
6. La acetilcolina conserva su efecto aun con la presencia del antagonista nicotínico Tubocurarina.
7. La acetilcolina conserva su efecto aun con la presencia del antagonista muscarínico atropina y del antagonista nicotínico tubocurarina.
8. Los resultados sugieren que la acetilcolina ejerce su efecto potenciador directamente sobre el receptor de NMDA, sin embargo se necesitarían experimentos adicionales para confirmar este hecho.

## 16. BIBLIOGRAFÍA

- Aiba, A., Chen, C., Herrup, K., Rosenmund, C., Stevens, C.F., Tonegawa, S. (1994).  
Reduced hippocampal long-term potentiation and context-specific deficit in  
associative learning in mGluR1 mutant mice. *Cell* 79(2):365–75.
- Aizenman, E., Tang, L.-H., Reynolds, I.J. (1991). Effects of nicotinic agonists on the  
NMDA receptor, *Brain Research*, Volume 551, Issues 1–2, Pages 355-357,  
ISSN 0006-8993.
- Akazawa, C., Shigemoto, R., Bessho, Y., Nakanishi, S., Mizuno, N.  
(1994). Differential expression of five N-methyl-D-aspartate receptor subunit  
mRNAs in the cerebellum of developing and adult rats. *J Comp Neurol*,  
347:150-160.

- Albuquerque, E. X., Pereira, E. F. R., Alkondon, M., & Rogers, S. W. (2009). Mammalian Nicotinic Acetylcholine Receptors: From Structure to Function. *Physiological Reviews*, 89(1), 73–120. doi:10.1152/physrev.00015.2008.
- Alkon, D.L., Nelson, T.J. (1990). Specificity of molecular changes in neurons involved in memory storage. *FASEB J.* 4:1567–76
- Alkondon, M., Pereira, E.F., Eisenberg, H.M., Albuquerque E.X. (2000) Nicotinic receptor activation in human cerebral cortical interneurons: a mechanism for inhibition and disinhibition of neuronal networks. *J Neurosci* 20:66–75
- Alt, A., Weiss, B., Ogden, A.M., Knauss, J.L., Oler, J., Ho, K., Large, T.H., Bleakman, D.(2004). Pharmacological characterization of glutamatergic agonists and antagonists at recombinant human homomeric and heteromeric kainate receptors in vitro. *Neuropharmacology* 46, 793–806.
- Amodio, David M. y Frith, Chris D. (2006) “Meeting of minds: the medial frontal cortex and social cognition, *Nature Reviews Neuroscience*, Paginas 268-277.
- Anagnostaras, S.G., Murphy, G.G., Hamilton, S.E., Mitchell, S.L., Rahnema, N.P., Nathanson, N.M., *et al.* (2003) Selective cognitive dysfunction in acetylcholine M1 muscarinic receptor mutant mice. *Nat Neurosci* ; 6: 51-58.
- Anand, R., Conroy, W. G., Schoepfer, R., Whiting, P. & Lindstrom, J. (1991). Neuronal nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus* oocytes have a pentameric quaternary structure. *J. Biol. Chem.* 266, 11192–11198.
- Anderson, P. (2002). Assessment and Development of Executive Function (EF) During Childhood. *Child neuropsychology : a journal on normal and abnormal development in childhood and adolescence.* 8. 71-82. 10.1076/chin.8.2.71.8724.
- Annoura, H., Fukunaga, A., Uesugi, M., Tatsuoka, T., Horikawa, Y. (1996). A novel class of antagonists for metabotropic glutamate receptors, 7-(hydroxyimino) cyclopropa[b]chromen1a-carboxylates. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 6:763–66.
- Anwyl, R.(1999) .Metabotropic glutamate receptors: electrophysiological properties and role in plasticity. *Brain Res. Rev.* 29(1):83–12.

- Aramakis, V.B., Metherate, R., (1998). Nicotine selectively enhances NMDA receptor-mediated synaptic transmission during postnatal development in sensory neocortex. *Journal of Neuroscience* 18, 8485–8495.
- Ardila, A. y Surloff, C. (2007). *Dysexecutive syndromes*. San Diego: Medlink Neurology.
- Armstrong, N. y Gouaux, E. (2000). Mechanisms for activation and antagonism of an AMPA-sensitive glutamate receptor: Crystal structures of the GluR2 ligand binding core. *Neuron* 28, 165–181.
- Asztely, F., Gustafsson, B. (1996) Ionotropic glutamate receptors. Their possible role in the expression of hippocampal synaptic plasticity. *Mol Neurobiol* 12:1–11.
- Avila-Ruiz, T., Tellez, V., López-López, G., Limon, D., Martínez, I., Flores, G. y Flores-Hernandez, J. (2014). Chronic Administration of Nicotine Enhances NMDA-Activated Currents in the Prefrontal Cortex and Core Part of the Nucleus Accumbens of Rats. *Synapse* (New York, N.Y.). 68. 10.1002/syn.21726.
- Baddeley, A. (2003). Working memory and language: An overview. *Journal of communication disorders*. 36. 189-208. 10.1016/S0021-9924(03)00019-4.
- Balanta, D.J. (2016). Ilustración la hidrolisis de la acetilcolina. Recuperado de <http://https://slideplayer.es/slide/3826742/>
- Baghdoyan, H.A., Spotts, J.L. y Snyder, S.G. (1993) Simultaneous pontine and basal forebrain microinjections of carbachol suppress  $\checkmark$ .REM sleep, *J. Neurosci.*, 13.229–242.
- Baker, S.R., Bleakman, D., Ezquerra, J., Ballyk, B.A., Deverill, M., Ho, K., Kamboj, R.K., Collado, I., Domínguez, C., Escribano, A., Mateo, A.I., Pedregal, C., Rubio, A., (2000). 4-Alkylidenyl glutamic acids, potent and selective GluR5 antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 10, 1807–1810
- Bancila, V., Cordeiro, J.M., Bloc, A., Dunant, Y. (2009) Nicotine-induced and depolarisation-induced glutamate release from hippocampus mossy fibre synaptosomes: two distinct mechanisms. *J Neurochem* 110:570–580. CrossRef Medline.

- Banke, T., Traynelis, S.F. (1998) Control of GluR1 activation by cAMPdependent protein kinase. *Soc Neurosci Abstr* 24:1272.
- Barbas, H. (2009). Prefrontal Cortex: Structure and Anatomy. *Encyclopedia of Neuroscience*. 909-918. 10.1016/B978-008045046-9.00427-7.
- Barbour, B., Keller, B.U., Llano, I., Marty, A. (1994). Prolonged presence of glutamate during excitatory synaptic transmission to cerebellar Purkinje cells. *Neuron* 12, 1331–1343.
- Barnes, J.M., Dev, K.K., y Henley, J.M.(1994). Cyclothiazide unmasks AMPA-evoked stimulation of [3H]-L-glutamate release from rat hippocampal synaptosomes. *Br J Pharmacol*; 113:339– 341. 19.
- Bellone, C., Luscher, C., Mameli, M. (2008). Mechanisms of synaptic depression triggered by metabotropic glutamate receptors. *Cell.Mol.LifeSci.* 65(18):2913–23.
- Belousov, A.B., O'Hara, B.F., Denisova, J.V. (2001) Acetylcholine becomes the major excitatory neurotransmitter in the hypothalamus in vitro in the absence of glutamate excitation. *J Neurosci* 21:2015–2027.
- Bergles, D.E., Diamond, J.S., Jahr, C.E. (1999). Clearance of glutamate inside the synapse and beyond. *Curr Opin Neurobiol* 9: 293-298.
- Bertrand, D., Valera, S., Bertrand, S., Ballivet, M., Rungger, D. (1991) Steroids inhibit nicotinic acetylcholine receptors. *Neuroreport* 2:277–280.
- Bessis, A.S., Rondard, P., Gaven, F., Brabetl, Triballeau, N., *et al.* (2002). Closure of the Venus fly trap module of mGlu8 receptor and the activation process: insights from mutations converting antagonists into agonists. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99(17):11097–102.
- Bettany, J.H., Levin, E.D. (2001) Ventral hippocampal alpha 7 nicotinic receptor blockade and chronic nicotine effects on memory performance in the radial-arm maze. *Pharmacol Biochem Behav* 70:467–474.
- Bettler, B., Boulter, J., Hermans-Borgmeyer, I., O'Shea-Greenfield, A., Deneris, E.S., Moll, C., Borgmeyer, U., Hollmann, M., Heinemann, S.(1990). Cloning of a novel glutamate receptor subunit, GluR5: expression in the central nervous system during development. *Neuron* 5, 583–595.

- Blackstone, C., Murphy, T.H., Moss, S.J., Baraban, J.M., Huganir, R.L. (1994) Cyclic AMP and synaptic activity-dependent phosphorylation of AMPA-preferring glutamate receptors. *J Neurosci* 14:7585–7593.
- Bleakman, D., y Lodge, D. (1998). Neuropharmacology of AMPA and kainate receptors. *Neuropharmacology*, 37(10-11), 1187–1204. doi:10.1016/s0028-3908(98)00139-7
- Bliss, T.V., Collingridge, G.L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*. 1993;361:31–39. doi: 10.1038/361031a0.
- Bliss, T.V., Gardner-Medwin, A.R. (1973). Longlasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.* 232:357–74
- Bliss, T.V., Lomo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.* 232:331–56
- Bolden, C., Cusack, B. y Richelson, E. (1992) Antagonism by antimuscarinic and neuroleptic compounds at the five cloned human muscarinic cholinergic receptors expressed in Chinese hamster ovary cells. *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 260, 576–580.
- Bonfante-Cabarcas, R., Swanson, K.L., Alkondon, M., Albuquerque, E.X. (1996). Diversity of nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal neurons. IV. Regulation by external Ca<sup>++</sup> of alpha-bungarotoxin-sensitive receptor function and of rectification induced by internal Mg<sup>++</sup>. *J Pharmacol Exp Ther* 277:432–444
- Boorman, J.P., Groot-Kormelink, P.J., Sivilotti, L.G. (2000). Stoichiometry of human recombinant neuronal nicotinic receptors containing the beta3 subunit expressed in *Xenopus* oocytes. *J Physiol* 529:565–577.
- Bortolotto, Z.A. *et al.* (1999) Kainate receptors are involved in synaptic plasticity. *Nature* 402, 297–301
- Botly, L.C. y De Rosa, E. (2009). Cholinergic deafferentation of the neocortex using 192 IgG-saporin impairs feature binding in rats. *J. Neurosci.*, 29, 4120–4130.

- Bowie, D. (2002). External anions and cations distinguish between AMPA and kainate receptor gating mechanisms. *Journal of Physiology (London)* 539, 725–733.
- Brodmann (1909) *Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*. Barth JA, Leipzig.
- Broide, R.S., Salas, R., Ji, D., Paylor, R., Patrick, J.W., Dani, J.A., De Biasi, M. (2002). Increased sensitivity to nicotine-induced seizures in mice expressing the L250T alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor mutation. *Mol Pharmacol* 61:695–705.
- Carroll, F.Y., Stolle, A., Beart, P.M., Voerste, A., Brabetl, *et al.* (2001). BAY36–7620: a potent non-competitive mGlu1 receptor antagonist with inverse agonist activity. *Mol.Pharmacol.* 59(5):965–73.
- Carroll, R.C., Lissin, D.V., Von Zastrow, M., Nicoll, R.A., Malenka, R.C. (1999) Rapid redistribution of glutamate receptors contributes to long-term depression in hippocampal cultures. *Nat Neurosci* 2:454–460.
- Champtiaux, N., Han, Z.Y., Bessis, A., Rossi, F.M., Zoli, M., Marubio, L., McIntosh, J.M., Changeux, J.P. (2002). Distribution and pharmacology of alpha 6-containing nicotinic acetylcholine receptors analyzed with mutant mice. *J Neurosci* 22:1208–1217.
- Chao, L.L., y Knight, R.T. (1997). Prefrontal deficits in attention and inhibitory control with aging. *Cerebral cortex*, 7 1, 63-9 .
- Chao, J., Seiler, N., Renault, J., Kashiwagi, K., Masuko, T., Igarashi, K. y Williams, K. (1997). N1-dansyl-spermine and N1-(n-octanesulfonyl)-spermine, novel glutamate receptor antagonists: Block and permeation of N-methyl-D-aspartate receptors. *Mol Pharmacol* 51:861–871.
- Chavis, P., Fagni, L., Bockaert, J., Lansman, J.B.(1995). Modulation of calcium channels by metabotropic glutamate receptors in cerebellar granule cells. *Neuropharmacology* 34:929–37.
- Chenard, B.L., Menniti, F.S.(1999). Antagonists selective for NMDA receptors containing the NR2B subunit. *Curr Pharm Des*, 5:381-404.



- Chimirri, A., De Sarro, G., De Sarro, A., Gitto, R., Grasso, S., Quartarone, S., Zappala, M., Giusti, P., Libri, V., Constanti, A., Chapman, A.G (1997). 1-Aryl-3,5-dihydro-4H-2,3-benzodiazepin-4-ones: novel AMPA receptor antagonists. *J. Med. Chem.* 40, 1258–1269.
- Choi, S., Lovinger, D.M.(1996). Metabotropic glutamate receptor modulation of voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels involves multiple receptor subtypes in cortical neurons. *J. Neurosci.* 16:36–45.
- Christensen, J.K., Paternain, A.V., Selak, S., Ahring, P.K., Lerma, J., (2004). A mosaic of functional kainate receptors in hippocampal interneurons. *Journal of Neuroscience* 24, 8986–8993.
- Clancy, B., Darlington, R.B., Finlay, B.L. (2001). Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience* 105:7–17.
- Clarke, V.R.J., Ballyk, B.A., Hoo, K.H., Mandelzys, A., Pellizzari, A., Bath, C.P., Thomas, J., Sharpe, E.F., Davies, C.H., Ornstein, P.L., Schoepp, D.D., Kamboj, R.K., Collingridge, G.L., Lodge, D., Bleakman, D.(1997). A hippocampal GluR5 kainate receptor regulating inhibitory synaptic transmission. *Nature* 389, 599–603.
- Clements, J.D., Westbrook, G.L. (1991). Activation kinetics reveal the number of glutamate and glycine binding sites on the N-methyl-D-aspartate receptor. *Neuron* 7: 605-613.
- Coghlan, V.M., Perrino, B.A., Howard, M. , Langeberg, L.K., Hicks, J.B., Gallatin, W.M., Scott, J.D. (1995). Association of protein kinase A and protein phosphatase 2B with a common anchoring protein. *Science* 267:108–111.
- Collingridge, G.L., Bliss, T.V. (1995). Memories of NMDA receptors and LTP. *Trends in Neurosciences*;18:54–56. doi: 10.1016/0166-2236(95)93868-X.
- Collins, D.R., Davies, S.N. (1993). Co-administration of (1S, 3R)-1 aminocyclopentane-1, 3-dicarboxylic acid and arachidonic acid potentiates synaptic transmission in rat hippocampal slices. *Eur. J. Pharmacol.* 240:325–26.

- Conn, P.J., Lindsley, C.W., Jones, C.(2008). Activation of metabotropic glutamate receptors as a novel approach for the treatment of schizophrenia. *Trends Pharmacol. Sci.* 30:25–31.
- Consolo, S., Bertorelli, R., Forloni, G.L. y Butcher, L.L. (1990). Cholinergic neurons of the ponto mesencephalic tegmentum release acetylcholine in the basal nuclear complex of freely moving rats, *Neuro. science* , 32, 717–723.
- Contractor, A., Mulle, C. y Swanson, G. T. (2011). Kainate receptors coming of age: milestones of two decades of research. *Trends in Neurosciences*, 34(3), 154–163. doi:10.1016/j.tins.2010.12.002
- Corringer, P.J., Le Novere, N., Changeux, J.P. (2000). Nicotinic receptors at the amino acid level. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 40:431–458.
- Critchley, H, Wiens, S., Rotshtein, P., Ohman, A., Dolan, R. (2004). Neural Systems Supporting Interoceptive Awareness. *Nature neuroscience*. 7. 189-95. 10.1038/nn1176.
- Cull-Candy, S.G., Brickley, S., Farrant, M. (2001). NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Curr. Opin. Neurobiol.* 11, 327-335. *Current opinion in neurobiology*. 11. 327-35. 10.1016/S0959-4388(00)00215-4.
- Curtis, L., Buisson, B., Bertrand, S., Bertrand, D.(2002). Potentiation of human alpha4beta2 neuronal nicotinic acetylcholine receptor by estradiol. *Mol Pharmacol* 61:127–135.
- Dalley, J.W., Theobald, D.E., Bouger, P., Chudasama, Y., Cardinal, R.N. y Robbins, T.W. (2004). Cortical cholinergic function and deficits in visual attentional performance in rats following 192 IgG-saporin-induced lesions of the medial prefrontal cortex. *Cereb. Cortex*, 14, 922–932.
- Dani, J.A., Ji, D., Zhou, F.M. (2001). Synaptic plasticity and nicotine addiction. *Neuron* 31:349–352.
- Daniel, J. M., y Dohanich, G. P. (2001). Acetylcholine Mediates the Estrogen-Induced Increase in NMDA Receptor Binding in CA1 of the Hippocampus and the Associated Improvement in Working Memory. *The Journal of Neuroscience*, 21(17), 6949–6956. doi:10.1523/jneurosci.21-17-06949.

- Das, S., Sasaki, Y.F., Rothe, T., Premkumar, L.S., Takasu, M., Crandall, J.E., Dikkes, P., Conner, D.A., Rayudu, P.V., Cheung, W., Vincent Chen, H.S., Lipton, S.A. y Nakanishi, N.(1998). Increased NMDA current and spine density in mice lacking the NMDA receptor subunit NR3A. *Nature (Lond)* 393:377–381.
- Davies, J. y Watkins, J.C. (1985). Depressant actions of g-D-glutamylaminomethyl sulfonate (GAMS) on amino acid-induced and synaptic excitation in the cat spinal cord. *Brain Research* 327, 113–120.
- Dildy-Mayfield, J.E., Eger II, E.I., Harris, R.A. (1996). Anesthetics produce subunitselective actions on glutamate receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 276, 1058–1065.
- Dixon, M., Thiruchselvam, R., Todd, R., y Christoff, K. (2017). Emotion and the Prefrontal Cortex: An Integrative Review. *Psychological bulletin.* 143. 10.1037/bul0000096.
- Eccles, J.C.(1964). *The Physiology of Synapses*. New York: Academic Press. xi, 316 pp.
- Egebjerg, J., Bettler B., Hermans-Borgmeyer I., Heinemann S.(1991). Cloning of a cDNA for a glutamate receptor subunit activated by kainate but not AMPA. *Nature* 351, 745–748.
- Ehrengruber, M.U., Kato, A., Inokuchi, K., Hennou, S. (2004). Homer/Vesl proteins and their roles in CNS neurons. *Mol.Neurobiol.* 29(3):213–27.
- Eisele, J.L., Bertrand, S., Galzi, J.L., Devillers-Thiery, A., Changeux, J.P., Bertrand, D. (1993) Chimaeric nicotinicserotonergic receptor combines distinct ligand binding and channel specificities. *Nature* 366:479–483
- Escribano, A., Ezquerra, J., Pedregal, C., Rubio, A., Yruretagoyena, B., Baker, S.R., Wright, R.A., Johnson, B.G., Schoepp, D.D.(1998). (2S,4S)-2-Amino-4-(2,2-diphenylethyl)pentanedioic acid selective group 2 metabotropic glutamate receptor antagonist. *Bioorg Med Chem Lett* 8:765–770.
- Etkin, A., Egner, T., Kalisch, R. (2011). Etkin A, Egner T, Kalisch R. Emotional processing in anterior cingulate and medial prefrontal cortex. *Trends Cogn*

- Sci 15: 85-93. Trends in cognitive sciences. 15. 85-93.  
10.1016/j.tics.2010.11.004.
- Euston, D., Gruber, A., McNaughton, B. (2012). The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. *Neuron*. 76. 1057-70.  
10.1016/j.neuron.2012.12.002.
- Feng, B., Morley, R.M., Jane, D.E., Monaghan, D.T. (2005). The effect of competitive antagonist chain length on NMDA receptor subunit selectivity. *Neuropharmacology* 48: 354-359.
- Fisher, J.L., Dani, J.A. (2000). Nicotinic receptors on hippocampal cultures can increase synaptic glutamate currents while decreasing the NMDA-receptor component. *Neuropharmacology* 39:2756–2769.
- Flajolet, M., Rakhilin, S., Wang, H., Starkova, N., Nuangchamngong, N., *et al.* (2003). Protein phosphatase 2C binds selectively to and dephosphorylates metabotropic glutamate receptor3. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 100(26):16006–11.
- Fletcher, E.J., Lodge, D. (1996). New developments in the molecular pharmacology of AMPA and kainate receptors. *Pharmacol. Ther.* 70, 65–89.
- Flint, A.C., Maisch, U.S., Weishaupt, J.H., Kriegstein, A.R., Monyer, H. (1997). NR2A subunit expression shortens NMDA receptor synaptic currents in developing neocortex. *J Neurosci*, 17:2469-2476.
- Flores-Soto, M.E, Segura-Torres, J.E. (2005) Estructura y función de los receptores acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico *Rev Mex Neurociencia* ; 6(4) : 315-326.
- Flores-Hernandez, J., Salgado, H., De La Rosa, V., Avila-Ruiz, T., Torres-Ramirez, O., Lopez-Lopez, G. y Atzori, M. (2009). Cholinergic direct inhibition of Nmethyl-D aspartate receptor-mediated currents in the rat neocortex. *Synapse*, 63(4), 308–318. <http://doi.org/10.1002/syn.20609>
- Frerking, M. *et al.* (1998). Synaptic activation of kainate receptors on hippocampal interneurons. *Nat. Neurosci.* 1, 479–486.

- Furukawa, H., Gouaux, E. (2003). Mechanisms of activation, inhibition and specificity: crystal structures of the NMDA receptor NR1 ligand-binding core. *EMBO J* , 22:2873-2885.
- Furukawa, H., Singh, S.K., Mancusso, R., Gouaux, E. (2005). Subunit arrangement and function in NMDA receptors. *Nature* 438: 185-192.
- Fuster, J. (2001). The prefrontal cortex—An update: Time is of the essence. *Neuron*. 30. 319-33. 10.1016/S0896-6273(01)00285-9.
- Fuster, J. (2008). *The Prefrontal Cortex* (4th Edition).
- Gabbott, P.L.A., Warner, T.A., Jays, P.L.R., Salway, P., Busby, S.J.(2005). Prefrontal cortex in the rat: Projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *J Comp Neurol* 492: 145-177.
- Gatti, S., Knoflach, F., Kew, J.N.C., Adam, G., Goetschi, E., Porter, R., Wichmann, J., Woltering, T., Kemp, J.A., Mutel, V.(2001). 8-Arylethynyl-1,3-dihydrobenzo[b][1,4]diazepin-2-one derivatives are potent non-competitive metabotropic glutamate receptor 2/3 antagonists. *Soc Neurosci Abstr* 705.10.
- Gerber, D.J., Sotnikova, T.D., Gainetdinov, R.R., Huang, S.Y., Caron, M.G., Tonegawa S. (2001). Hyperactivity, elevated dopaminergic transmission, and response to amphetamine in M1 muscarinic acetylcholine receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* ; 98: 1531215317
- Gereau, R. W. y Conn, P. J. (1995). Multiple presynaptic metabotropic glutamate receptors modulate excitatory and inhibitory synaptic transmission in hippocampal area CA1. *J. Neurosci.* 15, 6879– 6889.
- Gereau, R.W., Conn, P.J.(1995). Multiple presynaptic metabotropic glutamate receptors modulate excitatory and inhibitory synaptic transmission in hippocampal area CA1. *J. Neurosci.* 15:6879–89.
- Gil, Z., Sack, R.A., Kedmi, M., Harmelin, A., Orr-Urtreger, A. (2002). Increased sensitivity to nicotine-induced seizures in mice heterozygous for the L250T mutation in the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor. *Neuroreport* 13:191–196

- Gil-Sanz, C., Delgado-García, J.M., Fairen, A., Gruart, A. (2008). Involvement of the mGluR1 receptor in hippocampal synaptic plasticity and associative learning in behaving mice. *Cereb.Cortex* 18(7):1653–63.
- Girod, R., Barazangi, N., McGehee, D. y Role, L. W. (2000). Facilitation of glutamatergic neurotransmission by presynaptic nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacology*, 39(13), 2715–2725. doi:10.1016/s0028-3908(00)00145-3
- Glaum, S. R. y Miller, R. J. (1993) Activation of metabotropic glutamate receptors produces reciprocal regulation of ionotropic glutamate and GABA responses in the nucleus of the tractus solitarius of the rat. *J. Neurosci.* 13, 1636–1641.
- Goldman-Rakic, P. S. (1987). Development of cortical circuitry and cognitive function. *Child Development*, 58(3), 601–622. <https://doi.org/10.2307/1130201>
- Gomez, J., Joly, C., Kuhn, R., Knöpfel, T., Bockaert, J., Pin, J-P. (1996). The second intracellular loop of metabotropic glutamate receptor 1 cooperates with the other intracellular domains to control coupling to G-proteins. *J.Biol.Chem.* 271(4):2199–205.
- Gomez, J., Shannon, H., Kostenis, E., Felder, C., Zhang, L., Brodtkin, J., *et al.* (1999) Pronounced pharmacologic deficits in M2 muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 1692-1697.
- Gonzalez-Islas, C., Hablitz, J. J. (2003). Dopamine Enhances EPSCs in Layer II–III Pyramidal Neurons in Rat Prefrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 23(3), 867–875. doi:10.1523/jneurosci.23-03-00867.2003
- Gouaux, E. (2004). Structure and function of AMPA receptors. *The Journal of Physiology*, 554(2), 249–253. doi:10.1113/jphysiol.2003.054320
- Gu, Z.-Q., Hesson, D., Pelletier, J., Maccechini, M.-L., Zhou, L.-M., Skolnick, P. (1995). Synthesis, resolution, and biological evaluation of the four stereoisomers of 4-methylglutamic acid: selective probes of kainate receptors. *J. Med. Chem.* 38, 2518–2520.
- Hamilton, S.E., Loose, M.D., Qi, M., Levey, Al., Hille, B., McKnight, G.S., *et al.* (1997) Disruption of the m1 receptor gene ablates muscarinic receptor-dependent M

- current regulation and seizure activity in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*; 94: 13311-13316.
- Hampson, D.R., Huie, D., Wenthold, R.J. (1987). Solubilization of kainic acid binding sites from rat brain. *J. Neurochem.* 49, 1209–1215.
- Hampson, D.R., Rose, E.M., Antflick, J.E. (2008). The structures of metabotropic glutamate receptors. In *The Glutamate Receptors*, ed. RW Gereau, GT Swanson, pp. 363–86. Totowa, NJ: Human Press
- Hatton, G.I., Yang, Q.Z. (2002). Synaptic potentials mediated by alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors in supraoptic nucleus. *J Neurosci* 22:29–37.
- Hayashi, Y., Momiyama, A., Takahashi, T., Ohishi, H., Ogawa-Meguro, R., *et al.* (1993). Role of a metabotropic glutamate receptor in synaptic modulation in the accessory olfactory bulb. *Nature* 366:687–90.
- Hebb, D. (1949). *The Organization of Behavior*. New York: Wiley
- Hefft, S., Hulo, S., Bertrand, D., Muller, D. (1999). Synaptic transmission at nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal organotypic cultures and slices. *J Physiol* 515:769–776
- Heidbreder, C.A., Groenewegen, H.J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience Biobehav Rev* 27:555–579
- Hemstapat, K., De Paulis, T., Chen, Y., Brady, A.E., Grover, V.K., *et al.* (2006). A novel class of positive allosteric modulators of metabotropic glutamate receptor subtype1 interact with a site distinct from that of negative allosteric modulators. *Mol. Pharmacol.* 70(2):616–26.
- Herb, A., Bumashv, N., Werner, P., Sakmann, B. y Seeburg, P.H. (1992). The KA-2 Subunit of excitatiyy amino acid receptors shows widespread expression in brain and forms ion channels with distantly related subunits. *Neuron* 8, 775-785.
- Herman, M.A., Jahr, C.E. (2007). Extracellular glutamate concentration in hippocampal slice. *J Neurosci* 27: 9736-9741.
- Herman, M.A., Nahir, B., Jahr, C.E. (2001). Distribution of extracellular glutamate in the neuropil of hippocampus. *PLoS One* 6: e26501.

- Hestrin, S. (1992). Activation and desensitization of glutamate-activated channels mediating fast excitatory synaptic currents in the visual cortex. *Neuron* 9, 991–999.
- Higgins, G.A., Ballard, T.M., Kew, J.N., Richards, J.G., Kemp, J.A., *et al.* (2004). Pharmacological manipulation of mGlu2 receptors influences cognitive performance in the rodent. *Neuropharmacology* 46(7):907–17.
- Hogg, R.C., Raggenbass, M, Bertrand, D. (2003). Nicotinic acetylcholine receptors: from structure to brain function. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 147: 1–46.
- Holladay, M.W., Dart, M.J., Lynch, J.K. (1997). Neuronal nicotinic acetylcholine receptors as targets for drug discovery. *J Med Chem* 40: 4169–4194, 1997.
- Hollmann, M., Heinemann, S.F. (1994). Cloned glutamate receptors. *Annu Rev Neurosci* 17:31–108.
- Honore, T., Drejer, J. (1988). Chaotropic agents affect the conformation of quisqualate receptors in rat cortical membranes. *J. Neurochem.* 51, 457–461.
- Hoover, W. B. y Vertes, R. P. (2007). Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Structure and Function*, 212(2), 149–179. doi:10.1007/s00429-007-0150-4
- Horak, M., Vlcek, K., Chodounska, H., Vyklicky, L. J.R. (2006). Subtype-dependence of N-methyl-D-aspartate receptor modulation by pregnenolone sulfate. *Neuroscience* 137: 93-102.
- Hou, L., Klann, E. (2004). Activation of the phosphor inositide 3-kinase-Akt-mammalian target of rapamycin signaling pathway is required for metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression. *J. Neurosci.* 24(28):6352–61.
- Huettner, J.E. (1990). Glutamate receptor channels in rat DRG neurons: activation by kainate and quisqualate and blockade of desensitization by Con A. *Neuron* 5, 255–266.
- Huettner, J.E. (2003). Kainate receptors and synaptic transmission. *Prog. Neurobiol.* 70, 387–407
- Huntley, G.W., Rogers, S.W., Moran, T., Janssen, W., Archi, N., Vickers, J.C., Cauley, K., Heinemann, S.F., Morrison, J.H. (1993). Selective distribution of



- kainate receptor subunit immunoreactivity in monkey neocortex revealed by a monoclonal antibody that recognizes glutamate receptor subunits GluR5/6/7. *J. Neurosci.* 13, 2965–2981.
- Huxter, J.R. *et al.* (2007). Inhibition of kainate receptors reduces the frequency of hippocampal theta oscillations. *J. Neurosci.* 27, 2212–2223.
- Iacovelli, L., Bruno, V., Salvatore, L., Melchiorri, D., Gradini, R., *et al.* (2002). Native group-III metabotropic glutamate receptors are coupled to the mitogen-activated protein kinase/phosphatidylinositol-3-kinase pathways. *J. Neurochem.* 82(2):216–23.
- Inagaki, H., Maeda, S., Lin, K.H., Shimizu, N., Saito, T. (1999). rDLG6: a novel homolog of *Drosophila* DLG expressed in rat brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 265:462–68.
- Isaacson, J.S., Nicoll, R.A. (1991). Aniracetam reduces glutamate receptor desensitization and slows the decay of fast excitatory synaptic currents in the hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 10936–10940.
- Isaacson, R.L. y Pribram, K.H. (1975). (Eds.), *The Hippocampus*, Vols. 1 and II, Plenum, New York.
- Ishii, M. y Kurachi, Y. (2006). Muscarinic Acetylcholine Receptors. *Current Pharmaceutical Design*, 12(28), 3573–3581. doi:10.2174/138161206778522056
- Jane, D.E., Hoo, K., Kamboj, R., Deverill, M., Bleakman, D., Mandelzys, A. (1997). Synthesis of willardiine and 6-azawillardiine analogs: Pharmacological characterization on cloned homomeric human AMPA and kainate receptor subtypes. *J. Med. Chem.* 40, 3645–3650.
- Ji, D., Dani, J.A. (2000). Inhibition and disinhibition of pyramidal neurons by activation of nicotinic receptors on hippocampal interneurons. *J Neurophysiol* 83: 2682–2690.
- Ji, D., Lape, R., Dani, J.A. (2001). Timing and location of nicotinic activity enhances or depresses hippocampal synaptic plasticity. *Neuron* 31:131–141.
- Jiang, L. *et al.* (2001). A kainate receptor increases the efficacy of GABAergic synapses. *Neuron* 30, 503–513.

- Jingami, H., Nakanishi, S., Morikawa, K. (2003). Structure of the metabotropic glutamate receptor. *Curr. Opin. Neurobiol.* 13(3):271–78.
- Johnson, J.W. y Ascher, P. (1987). Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature* 325: 529-531.
- Johnson, M.P., Baez, M., Jagdmann, G.E., Britton, T.C., Large, T.H., Callagaro, D.O., Tizzano, J.P., Monn, J.A., Schoepp, D.D.(2003). Discovery of allosteric potentiators for the metabotropic glutamate 2 receptor: synthesis and subtype selectivity of N-(4-(2-Methoxyphenoxy)phenyl)-N-(2,2,2-trifluoroethylsulfonyl)pyridin-3-ylmethylamine. *J Med Chem* 46:3189–3192.
- Jones, I.W., Bolam, J.P., Wonnacott, S. (2001). Presynaptic localisation of the nicotinic acetylcholine receptor beta2 subunit immunoreactivity in rat nigrostriatal dopaminergic neurones. *J Comp Neurol* 439:235– 247.
- Jones, K.A., Wilding, T.J., Huettner, J.E., Costa, A.-M. (1997). Desensitization of Kainate receptors by kainate, glutamate, and diastereomers of 4-methylglutamate. *Neuropharmacology* 36, 853–863.
- Jurado, M-B. y Rosselli, M. (2007). The Elusive Nature of Executive Functions: A Review of our Current Understanding. *Neuropsychology review.* 17. 213-33. 10.1007/s11065-007-9040-z.
- Kamboj, R.K., Schoepp, D.D., Nutt, S., Shekter, L., Korczak, B., True, R.A., Rampersad, V., Zimmerman, D.M. y Wosnick, M.A. (1994). Molecular Cloning, Expression, and Pharmacological Characterization of humEAA1, a Human Kainate Receptor Subunit. *Journal of Neurochemistry*, 62: 1-9. doi:10.1046/j.1471-4159.1994.62010001.x
- Kametani, H. y Kawamura, H. (1991). Circadian rhythm of cortical acetylcholine release as measured by in vivo microdialysis in freely moving rats, *Neurosci. Lett.*, 132. 263–266.
- Kameyama, K., Lee, H-K., Bear, M.F., Huganir, R.L. (1998). Involvement of a postsynaptic protein kinase A substrate in the expression of homosynaptic long-term depression. *Neuron* 21:1163–1175.

- Kammermeier, P.J., Yun, J. (2005). Activation of metabotropic glutamate receptor 1 dimers requires glutamate binding in both subunits. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 312(2):502–8
- Kapalka, George, M. (2010). "Substances Involved in Neurotransmission". *Nutritional and Herbal Therapies for Children and Adolescents*. Elsevier. pp. 71–99. Buy book ISBN 978-0-12-374927-7.
- Karlin, A., Cox, R.N., Dipaola, M., Holtzman, E., Kao, P.N., Lobel, P., Wang, L., Yodh, N.(1986). Functional domains of the nicotinic acetylcholine receptor. *Ann NY Acad Sci* 463: 53–69.
- Kashiwagi, K., Masuko, T., Nguyen, C.D., Kuno, T., Tanaka, I., Igarashi, K., Williams, K. (2002).Channel blockers acting at N-methyl- D-aspartate receptors: differential effects of mutations in the vestibule and ion channel pore. *Mol Pharmacol*, 61:533-545.
- Kasper, B. Hansen, Feng ,Yi, Riley ,E. Perszyk, Furukawa, H., Lonnie P. ,Wollmuth, Alasdair, J., Gibb, Stephen, F., Traynelis; Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors. *J Gen Physiol* 6 August 2018; 150 (8): 1081–1105.
- Kastner, S. y Ungerleider, L. G. (2000). Mechanisms of visual attention in the human cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 23,315–341.
- Kawaguchi, Y. (1995). Physiological subgroups of nonpyramidal cells with specific morphological characteristics in layer II/III of rat frontal cortex. *The Journal of Neuroscience*, 15(4), 2638–2655. doi:10.1523/jneurosci.15-04-02638.1995
- Keller, B.U., Hollmann, M., Heinemann, S., Konnerth, A. (1992). Calcium influxthroughsubunitsGluR1/GluR3ofkainate/AMPAreceptorchannels is regulated by cAMP dependent protein kinase. *EMBO J* 11:891–896.
- Kesner, R., Churchwel,l J. (2011). An analysis of rat prefrontal cortex in mediating executive function. *Neurobiol Learn Mem.* Oct; 96(3): 417–431. Published online 2011 Aug 9. doi: 10.1016/j.nlm.2011.07.002
- Kew, J. y Kemp, J. (2005). Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. *Psychopharmacology*. 179. 4-29. 10.1007/s00213-005-2200-z.

- Kleckner, N.W. y Dingledine, R. (1988). Requirement for glycine in activation of NMDA receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Science* (Wash DC) 241:835–837.
- Knoflach, F., Mutel, V., Jolidon, S., Kew, J.N.C., Malherbe, P., *et al.* (2001). Positive allosteric modulators of metabotropic glutamate 1 receptor: characterization, mechanism of action, and binding site. *Proc. Natl. Acad.Sci.USA* 98(23):13402–7.
- Koechlin, E., Corrado, G., Pietrini, P., Grafman, J. (2000). Dissociating the role of the medial and lateral anterior prefrontal cortex in human planning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 97. 7651-6. 10.1073/pnas.130177397.
- Kohara, A., Toya, T., Tamura, S., Watabiki, T., Nagakura, Y., *et al.* (2005). Radioligand binding properties and pharmacological characterization of 6-amino-N-cyclohexyl-N,3-dimethylthiazolo[3,2a]benzimidazole-2-carboxamide(YM-298198), a high-affinity, selective, and noncompetitive antagonist of metabotropic glutamate receptor type 1. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 315(1):163–69.
- Kruse, A. C., Hu, J., Pan, A. C., Arlow, D. H., Rosenbaum, D. M., Rosemond, E., Kobilka, B. K. (2012). Structure and dynamics of the M3 muscarinic acetylcholine receptor. *Nature*, 482(7386), 552–556. doi:10.1038/nature10867.
- Kullmann, D.M., Lamsa, K. (2008). Roles of distinct glutamate receptors in induction of anti-Hebbian long-term potentiation. *J.Physiol.* 586(6):1481–86.
- Kullmann, D.M., Siegelbaum, S.A. (1995). The site of expression of NMDA receptor-dependent LTP: new fuel for an old fire. *Neuron* 15:997– 1002
- Kumar, J., Schuck, P., & Mayer, M. L. (2011). Structure and assembly mechanism for heteromeric kainate receptors. *Neuron*, 71(2), 319–331. doi:10.1016/j.neuron.2011.05.038}
- Kunishima, N., Shimada, Y., Tsuji, Y., Sato, T., Yamamoto, M., *et al.* (2000). Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor. *Nature* 407(6807):971–77.

- Kurachi, Y, Ishii, M.(2004) Cell signal control of the G protein-gated potassium channel and its subcellular localization. *J Physiol* 2004; 554: 285-94.
- Kuryatov, A. *et al.* (1994) Mutational analysis of the glycine-binding site of the NMDA receptor: structural similarity with bacterial amino acid-binding protein. *Neuron* 12, 1291-1300.
- Lara, A. H., y Wallis, J. D. (2015). The Role of Prefrontal Cortex in Working Memory: A Mini Review. *Frontiers in systems neuroscience*, 9, 173. doi:10.3389/fnsys.2015.00173
- Lash, L.L., Sanders, J.M., Akiyama, N., Shoji, M., Postila, P., Pentikainen, O.T., Sasaki, M., Sakai, R., Swanson, G.T. (2008). Novel analogs and stereoisomers of the marine toxin neodysiherbaine with specificity for kainate receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 324, 484–496.
- Lauri, S.E. *et al.* (2001) A critical role of a facilitatory presynaptic kainate receptor in mossy fiber LTP. *Neuron* 32, 697–709
- Laurie, D.J. y Seeburg, P.H. (1994). Regional and developmental heterogeneity in splicing of the rat brain MNDAR1 mRNA. *J Neurosci* 13:3180–3194.
- Lavreysen, H., Pereira, S.N., Leysen, J.E., Langlois, X., Lesage, A.S. (2004). Metabotropic glutamate1 receptor distribution and occupancy in the rat brain: a quantitative autoradiographic study using [3H]R214127. *Neuropharmacology* 46(5):609–19.
- Lerma, J. (2006) Kainate receptor physiology. *Curr. Opin. Pharmacol.* 6, 89–97.
- Lerma, J., Paternain, A.V., Naranjo, J.R., Mellström, B. (1993). Functional kainate-selective glutamate receptors in cultured hippocampal neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 11688– 11692.
- Levenes, C., Daniel, H., Crepel, F. (1998). Long-term depression of synaptic transmission in the cerebellum: cellular and molecular mechanisms revisited. *Prog Neurobiol* 55:79–91.
- Levey, A.I.(1993). Immunological localization of M1-M5 muscarinic acetylcholine receptors in peripheral tissue and brain. *Life Sci* ; 52: 441-448.

- Levin, E.D., Bradley, A., Addy, N., Sigurani, N. (2002). Hippocampal alpha 7 and alpha 4 beta 2 nicotinic receptors and working memory. *Neuroscience* 109:757–765
- Levin, E.D., Rezvani, A.H. (2000). Development of nicotinic drug therapy for cognitive disorders. *Eur J Pharmacol* 393:141–146.
- Levin, E.D., Simon, B.B. (1998). Nicotinic acetylcholine involvement in cognitive function in animals. *Psychopharmacology* 138: 217–230.
- Lezak, M.D., Howieson, D.B. y Loring, D.W. (2004). *Neuropsychological assessment* (4a. ed.). Oxford, New York: Oxford University Press.
- Li, H., Cheng, A., Xing, G., Wei, M.L., Rogawski, M.A. (2001). Kainate receptor-mediated heterosynaptic facilitation in the amígdala. *Nature Neuroscience* 4, 612-602.
- Li, X.M., Li, C.C., Yu, S.S., Chen, J.T., Sabapathy, K., Ruan, D.Y. (2007). JNK1 contributes to metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression and short-term synaptic plasticity in the mice area hippocampal CA1. *Eur.J.Neurosci.* 25(2):391–96.
- Lin, H., Hsu, F.-C., Baumann, B. H., Coulter, D. A. y Lynch, D. R. (2014). Cortical synaptic NMDA receptor deficits in  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor gene deletion models: Implications for neuropsychiatric diseases. *Neurobiology of Disease*, 63, 129–140. doi:10.1016/j.nbd.2013.11.021
- Lin, H., Hsu, F.C., Baumann, B., Coulter, D., Lynch, D. (2013). Cortical synaptic NMDA receptor deficits in  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor gene deletion models: implications for neuropsychiatric diseases. *Neurobiol Dis.*; 63:129–140. [PubMed: 24326163]
- Linden, D.J. (1994). Long-term synaptic depression in the mammalian brain. *Neuron* 12:457–72
- Lledo, P.M., Zhang, X., Sudhof, T.C., Malenka, R.C., Nicoll, R.A. (1998). Postsynaptic membrane fusion and long-term potentiation. *Science* 279:399–403
- Lockhart, B., Iop, F., Closier, M. y Lestage, P. (2000). (S)-2,3-dihydro-[3,4]cyclopentano-1,2,4-benzothiadiazine-1,1-dioxide: (S18986-1) A positive

- modulator of AMPA receptors enhances (S)-AMPA-mediated [3H]noradrenaline release from rat hippocampal and frontal cortex slices. *Eur. J. Pharmacol.* 401:145–153.
- Lomeli, H. *et al.* (1992). High-affinity kainate and domoate receptors in rat brain. *FEBS Lett.* 307, 139–143
- London, E.D., Coyle, J.T. (1979). Specific binding of [3H]kainic acid to receptor sites in the rat brain. *Mol. Pharmacol.* 15, 492–505.
- Lozano, A. y Ostrosky, F. (2011). *Desarrollo de las Funciones Ejecutivas y de la Corteza Prefrontal*. 11. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., México.
- Lukas, R.J., Changeux, J.P., Le Novère, N., Albuquerque, E.X., Balfour, D.J., Berg, D.K., Bertrand, D., Chiappinelli, V.A., Clarke, P.B., Collins, A.C., Dani, J.A., Grady, S.R., Kellar, K.J., Lindstrom, J.M., Marks, M.J., Quik, M., Taylor, P.W., Wonnacott, S. (1999). International Union of Pharmacology. XX. Current status of the nomenclature for nicotinic acetylcholine receptors and their subunits. *Pharmacol Rev* 51: 397–401.
- Luna, A. (2016). Estudio de la D-Tubocurarina sobre las corrientes activadas por NMDA en neuronas agudamente dissociadas de núcleo estriado de rata. (Tesis de Pregrado). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.
- Lüthi, A., Gähwiler, B.H., Gerber, U. (1996). A slowly inactivating potassium current in CA3 pyramidal cells of rat hippocampus in vitro. *J. Neurosci.* 16:586–94.
- MacDermott, A.B., Role, L.W. y Siegelbaum, S.A. (1999). Presynaptic ionotropic receptors and control of transmitter release. *Nat. Rev. Neurosci.*, 22, 443–485.
- Malayev, A., Gibbs, T.T., Farb, D.H. (2002). Inhibition of the NMDA response by pregnenolone sulphate reveals subtype selective modulation of NMDA receptors by sulphated steroids. *Br J Pharmacol* 135: 901-909.
- Malenka, R.C., Nicoll, R.A. (1999) Long-term potentiation—a decade of progress? *Science* 285:1870–1874.

- Malherbe, P., Mutel, V., Broger, C., Perin-Dureau, F., Kemp, J.A., Neyton, J., Paoletti, P., Kew, J.N. (2003). Identification of critical residues in the amino terminal domain of the human NR2B subunit involved in the RO 25-6981 binding pocket. *J Pharmacol Exp Ther*, 307:897-905.
- Malinow, R. y Malenka, R. C. (2002). AMPA Receptor Trafficking and Synaptic Plasticity. *Annual Review of Neuroscience*, 25(1), 103–126. doi:10.1146/annurev.neuro.25.112701.142
- Mammen, A.L., Kameyama, K., Roche, K.W ,Huganir, R.L. (1997). Phosphorylation of the  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid receptor GluR1 subunit by calcium/calmodulin-dependent kinase II. *J Biol Chem* 272:32528–32533.
- Mannaioni, G., Marino, M.J., Valentino, O., Traynelis, S.F., Conn, P.J. (2001). Metabotropic glutamate receptors 1 and 5 differentially regulate CA1 pyramidal cell function. *J.Neurosci.* 21(16):5925–34.
- Mansvelder, H.D., Keath, J.R., McGehee, D.S. (2002). Synaptic mechanisms underlie nicotine-induced excitability of brain reward areas. *Neuron* 33:905–919.
- Mao, L., Yang, L., Tang, Q., Samdani, S., Zhang, G., Wang, J.Q. (2005). The scaffold protein Homer1b/c links metabotropic glutamate receptor 5 to extracellular signal-regulated protein kinase cascades in neurons. *J.Neurosci.* 25(10):2741–52.
- Maren, S., Baudry, M. (1995). Properties and mechanisms of long-term synaptic plasticity in the mammalian brain: relationships to learning and memory. *Neurobiol Learn Mem* 63:1–18.
- Marino, M. J., Rouse, S. T., Levey, A. I., Potter, L. T. y Conn, P. J. (1998). Activation of the genetically defined m1 muscarinic receptor potentiates N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor currents in hippocampal pyramidal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(19), 11465–11470. doi:10.1073/pnas.95.19.11465
- Marino, M.J., Williams, D.L. Jr., O'Brien, J.A., Valentino, O., McDonald, T.P., *et al.* (2003). Allosteric modulation of group III metabotropic glutamate receptor 4:



- a potential approach to Parkinson's disease treatment. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 100(23):13668–73.
- Markram, H., Segal, M.(1990). Acetylcholine potentiates responses to N-methyl-D-aspartate in the rat hippocampus. *Neurosci Lett.*; 113:62–65. [PubMed: 1973273]
- Masu, M., Iwakabe, H., Tagawa, Y., Miyoshi, T., Yamashita, M., *et al.* (1995). Specific deficit of the ON response in visual transmission by targeted disruption of the mGluR6 gene. *Cell* 80(5):757–65.
- Matsubara, A., Laake, J.H., Davanger, S., Usami, S., y Ottersen, O.P. (1996) Organization of AMPA receptor subunits at a glutamate synapse: a quantitative immunogold analysis of hair cell synapses in the rat organ of Corti. *J Neurosci*; 16:4457– 4467. 18.
- Mattson, M. P. (1989). Acetylcholine potentiates glutamate-induced neurodegeneration in cultured hippocampal neurons. *Brain Research*, 497(2), 402–406. doi:10.1016/0006-8993(89)90289-8
- Mayer, M.L.(2006). Glutamate receptors at atomic resolution. *Nature* 2006, 440:456-462.
- Mayer, M.L., Vyklicky, L.Jr. (1989). Concanavalin A selectively reduces desensitization of mammalian neuronal quisqualate receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 1411–1415.
- Mayer M.L., Westbrook G.L. (1987). Permeation and block of N-methyl-D-aspartic acid receptor channels by divalent cations in mouse cultured central neurones. *J Physiol* 394: 501-527.
- Meddows E., Le Bourdelles B., Grimwood S., Wafford K., Sandhu S., Whiting P., McIlhinney R.A. (2001). Identification of molecular determinants that are important in the assembly of N-methyl-D-aspartate receptors. *J Biol Chem*, 276:18795-18803.
- Menzaghi F., McClure D.E., Lloyd G.K., 1999. In: Arneric, S.P., Brioni, J.D. (Eds.), *Neuronal Nicotinic Receptors: Pharmacology and Therapeutic Opportunities*. Wiley-Liss, pp. 379-394.

- Metherate R. y Ashe J. (1995). Synaptic interactions involving acetylcholine, glutamate, and GABA in rat auditory cortex. *Experimental Brain Research*, 107(1). doi:10.1007/bf00228017
- Meyer D., Schvaneveldt R., Ruddy M. (1975). Loci of Contextual Effects on Visual Word Recognition.
- Milad M.R., Wright C.I., Orr S.P., Pitman R.K., Quirk G.J., Rauch S.L.(2007). Recall of fear extinction in humans activates the ventromedial prefrontal cortex and hippocampus in concert. *Biol Psychiatry*. ;62:446–454.
- Minakami R., Yamamoto T., Nakamura K., Sugiyama H. (1994). Molecular cloning and the functional expression of two isoforms of human metabotropic glutamate receptor subtype 5. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 199(3):1136–43
- Miyakawa T., Yamada M., Duttaroy A., Wess J. (2001). Hyperactivity and intact hippocampus-dependent learning in mice lacking the M1 muscarinic acetylcholine receptor. *J Neurosci* 2001; 21: 5239-5250
- Miyashita Y. y Hayashi T. (2000). Neural representation of visual objects: Encoding and top–down activation. *Currents in Opinion Neurobiology*, 10, 187–194.
- Miyazawa A., Fujiyoshi Y., Stowell M., Unwin N. (1999). Nicotinic acetylcholine receptor at 4.6 Å resolution: transverse tunnels in the channel wall. *J Mol Biol* 288:765–786.
- Møller E.H., Egebjerg J., Brehm L., Stensbøl T.B., Johansen T.N., Madsen U., Krosgaard-Larsen P. (1999). Resolution, absolute stereochemistry, and enantiopharmacology of the GluR1-4 and GluR5 antagonist 2-amino-3-[5--tert-butyl-3-(phosphonomethoxy)-4-isoxazolyl]propionic acid. *Chirality* 11, 752–759.
- Momiyama A., Feldmeyer D. y Cull-Candy S.G. (1996). Identification of a native low-conductance NMDA channel with reduced sensitivity to Mg<sup>2+</sup> in rat central neurones. *J Physiol (Lond)* 494:479–492.
- Mony L., Zhu S., Carvalho S., Paoletti P. (2011). Molecular basis of positive allosteric modulation of GluN2B NMDA receptors by polyamines. *Embo J* 30: 3134-3146.

- Monyer H., Sprengel R., Schoepfer R., Herb A., Higuchi M., Lomeli H., Burnashev N., Sakmann B., Seeburg P.H. (1992). Heteromeric NMDA receptors: molecular and functional distinction of subtypes. *Science* 256: 1217-1221.
- More J.C.A., Nitsico R., Dolman N.P., Clarke V.R.J., Alt A.J., Ogden A.M., Buelens F.P., Troop H.M., Kelland E.E., Pilato F., Bleakman D., Bortolotto Z.A., Collingridge G.L., Jane D.E. (2004). Characterisation of UBP296: a novel, potent and selective kainate receptor antagonist. *Neuropharmacology* 47, 46–64.
- More J.C.A., Troop H.M., Jane D.E. (2002). The novel antagonist 3-CBW discriminates between kainate receptors expressed on neonatal rat motoneurons and those on dorsal root C-fibres. *British Journal of Pharmacology* 137, 1125–1133.
- Morishima Y., Miyakawa T., Furuyashiki T., Tanaka Y., Mizuma H., Nakanishi S. (2005). Enhanced cocaine responsiveness and impaired motor coordination in metabotropic glutamate receptor subtype 2 knockout mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102(11):4170–75.
- Moriyoshi K., Masu M., Ishii T., Shigemoto R., Mizuno N., Nakanishi S. (1991). Molecular cloning and characterization of the rat NMDA receptor. *Nature* 354: 31-37, 1991
- Mullasseril P., Hansen K.B., Vance K.M., Ogden K.K., Yuan H., Kurtkaya N.L., Santangelo R., Orr A.G., Le P., Vellano K.M., Liotta D.C., Traynelis S. (2010). A subunit-selective potentiator of NR2C- and NR2D-containing NMDA receptors. *Nat Commun* 1: 90.
- Mulle C. *et al.* (2000) Subunit composition of kainate receptors in hippocampal interneurons. *Neuron* 28, 475–484.
- Muly E.C., Mania I., Guo J.D., Rainnie D.G. (2007). Group II metabotropic glutamate receptors in anxiety circuitry: correspondence of physiological response and subcellular distribution. *J. Comp. Neurol.* 505(6):682–70.
- Nakazato A., Kumagai T., Sakagami K., Yoshikawa R., Suzuki Y., Chaki S., Ito H., Taguchi T., Nakanishi S., Okuyama S. (2000). Synthesis, SARs and pharmacological characterisation of 2-amino-3 or 6-

- fluorobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid derivatives as potent, selective, and orally active group II metabotropic glutamate receptor agonists. *J Med Chem* 43: 4893–4909.
- Nelson C. L., Sarter M. y Bruno J. P. (2002). Glutamatergic or cholinergic stimulation of the medial prefrontal cortex increases acetylcholine release in the posterior parietal cortex. *Society for Neuroscience Abstracts*, 28, 674–677
- Nestler, Hyman, Holtzman y Malenka (2006). *Neurofarmacología Molecular*, 3ra Edición.
- Neuroanatomía humana de Carpenter, 9ª edición. Baltimore: Williams y Wilkins, 1996, p. 866
- Newhouse P.A., Potter A., Corwin J., Lenox R. (1992). Acute nicotinic blockade produces cognitive impairment in normal humans. *Psychopharmacology* 108:480–484.
- Neyton J., Paoletti P. (2006) Relating NMDA receptor function to receptor subunit composition: limitations of the pharmacological approach. *J Neurosci*, 26:1331-1333.
- Niswender C. M. y Conn P.J. (2010). Metabotropic Glutamate Receptors: Physiology, Pharmacology, and Disease. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 50(1), 295–322. doi:10.1146/annurev.pharmtox.011008.1
- Niswender C.M., *et al.* (2008). Permissive antagonism induced by negative allosteric modulators of mGluR7. *Neuropharmacology* 55:615 (Abstr.)
- Ongur D. y Prince J.L. (2000). The Organization of Networks within the Orbital and Medial Prefrontal Cortex of Rats, Monkeys and Humans. *Cerebral Cortex*, 10(3), 206–219. doi:10.1093/cercor/10.3.206
- Orr-Urtreger A., Goldner F.M., Saeki M., Lorenzo I., Goldberg L., De Biasi M., Dani J.A., Patrick J.W., Beaudet A.L. (1997). Mice deficient in the alpha7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor lack alpha-bungarotoxin binding sites and hippocampal fast nicotinic currents. *J Neurosci* 17:9165–9171.
- Page G., Khadir F.A., Pain S., Barrier L., Fauconneau B., *et al.* (2006). Group I metabotropic glutamate receptors activate the p70S6 kinase via both mammalian target of rapamycin (mTOR) and extracellular signal-regulated

- kinase (ERK1/2) signaling pathways in rat striatal and hippocampal synaptosomes. *Neurochem. Int.* 49(4):413–21.
- Palma E., Maggi L., Miledi R., Eusebi F. (1998). Effects of Zn<sup>2+</sup> on wild and mutant neuronal alpha7 nicotinic receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:10246–10250.
- Paoletti P. y Neyton J. (2007). NMDA receptor subunits: Function and pharmacology. *Acute Pain*, 9(2), 97. doi:10.1016/j.acpain.2007.04.009
- Paoletti P., Ascher P., Neyton J.(1997). High-affinity zinc inhibition of NMDA NR1-NR2A receptors. *J Neurosci* 1997, 17:5711-5725.
- Paradiso K., Zhang J., Steinbach J.H.(2001). The C terminus of the human nicotinic alpha4beta2 receptor forms a binding site required for potentiation by an estrogenic steroid. *J Neurosci* 21:6561–6568.
- Partin K.M., Fleck M.W., Mayer M.L. (1996). AMPA receptor flip/flop mutants affecting deactivation, desensitization, and modulation by cyclothiazide, aniracetam and thiocyanate. *J. Neurosci.* 16, 6634–6647.
- Partin K.M., Patneau D.K., Winters C.A., Mayer M.L., Buonanno A. (1993). Selective modulation of desensitisation at AMPA versus kainate receptors by cyclothiazide and concanavalin A. *Neuron* 11, 1069–1082.
- Paternain A.V., Morales M., Lerma J. (1995). Selective antagonism of AMPA receptors unmasks kainate receptor-mediated responses in hippocampal neurons. *Neuron* 14, 185–189.
- Paternain A.V., Rodríguez-Moreno A., Villarroel A., Lerma J., (1998). Activation and desensitization properties of native and recombinant kainate receptors. *Neuropharmacology* 37, 1249–1259.
- Patneau D.K. y Mayer M.L. (1990). Structure-activity relationships for amino acid transmitter candidates acting at N-methyl-D-aspartate and quisqualate receptors. *J Neurosci* 10: 2385-2399.
- Patneau D.K., Vyklicky L. Jr., Mayer M.L. (1993). Hippocampal neurons exhibit cyclothiazide-sensitive rapidly desensitizing responses to kainate. *J. Neurosci.* 13, 3496–3509.

- Pearson R.B. y Kemp B.E. (1991). Protein kinase phosphorylation site sequences and consensus specificity motifs: tabulations. *Methods Enzymol* 200A:62–81.
- Pekhletski R., Gerlai R., Overstreet L.S., Huang X.P., Agopyan N., *et al.* (1996). Impaired cerebellar synaptic plasticity and motor performance in mice lacking the mGluR4 subtype of metabotropic glutamate receptor. *J.Neurosci.* 16(20):6364–73.
- Perin-Dureau F., Rachline J., Neyton J., Paoletti P. (2002) Mapping the binding site of the neuroprotectant ifenprodil on NMDA receptors. *J Neurosci*, 22:5955-5965.
- Perry E.K. y Perry R.H. (1995). Acetylcholine and hallucinations: disease-related compared to drug-induced alterations in human consciousness, *Neuropsychology*.
- Petocz L., Kosoczky I. (1975).The main pharmacological characteristics of Grandaxin (Tofisopam, EGYT-341) *Ther Hungarica*; 23:134-138. 24.
- Petrides M. y Pandya D. N. (2002). Comparative cytoarchitectonic analysis of the human and the macaque ventrolateral prefrontal cortex and corticocortical connection patterns in the monkey. *European Journal of Neuroscience*, 16(2), 291–310. doi:10.1046/j.1460-9568.2001.02090.x
- Pin J.P., Galvez T., Prezeau L. (2003). Evolution, structure, and activation mechanism of family 3/C Gprotein-coupled receptors. *Pharmacol.Ther.* 98(3):325–54.
- Pin J.P., Joly C., Heinemann S.F., Bockaert J. (1994). Domains involved in the specificity of G protein activation in phospholipase C-coupled metabotropic glutamate receptors. *EMBOJ.* 13(2):342–48.
- Pin J-P., Waeber C., Prezeau L., Bockaert J. y Heinemann, S. F. (1992). *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 89, 10331-10335.
- Pinheiro P.S. *et al.* (2007). GluR7 is an essential subunit of presynaptic kainate autoreceptors at hippocampal mossy fiber synapses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 12181–12186
- Pinheiro P.S., Mulle C. (2008). Presynaptic glutamate receptors: physiological functions and mechanisms of action. *Nat.Rev.Neurosci.* 9(6):423–36.

- Porter R.H., Jaeschke G., Spooren W., Ballard T.M., Buttelmann B., *et al.* (2005). Fenobam: a clinically validated non benzodiazepine anxiolytic is a potent, selective, and noncompetitive mGlu5 receptor antagonist with inverse agonist activity. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 315(2):711–21.
- Postle B. (2006). Working memory as an emergent property of the mind. *Neuroscience.* 139. 23-38. 10.1016/j.neuroscience.2005.06.005.
- Pow D.V. y Morris J.F. (1989). Dendrites of hypothalamic magnocellular neurons release neurohypophysial peptides by exocytosis. *Neuroscience* 32:435–439.
- Rachline J., Perin-Dureau F., Le Goff A., Neyton J., Paoletti P. (2005). The micromolar zinc-binding domain on the NMDA receptor subunit NR2B. *J Neurosci*, 25:308-317.
- Radcliffe K. A., Fisher J. L., Gray R. y Dani J. A. (1999). Nicotinic Modulation of Glutamate and GABA Synaptic Transmission in Hippocampal Neurons. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 868(1 MOLECULAR AND), 591–610. doi:10.1111/j.1749-6632.1999.tb11332.x
- Raditsch M., Ruppertsberg J.P., Kuner T., Gunther W., Schoepfer R., Seeburg P.H., Jahn W., Witzemann V. (1993) Subunit-specific block of cloned NMDA receptors by argiotoxin636. *FEBS Lett*, 324:63-66.
- Radley J., Sisti H., Hao J., Rocher A., McCall T., Hof P. , Morrison J. (2004). Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 125(1), 1–6. doi:10.1016/j.neuroscience.2004.01.006
- Reep R. L., Corwin J. V., Hashimoto A. y Watson R. T. (1984). Afferent connections of medial precentral cortex in the rat. *Neuroscience Letters*, 44(3), 247–252. doi:10.1016/0304-3940(84)90030-2
- Rison R.A., Stanton P.K. (1995). Long-term potentiation and N-methyl-Daspartate receptors: foundations of memory and neurologic disease? *Neurosci Biobehav Rev* 19:533–552.

- Roberson E.D., Sweatt J.D. (1996). Transient activation of cyclic AMP-dependent protein kinase during hippocampal long-term potentiation. *J Biol Chem* 271:30436–30441.
- Roche K.W., O'Brien R.J., Mammen A.L., Bernhardt J., Huganir R.L. (1996). Characterization of multiple phosphorylation sites on the AMPA receptor GluR1 subunit. *Neuron* 16: 1179–88
- Rodriguez-Moreno A. y Lerma J. (1998). Kainate receptor modulation of GABA release involves a metabotropic function. *Neuron* 20, 1211–1218.
- Rogers C.A., Maron C., Schulteis C., Allen W-R., Heinemann S-F. (2001). Afadin, a link between AMPA receptors and the actin cytoskeleton. Presented at 27th Soc. Neurosci. Mtg., San Diego
- Romano C., Sesma M.A., Mc Donald C.T., O'Malley K., Vanden Pol A.N., Olney J.W. (1995). Distribution of metabotropic glutamate receptor mGluR5 immunoreactivity in rat brain. *J. Comp. Neurol.* 355(3):455–69.
- Rondard P., *et al.* (2006). Coupling of agonist binding to effector domain activation in metabotropic glutamate-like receptors. *J. Biol. Chem.* 281(34):24653–61.
- Rose M., Dutting E., Enz R. (2008). Band 4.1 proteins are expressed in the retina and interact with both isoforms of the metabotropic glutamate receptor type 8. *J. Neurochem.* 105:2375–87.
- Royall D., Lauterbach E., Cummings J., Reeve A., Rummans T., Kaufer D., LaFrance Jr. W. C., Coffey C. (2002). Executive control function: A review of its promise and challenges for clinical research. A report from the Committee on Research of the American Neuropsychiatric Association. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences.* 14. 377-405. 10.1176/jnp.14.4.377.
- Ruano D., Lambolez B., Rossier J., Paternain A.V., Lerma J. (1995). Kainate receptor subunits expressed in single cultured hippocampal neurons: molecular and functional variants by RNA editing. *Neuron* 14, 1009–1017.
- Rumbaugh G., Prybylowski K., Wang J.F., Vicini S. (2000). Exon 5 and spermine regulate deactivation of NMDA receptor subtypes. *J Neurophysiol*, 83:1300-1306.



- Russell V. A. (2001). *Metabolic Brain Disease*, 16(3/4), 143–149.  
doi:10.1023/a:1012584826144
- Russell V.A. (in press). Hypo dopaminergic and hyper noradrenergic activity in prefrontal cortex slices of an animal model for attention-deficit hyperactivity disorder – the spontaneously hypertensive rat. *Behav. Brain. Res.*
- Russell V.A., Allie S. y Wiggins T. (2000). Increased noradrenergic activity in prefrontal cortex slices of an animal model for attention-deficit hyperactivity disorder – the spontaneously hypertensive rat. *Behav. Brain. Res.* 117:69–74.
- Russell, V.A. and Wiggins, T. (2000). Increased glutamate-stimulated norepinephrine release from prefrontal cortex slices of spontaneously hypertensive rats. *Metab. Brain Dis.* 15:297–304.
- Russell, V.A., Allie, S., and Wiggins, T. (2000). Increased noradrenergic activity in prefrontal cortex slices of an animal model for attention-deficit hyperactivity disorder – the spontaneously hypertensive rat. *Behav. Brain. Res.* 117:69–74.
- Rusted J., Graupner L., O’Connell N., Nicholls C. (1994). Does nicotine improve cognitive function? *Psychopharmacology* 115:547–549.
- Rusted J.M., Warburton D.M. (1992). Facilitation of memory by post-trial administration of nicotine: evidence for an attentional explanation. *Psychopharmacology* 108:452–455.
- Sachidhanandam S. *et al.* (2009). Kainate receptors act as conditional amplifiers of spike transmission at hippocampal mossy fiber synapses. *J. Neurosci.* 29, 5000–5008
- Sahara Y., Noro N., Iida Y., Soma K., Nakamura Y., (1997). Glutamate receptor subunits GluR5 and KA-2 are co-expressed in rat trigeminal ganglion neurons. *J. Neurosci.* 17, 6611–6620.
- Sarter M., Givens B. y Bruno J. P. (2001). The cognitive neuroscience of sustained attention: Where top–down meets bottom–up. *Brain Research and Brain Research Review*, 35, 146–160.

- Saugstad J.A., Ingram S.L. (2008). Group I metabotropic glutamate receptors (mGluR1 and mGluR5). See Ref. 15, pp. 387–464 24.
- Savidge J.R., Bleakman, D., Bristow, D.R. (1997). Identification of kainate receptor-mediated intracellular calcium increases in cultured rat cerebellar granule cells. *J. Neurochem.* 69, 1763–1766.
- Sayer R.J., Schwindt P.C., Crill W.E. (1992). Metabotropic glutamate receptor-mediated suppression of L-type calcium current in acutely isolated neocortical neurons. *J. Neurophysiol.* 68:833–42
- Schaffhauser H., Rowe B.A., Morales A., Chavez-Noriega L.E., Yin R., *et al.* (2003). Pharmacological characterization and identification of amino acids involved in the positive modulation of metabotropic glutamate receptor subtype 2. *Mol. Pharmacol.* 64(4):798–810.
- Schiffer H.H., Swanson G.T., Heinemann S.F., (1997). Rat GluR7 and carboxy-terminus splice variant, GluR7b, are functional kainate receptor subunits with low sensitivity to glutamate. *Neuron* 19, 1141–1146.
- Schiller D. y Delgado M. (2010). Overlapping neural systems mediating extinction, reversal and regulation of fear. *Trends in cognitive sciences.* 14. 268-76. 10.1016/j.tics.2010.04.002.
- Schmitz D. *et al.* (2001). Presynaptic kainate receptor mediation of frequency facilitation at hippocampal mossy fiber synapses. *Science* 291, 1972–1976
- Schmitz D. *et al.* (2003). Presynaptic kainate receptors impart an associative property to hippocampal mossy fiber synapses.
- Schoepp D. D., Jane D. E., and Monn J. A. (1999). Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology* 38, 1431–1476.
- Schoepp D.D., Johnson B.G., Salhoff C.R., Wright R.A., Goldsworthy J.S., *et al.* (1995). Second-messenger responses in brain slices to elucidate novel glutamate receptors. *J. Neurosci. Methods* 59:105–10.
- Schorge S., Colquhoun D. (2003). Studies of NMDA receptor function and stoichiometry with truncated and tandem subunits. *J Neurosci*, 23:1151-1158.

- Scott R., Lalic T., Kullmann D., Capogna M., Rusakov D. (2009). Target-Cell Specificity of Kainate Autoreceptor and Ca<sup>2+</sup>-Store-Dependent Short-Term Plasticity at Hippocampal Mossy Fiber Synapses. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 28. 13139-49. 10.1523/JNEUROSCI.2932-08.2008.
- Segal M. (1992). Acetylcholine enhances NMDA-evoked calcium rise in hippocampal neurons. *Brain Research*, 587(1), 83–87. doi:10.1016/0006-8993(92)91430-m
- Sekiguchi M., Fleck M.W., Mayer M.L., Takeo J., Chiba Y., Yamashita S., Wad K., (1997). A novel allosteric potentiator of AMPA receptors: 4-[2-(Phenylsulfonylamino)ethylthio]-2,6-difluoro-phenoxyacetamide. *J. Neurosci.* 17, 5760–5771.
- Shapiro M.S., Loose M.D., Hamilton S.E., Nathanson N.M., Gomeza J., Wess J., *et al.* (1999) Assignment of muscarinic receptor subtypes mediating G-protein modulation of Ca<sup>2+</sup> channels by using knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA*; 96: 10899-10904.
- Sheardown M.J., Nielsen E.O., Hansen A.J., Jacobsen P., Honore ´ T. (1990). 2,3-Dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(F)quinoxaline: a neuro-protectant for cerebral ischemia. *Science* 247, 571–574.
- Sheng M., Sala C. (2001). PDZ domains and the organization of supramolecular complexes. *Annu. Rev. Neurosci.* 24:1–29
- Siegel A. y Sapru H.N. (2011). *Essential neuroscience*. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
- Small B., Thomas J., Kemp M., Hoo K., Ballyk B., Deverill M., Odgen A., Rubio A., Pedregal C., Bleakman D. (1998). LY339434, a GluR5 kainate receptor agonist. *Neuropharmacology* 37, 1261–1267.
- Smolders I., Bortolotto Z.A., Clarke V.R., Warre R., Khan G.M., O’Neill M.J., Ornstein P.L., Bleakman D., Ogden A., Weiss B., Stables J.P., Ho K.H., Ebinger G., Collingridge G.L., Lodge D., Michotte Y. (2002). Antagonists of GLUK5-containing kainate receptors prevent pilocarpine-induced limbic seizures. *Nature Neuroscience* 5, 796–804

- Sommer B., Burnashev N., Verdoorn T.A., Keinänen K., Sakmann B., Seeburg P.H. (1992). A glutamate receptor channel with high affinity for domoate and kainate. *EMBO J.* 11, 1651– 1656.
- Sommer B., Keinänen K., Verdoorn T.A., Wisden W., Burnashev N., Herb A., Kohler M., Takagi T., Sakmann B., Seeburg P.H. (1990). Flipandflop: a cell-specific functional switch ion glutamate-operated channels of the CNS. *Science* 249:1580–1585.
- Stachowicz K., Bränski P., Klak K., van der Putten H., Cryan J.F., *et al.* (2008). Selective activation of metabotropic G-protein-coupled glutamate<sub>7</sub> receptor elicits anxiolytic-like effects in mice by modulating GABAergic neurotransmission. *Behav. Pharmacol.* 19(5–6):597–603.
- Stefani A., Pisani A., Mercuri N.B., Bernardi G., Calabresi P. (1994). Activation of metabotropic glutamate receptors inhibits calcium currents and GABA-mediated synaptic potentials in striatal neurons. *J. Neurosci.* 14:6734–43.
- Stengel P.W., Gomez J., Wess J., Cohen M.L. (2000). M2 and M4 receptor knockout mice: muscarinic receptor function in cardiac and smooth muscle in vitro. *J Pharmacol Exp Ther*; 292: 877-885.
- Stern-Bach Y., Bettler B., Hartley M., Sheppard P.O., O'Hara P.J., Heinemann S.F., (1994). Agonist selectivity of glutamate receptors is specified by two domains structurally related to bacterial amino acid binding proteins. *Neuron* 13, 1345–1357.
- Stuss D. T., Alexander M. P., Floden D., Binns M. A., Levine B., McIntosh A. R., Hevenor S. J. (2002). Fractionation and localization of distinct frontal lobe processes: evidence from focal lesions in humans. En D. T. Stuss y R. T. Knight (Eds.), *Principles of frontal lobe function*. Nueva York: Oxford University Press.
- Stuss D. y Alexander M. (2000). Executive functions and the frontal lobes: A conceptual view. *Psychological Research*, 63, 289-298.

- Sugihara H., Moriyoshi K., Ishii T., Masu M. y Nakanishi S. (1992). Structures and properties of seven isoforms of the NMDA receptor generated by alternative splicing. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 185: 826832.
- Sun Y., Olson R., Horning M., Armstrong N., Mayer M., Gouaux E. (2002) Mechanism of glutamate receptor desensitization. *Nature*, 417:245-253.
- Suzuki G., Kimura T., Satow A., Kaneko N., Fukuda J. (2007). Pharmacological characterization of a new, orally active and potent allosteric metabotropic glutamate receptor 1 antagonist, 4-[1-(2-fluoropyridin-3-yl)-5-methyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl]-N-isopropyl-N-methyl-3,6-dihydropyridine-1(2H)-carboxamide (FTIDC). *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 321(3):1144–53.
- Swanson G.T., Green T., Sakai R., Contractor A., Che W., Kamiya H., Heinemann S.F. (2002). Differential activation of individual subunits in heteromeric kainate receptors. *Neuron* 34, 589–598.
- Szabados T., Gigler G., Gacsalyi I., Gyertyan I., Levay G. (2001). Comparison of anticonvulsive and acute neuroprotective activity of three 2, 3-benzodiazepine compounds, GYKI 52466, GYKI 53405, and GYKI 53655. *Brain Res. Bull.*, 55, 387-391. 33.
- Thomas N.K., Wright R.A., Howson P.A., Kingston A.E., Schoepp D.D., Jane D.E. (2001). (S)-3,4-DCPG, a potent and selective mGlu8a receptor agonist, activates metabotropic glutamate receptors on primary afferent terminals in the neonatal rat spinal cord. *Neuropharmacology* 40(3):311–18.
- Thomsen C., Boel E., Suzdak P.D. (1994). Actions of phenylglycine analogs at subtypes of the metabotropic glutamate receptor family. *Eur J Pharmacol* 267:77–84.
- Traynelis S.F. (1998). pH modulation of ligand gated ion channels, in *pH and Brain Function* (Kaila K and Ransom BR eds) pp 407–437, Wiley-Liss, Inc., New York.
- Traynelis S.F., Hartley M. y Heinemann S.F. (1995). Control of proton sensitivity of the NMDA receptor by RNA splicing and polyamines. *Science (Wash DC)* 268:873– 876.

- Treisman A. y Gormican S.(1988). Feature analysis in early vision: evidence from search asymmetries, *Psychol. Re.*, 95 15–48.
- Treisman A.M. y Gelade G. (1980). A feature-integration theory os attention. *Cognitive Psychology*, 12, 97-136.
- Tsuchiya D, *et al.* (2002). Structural views of the ligand-binding cores of a metabotropic glutamate receptor complexed with an antagonist and both glutamate and Gd<sup>3+</sup>. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99(5):2660–65.
- Tsuji Y., Shimada Y., Takeshita T., Kajimura N., Nomura S., Sekiyama N., Otomo J., Usukura J., Nakanishi S., Jingami H. (2000). Cryptic dimmer interface and domain organization of the extracellular region of metabotropic glutamate receptor subtype 1. *J Biol Chem* 275:28144–28151.
- Turchi J., Bruno,J.P. y Sarter, M. (1995). Cortical acetylcholine and processing capacity: effects of cortical cholinergic de afferentation on crossmodal divided attention in rats, *Soc. Neurosci. Abstr*, 21. 763.9.
- Ulbrich M.H., Isacoff E.Y. (2008). Rules of engagement for NMDA receptor subunits. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 14163-14168.
- Uylings H., Groenewegen H., Kolb B. (2003). Do rats have a prefrontal cortex?, *Behavioural Brain Research*, Volume 146, Issues 1–2, Pages 3-17, ISSN 0166-4328.
- Valenti O., Conn P.J., Marino M.J. (2002). Distinct physiological roles of the G-coupled metabotropic glutamate receptors co-expressed in the same neuronal populations. *J.Cell.Physiol.* 191(2):125–37.
- Valentino R. y Dingledine R. (1981). Presynaptic inhibitory effect of acetylcholine in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 1(7), 784–792. doi:10.1523/jneurosci.01-07-00784.1981
- Valera S., Ballivet M., Bertrand D. (1992). Progesterone modulates a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:9949–9953.
- Van Eden C. G. y Uylings H. B. (1985), Cytoarchitectonic development of the prefrontal cortex in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 241: 253-267. doi:10.1002/cne.902410302

- Vander A.J., Sherman J.H., Luciano D.S. (2001). Human physiology: the mechanism of body function. McGraw-Hill, New York, pp 129, 184
- Vetter D.E., Liberman M.C., Mann J., Barhanin J., Boulter J., Brown M.C., Saffioti-Kolman J., Heinemann S.F., Elgoyhen A.B. (1999). Role of alpha9 nicotinic ACh receptor subunits in the development and function of cochlear efferent innervation. *Neuron* 23:93–103.
- Vicini S., Wang J.F., Li J.H., Zhu W.J., Wang Y.H., Luo J.H., Wolfe B.B. and Grayson D.R. (1998). Functional and pharmacological differences between recombinant Nmethyl-D-aspartate receptors. *J Neurophysiol* 79:555–566.
- Vyklicky L. Jr., Patneau D.K., Mayer M.L. (1991). Modulation of excitatory synaptic transmission by drugs that reduce desensitization at AMPA/kainate receptors. *Neuron* 7, 971–984
- Vyklicky, V., Kořínek, M., Smejkalová, T., Balík, A., Krausová, B., Kaniaková, M., Lichnerova, K., Cerny, J., Krůšek, J., Dittert, I., Horák, M., & Vyklický, L. (2014). Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels. *Physiological research*, 63 Suppl 1, S191-203 .
- Wager T., Davidson M., Hughes B., Lindquist M., Ochsner K. (2008). Prefrontal-Subcortical Pathways Mediating Successful Emotion Regulation. *Neuron*. 59. 1037-50. 10.1016/j.neuron.2008.09.006.
- Watkins J.C., Evans R.H. (1981). excitatory amino acid transmitters. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 21: 165-204.
- Webster R. (2002). Acetylcholine (ACh). In *Neurotransmitters, Drugs and Brain Function*, R. A. Webster (Ed.). doi:10.1002/0470846577.ch6
- Wenthold R.J., Petralia R.S., Blahos J. II, Niedzielski A.S. (1996). Evidence for multiple AMPA receptor complexes in hippocampal CA1/CA2 neurons. *J. Neurosci.* 16, 1982–1989.
- Werner P., Voight M., Keinänen K., Wisden W. y Seeburn P.H. (1991). Cloning of a putative high-affinity kainate receptor expressed predominantly in hippocampal CA3 Cells. *Nature* 351, 742-744.
- Wess J. (1996). Molecular biology of muscarinic acetylcholine receptors. *Crit Rev Neurobiol*; 10: 69-90.

- Widman M., Tucker S., Brase D.A., Dewey W.L.(1985).Cholinergic agents: antinociception without morphine type dependence in rats. *Life Sci*; 36: 2007-2015.
- Wilding T.J., Huettner J.E. (1996). Antagonist pharmacology of kainate and alpha amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid preferring receptors. *Mol. Pharmacol.* 49, 540–546.
- Wilkinson D.G., Francis P.T., Schwam E. *et al.* (2004) *Drugs Aging* 21: 453. <https://doi.org/10.2165/00002512-200421070-00004>
- Williams K. (1993). Ifenprodil discriminates subtypes of the N-methyl-D-aspartate receptor: selectivity and mechanisms at recombinant heteromeric receptors. *Mol Pharmacol* 44: 851-859.
- Williams K., Dawson V.L., Romano C., Dichter M.A., Molinoff P. (1990). Characterization of polyamines having agonist, antagonist, and inverse agonist effects at the polyamine recognition site of the NMDA receptor. *Neuron* 5: 199-208.
- Winder P.J., Conn P.J. (1996). A novel form of glial-neuronal communication mediated by coactivation of metabotropic glutamate receptors and  $\beta$ -adrenergic receptors in rat hippocampus. *J. Physiol.* 494:743–55.
- Winks J.S., Hughes S., Filippov A.K., Tatulian L., Abogadie F.C, Brown D.A. (2005). Relationship between membrane phosphatidylinositol -4,5-biphosphate and receptor-mediated inhibition of native neuronal M channels. *J Neurosci* 2005; 25; 3400-3413.
- Wisden W., Seeberg P.H. (1993). A complex mosaic of high affinity kainate receptors in rat brain. *J. Neurosci.* 13, 3582–3598.
- Wisden W., Seeberg P.H. (1993). A complex mosaic of high affinity kainate receptors in rat brain. *J. Neurosci.* 13, 3582–3598.
- Wise S., Murray E., Gerfen C. (1996). Wise SP, Murray EA, Gerfen CRThe frontal cortex-basal ganglia system in primates. *Crit Rev Neurobiol* 10:317-356. Critical reviews in neurobiology. 10. 317-56. 10.1615/CritRevNeurobiol.v10.i3-4.30.



- Wong A.Y., Fay A.M., Bowie D. (2006). External ions are coactivators of kainate receptors. *Journal of Neuroscience* 26, 5750–5755.
- Wong A.Y.C., MacLean D.M., Bowie D., (2007). Nap/Cl dipole couples agonist binding to kainate receptor activation. *Journal of Neuroscience* 27, 6800–6809.
- Wong L.A., Mayer M.L., Jane D.E., Watkins J.C., (1994). Willardiines differentiate agonist binding sites for kainate-versus AMPA preferring glutamate receptors in DRG and hippocampal neurons. *J. Neurosci.* 14, 3881–3897.
- Wu D. y Hersh L. B. (1994). Choline Acetyltransferase: Celebrating Its Fiftieth Year. *Journal of Neurochemistry*, 62: 1653-1663. doi:10.1046/j.1471-4159.1994.62051653.x
- Wu F.S., Gibbs T.T., Farb D.H. (1991). Pregnenolone sulfate a positive allosteric modulator at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Mol Pharmacol* 40: 333-336.
- Wyllie D.J., Behe P., Nassar M., Schoepfer R., Colquhoun D. (1996). Singlechannel currents from recombinant NMDA NR1a/NR2D receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Proc R Soc Lond B*, 263:1079-1086.
- Xu W., Orr-Urtreger A., Nigro F., Gelber S., Sutcliffe C.B., Armstrong D., Patrick J.W., Role L.W., Beaudet A.L., De Biasi M. (1999). Multiorgan autonomic dysfunction in mice lacking the beta2 and the beta4 subunits of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurosci* 19:9298–9305.
- Yamada H., Ogura A., Koizumi S., Yamaguchi A. y Moriyama Y. (1998). Acetylcholine Triggers I-Glutamate Exocytosis via Nicotinic Receptors and Inhibits Melatonin Synthesis in Rat Pinealocytes. *The Journal of Neuroscience*, 18(13), 4946–4952. doi:10.1523/jneurosci.18-13-04946.1998.
- Yamada M., Miyakawa T., Duttaroy A., Yamanaka A., Moriguchi T., Makita R., *et al.* (2001). Mice lacking the M3 muscarinic acetylcholine receptor are hypophagic and lean. *Nature* ; 410: 207-212.
- Yang Y., Paspalas C., Jin L., Picciotto M., Arnsten A., Wang M.(2013). Nicotinic  $\alpha 7$  receptors enhance NMDA cognitive circuits in dorsolateral prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci USA.*; 110:12078– 12083. [PubMed: 23818597]

- Yan-You H., Kandel E.R. (1998). Postsynaptic induction and PKA dependent expression of LTP in the lateral amygdala. *Neuron* 21:169–178.
- Yokoi M., Kobayashi K., Manabe T., Takahashi T., Sakaguchi I., Katsuura G., Shigemoto R., Ohishi H., Nomura S., Nakamura K., Nakao K., Katsuki M., y Nakanishi S. (1996) Impairment of hippocampal mossy fiber LTD in mice lacking mGluR2. *Science* 273, 645–647.
- Yu A. J., y Dayan P. (2002). Acetylcholine in cortical inference. *Neural Network*, 15, 719–730.
- Zappettini S., Grilli M., Olivero G., Chen J., Padolecchia C., Pittaluga A., Tomé A., Cunha R., Marchi M. (2014) .Nicotinic  $\alpha 7$  receptor activation selectively potentiates the function of NMDA receptors in glutamatergic terminals of the nucleus accumbens. *Front Cell Neurosci*; 8:332. [PubMed: 25360085]
- Zhang Z.W. (2004.) Maturation of layer V pyramidal neurons in the rat prefrontal cortex: intrinsic properties and synaptic function. *J Neurophysiol* 91:1171–1182.
- Zhou N., Hammerland L.G., Parks T.N. (1993). g-D-glutamylaminomethyl sulfonic acid (GAMS) distinguishes kainic acid- from AMPA-induced responses in *Xenopus* oocytes expressing chick brain receptors. *Neuropharmacology* 32, 767–775.
- Zhu J.J., Esteban J.A., Hayashi Y., Malinow R. (2000). Synaptic potentiation during early development: delivery of GluR4-containing AMPA receptors by spontaneous activity. *Nat. Neurosci.* 3:1098–1106
- Zoli M., Picciotto M.R., Ferrari R., Cocchi D., Changeux J.P. (1999). Increased neurodegeneration during ageing in mice lacking high-affinity nicotine receptors. *Embo J* 18:1235–1244.
- Zorumski C.F., Thio L.L. (1992). Properties of vertebrate glutamate receptor: Calcium mobilization and desensitization. *Prog. Neurobiol.* 39, 295–336.
- Zorumski C.F., Thio L.L., Clifford D.B. (1991). Effects of bromowillardiine and willardiine on non-N-methyl-D-aspartate receptors in postnatal rat hippocampal neurons. *Mol. Pharmacol.* 40, 45– 51.

Zukin R.S., Bennett M.V. (1995). Alternatively spliced isoforms of the NMDAR1 receptor subunit. Trends Neurosci 18: 306-313.

## **18.ANEXOS**