

Rev Biomed 2005; 16:99-111.

La cafeína y los antagonistas de los receptores A_{2A} de la adenosina como posibles adyuvantes de la terapia anticolinérgica en la enfermedad de Parkinson.

Contribución de la UADY a la Medicina

José L. Góngora-Alfaro, Rosa E. Moo-Puc, Jairo Villanueva Toledo, Gloria Arankowsky-Sandoval, Fernando J. Álvarez-Cervera, Juan C. Pineda-Cortés, Francisco J. Heredia-López, José L. Bata-García.

Departamento de Neurociencias, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México.

RESUMEN.

La enfermedad de Parkinson ocupa el segundo lugar entre las enfermedades degenerativas del sistema nervioso, que afligen con mayor frecuencia a las personas de edad avanzada. En México, la Secretaría de Salud ha incorporado a la enfermedad de Parkinson dentro del programa 2001-2006 de Acción en Salud Mental ya que representa una causa importante de incapacidad personal, laboral y social en la población mexicana. Una acción fundamental que se propone en este programa es mejorar la eficacia y calidad en la atención del enfermo, otorgándole el diagnóstico correspondiente y asegurando la posibilidad de medicamentos. Los modelos preclínicos, experimentales, son necesarios para identificar tratamientos farmacológicos eficaces, con baja incidencia de efectos adversos, capaces de restaurar la actividad motora de los pacientes, permitiendo su reintegración a las actividades cotidianas. Utilizando los modelos de catalepsia inducida con haloperidol y de acinesia inducida con reserpina, hemos encontrado que los efectos antiparkinsonianos del fármaco

anticolinérgico trihexifenidilo se incrementan cuando se administra en combinación con dosis bajas de cafeína o de antagonistas selectivos de los receptores A_{2A} de adenosina. Aunque la cafeína es un antagonista no selectivo de los receptores A₁ y A_{2A}, su bajo costo y su relativa carencia de efectos adversos la convierten en un fármaco prometedor para ser usado como adyuvante de la terapia anticolinérgica, permitiendo reducir sus dosis y sus efectos adversos en pacientes con enfermedad de Parkinson.

(Rev Biomed 2005; 16:99-111)

Palabras clave: enfermedad de Parkinson, cafeína, trihexifenidilo, antagonistas de adenosina, catalepsia, reserpina, haloperidol.

SUMMARY.

Caffeine and selective adenosine A_{2A} antagonists as potential adjuvants of anticholinergic therapy in Parkinson's disease.

Parkinson's disease is the second most frequent neurodegenerative disorder among people over 60

Solicitud de sobretiros: José L. Góngora-Alfaro, Departamento de Neurociencias, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Unidad Biomédica, Universidad Autónoma de Yucatán, Av. Itzaes No. 490 x calle 59, C.P. 97000, Mérida, Yucatán, México.

Fax: +52 (999) 923-6120, E-mail: galfaro@tunku.uady.mx

Recibido el 26/Enero/2005. Aceptado para publicación el 29/Abril/2005.

Este artículo está disponible en <http://www.uady.mx/sitios/biomedic/revbiomed/pdf/rb051625.pdf>

JL Góngora-Alfaro, RE Moo-Puc, J Villanueva-Toledo, G Arankowsky-Sandoval y col.

years old. In Mexico, the Department of Health has included Parkinson's disease in the 2001-2006 Mental Health Action program, since it is a leading cause of disability among the Mexican population, and has important occupational and social consequences. An important action proposed in this program is to enhance the quality and efficacy of medical care for afflicted people, through an appropriate diagnosis and insuring access to medication. Preclinical experimental models of Parkinson's disease are necessary to identify effective drug treatments, with a low incidence of adverse effects and capable of restoring motor activity of patients, thus allowing them to return to their normal activities. Using preclinical models of haloperidol-induced catalepsy and reserpine-induced akinesia, we have found that low doses of caffeine or selective A_{2A} adenosine antagonists enhance the antiparkinsonian effects of the anticholinergic drug trihexiphenidyl. Although caffeine is a non-selective A₁ and A_{2A} adenosine antagonist, its low cost and its relative lack of side effects indicate that it is a promising drug as an adjuvant of anticholinergic therapy, permitting the reduction of the doses and undesired effects of anticholinergics in parkinsonian patients.

(Rev Biomed 2005; 16:99-111)

Key words: Parkinson's disease, caffeine, trihexiphenidyl, adenosine antagonists, reserpine, catalepsy, haloperidol.

ANTECEDENTES.

La enfermedad de Parkinson.

La enfermedad de Parkinson (EP), descrita por primera vez por James Parkinson en 1817 con el nombre de *parálisis agitans*, es una patología que ocupa el segundo lugar entre las enfermedades degenerativas del sistema nervioso que afligen a personas de edad avanzada, con una prevalencia que oscila del 1.8 al 2.6% en las personas mayores de 60 años (1,2). Las incidencias anuales oscilan entre 110 y 330 casos por cada cien mil individuos mayores de 50 años (2) y a partir de los 80 años, la tasa de incidencia se incrementa de 400 a 500 casos por cada cien mil habitantes anualmente (3).

La característica anatomopatológica de la EP es la pérdida de las neuronas dopaminérgicas pigmentadas de la *pars compacta* de la sustancia negra (SNc), que brindan inervación dopaminérgica al cuerpo estriado (núcleo caudoputamen). Las dos estructuras mencionadas forman parte de los ganglios basales del cerebro (4). Esta pérdida neuronal debe ser como mínimo de un 80% para que aparezcan los síntomas típicos de la enfermedad (1,5). La acinesia (dificultad para iniciar un movimiento), la hipocinesia (reducción de la amplitud del movimiento) y la bradicinesia (lentitud del movimiento) constituyen los síntomas cardinales más incapacitantes de la enfermedad de Parkinson (1,6,7). Los pacientes con esta enfermedad, sobre todo en etapas avanzadas, también presentan trastornos de la fijación postural, el equilibrio y el enderezamiento (1,7). La enfermedad también puede ir asociada con depresión, cambios de la personalidad, demencia, trastornos del sueño, alteraciones del habla y disfunción sexual (2). En promedio, transcurren 9 años entre el inicio de la enfermedad y el deceso del paciente (2) y este proceso tiene un costo social muy elevado, ya que la discapacidad de los pacientes altera la dinámica familiar y los tratamientos paliativos son muy caros. En los Estados Unidos, donde la padecen más de medio millón de personas (2), se ha calculado que el costo anual de los tratamientos es de \$ 24.5 mil millones de dólares (8).

La enfermedad de Parkinson en México.

En una búsqueda de la base de datos Artemisa en el período de 1992 a 2002 no encontramos datos epidemiológicos publicados sobre la incidencia y prevalencia de la enfermedad de Parkinson en México. Sin embargo, sobre la base de los datos obtenidos en un centro de concentración de tercer nivel de atención (Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía MVS), se ha estimado que existen al menos 500,000 pacientes con enfermedad de Parkinson en el país, situando su prevalencia en un rango 50 a 100 casos por 100,000 habitantes (9). Evidentemente existe un subregistro, ya que los pacientes de las áreas rurales tienen poco acceso directo a los centros de atención hospitalaria, por lo que

Adyuvantes terapéuticos en la enfermedad de Parkinson.

se ha propuesto trabajar en conjunto con todas las instituciones de salud, tanto públicas como privadas, para implementar un registro nacional de la enfermedad, su comorbilidad, así como establecer un panorama más real y definido de la misma (9).

Debido al aumento en las expectativas de vida de la población mexicana, se espera que en las próximas décadas aumente la proporción de habitantes mayores de 60 años y por consiguiente, las enfermedades asociadas a la senectud. Según datos obtenidos del INEGI (10) durante el período de 1995 al 2000, la población de personas mayores de 60 años en la República Mexicana creció entre un 16 y 17 %. En este contexto, se ha propuesto que la tasa de incidencia de las enfermedades neurodegenerativas aumentará de 120 a 230 % en las próximas décadas, siendo la enfermedad de Parkinson y las demencias el mayor componente de este incremento (11). Puesto que estas enfermedades producen una discapacidad que disminuye considerablemente la calidad de vida de los ancianos, se espera que en las próximas décadas se eleve el gasto social encaminado a dar atención médica a este sector de la población (9). Es por ello que la Secretaría de Salud de México ha creado un Programa Específico de Atención a la Enfermedad de Parkinson en el marco de los Programas de Acción en Salud Mental (9). Una acción fundamental que se propone en este programa es mejorar la eficacia y calidad en la atención del enfermo, otorgándole el diagnóstico correspondiente y asegurando la posibilidad de medicamentos (9).

Actualmente se está invirtiendo un gran esfuerzo en el área de la investigación básica y clínica para buscar formas de tratamiento más eficaces. Los tratamientos farmacológicos actualmente disponibles se han generado a partir de las investigaciones realizadas en modelos experimentales de la enfermedad de Parkinson realizados en animales de laboratorio. Estos modelos preclínicos son necesarios para identificar tratamientos farmacológicos eficaces, con baja incidencia de efectos adversos, capaces de restaurar la actividad motora de los pacientes, permitiendo su reintegración a las actividades cotidianas. Con base en lo anterior, en el

Departamento de Neurociencias de la Unidad Biomédica del Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi" de la UADY se ha iniciado un programa de investigación encaminado a la "Evaluación preclínica de terapias farmacológicas alternativas para la enfermedad de Parkinson", cuyo objetivo es identificar tratamientos farmacológicos novedosos que sean económicos, eficaces y con una baja incidencia de efectos adversos. En la presente revisión hacemos una síntesis de los hallazgos más recientes realizados por nuestro grupo de trabajo, que nos han llevado a proponer el uso de la cafeína y de los fármacos antagonistas de los receptores A_{2A} de la adenosina como adyuvantes de la terapia anticolinérgica en el tratamiento de esta enfermedad neurodegenerativa.

Hipótesis del balance dopamina-acetilcolina en el neoestriado.

Desde el descubrimiento de que la enfermedad de Parkinson se debía a la pérdida de las neuronas dopaminérgicas de la SNc se formuló la hipótesis de que en este núcleo debía existir un balance entre los sistemas dopaminérgico y colinérgico (12-17). Esta hipótesis se basó fundamentalmente en las observaciones clínicas de que tanto la levodopa (un precursor de la dopamina) como los antagonistas colinérgicos muscarínicos (sustancias que bloquean los receptores de acetilcolina) eran capaces de aliviar los síntomas de la enfermedad. Evidencias experimentales posteriores confirmaron que la dopamina inhibe de manera continua la liberación de acetilcolina en el neoestriado y que la pérdida de la innervación dopaminérgica trae como consecuencia un aumento de la transmisión colinérgica en este núcleo (18, 19).

Actualmente está claro que la liberación de acetilcolina se encuentra sujeta a un control inhibitorio continuo por la dopamina, mediante su acción sobre los receptores del tipo D_2 presentes en las interneuronas colinérgicas (19, 20). Por tal motivo, la pérdida de la innervación dopaminérgica da como resultado un aumento en la liberación de acetilcolina (18, 20) y, por tanto, un exceso de estimulación de los receptores muscarínicos del estriado, sugiriendo un papel importante de la acetilcolina en los síntomas

de la enfermedad de Parkinson (18).

Con base en lo anterior, se propuso que la eficacia de los anticolinérgicos en la enfermedad de Parkinson se debía a una atenuación de la hiperactividad colinérgica mediante el bloqueo de los receptores muscarínicos del estriado (12, 17-19). Por tanto, uno de los objetivos fundamentales del tratamiento farmacológico de la EP es restaurar el balance funcional de la actividad estriatal reduciendo el exceso de actividad colinérgica, mediante la administración de fármacos anticolinérgicos (17, 22-25) o restablecer la función dopaminérgica con fármacos dopaminérgicos de acción central (22-25).

Terapia anticolinérgica.

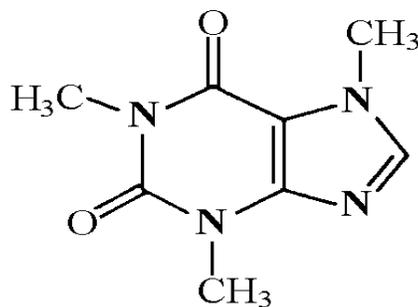
Los antagonistas muscarínicos son fármacos usados como adyuvantes para reducir algunas deficiencias motoras en los estadios iniciales de la enfermedad de Parkinson (25). El trihexifenidilo, la benzotropina y el biperideno son algunos de los que se usan en la actualidad (7, 17, 22, 23). Todos estos fármacos bloquean los receptores colinérgicos muscarínicos, por lo que probablemente actúan corrigiendo el exceso de neurotransmisión colinérgica estriatal originado por la deficiencia dopaminérgica (7, 16, 17). Por sí solos los anticolinérgicos son moderadamente efectivos para aliviar la bradicinesia y la rigidez, pero raras veces son eficaces para corregir la inestabilidad postural (17). Sin embargo, son bastante efectivos para suprimir el temblor en reposo cuando se usan en combinación con levodopa (17,25). Dada su moderada acción antiparkinsoniana, su uso ha quedado relegado para el tratamiento de los síntomas leves de los estadios iniciales de la EP o como coadyuvante de la levodopa o los agonistas dopaminérgicos (22). Las dosis suelen incrementarse gradualmente hasta llegar a la mejoría máxima o probablemente, hasta la aparición de efectos secundarios, que incluyen sequedad bucal, retención urinaria, visión borrosa y constipación (22). De manera notable, el bloqueo de los receptores muscarínicos del sistema nervioso central (SNC) produce confusión mental, amnesia y alteraciones cognoscitivas, las cuales son particularmente intensas en los pacientes

geriátricos (26-29), razón por la cual están contraindicados en pacientes mayores de 70 años (25). Estos efectos secundarios, originaron que los anticolinérgicos fuesen relegados a un papel secundario en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. A pesar de todo, los fármacos anticolinérgicos siguen siendo muy útiles para los pacientes con síntomas mínimos o que no toleran la levodopa por sus efectos adversos (25). Por otro lado, más de la mitad de los pacientes que obtienen beneficios terapéuticos con la levodopa experimentan mejoría adicional después del tratamiento complementario con un fármaco anticolinérgico (22).

Puesto que los anticolinérgicos seguirán jugando un papel en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, sería deseable diseñar un régimen terapéutico en el cual se usen dosis más bajas, capaces de producir un efecto benéfico, pero sin causar los efectos secundarios. Esto podría lograrse mediante la administración simultánea de otro fármaco que reduzca el incremento de la actividad colinérgica del estriado causada por la pérdida de las neuronas dopaminérgicas (17, 22), pero a través de mecanismos diferentes al bloqueo de los receptores colinérgicos. Un candidato prometedor es la cafeína (30).

La cafeína como tratamiento emergente de la enfermedad de Parkinson.

Existen evidencias experimentales que sugieren que la cafeína podría utilizarse como adyuvante en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson (30, 31). La cafeína es una metilxantina (figura 1), proveniente de plantas de amplia distribución geográfica.



1,3,7-trimetilxantina

Figura 1.- Estructura química de la cafeína.

Adyuvantes terapéuticos en la enfermedad de Parkinson.

Por lo menos la mitad de la población del mundo consume bebidas que contienen cafeína, tales como el café, el té, el cacao y las bebidas con sabor a cola que son muy populares (32, 33). La cafeína es una sustancia que atraviesa sin dificultad las barreras membranosas, por lo que después de su ingestión llega con facilidad al SNC (33), donde modifica procesos que estimulan la actividad intelectual, inhibe el sueño y reduce la fatiga (32, 34, 35). La cafeína es capaz de modificar diversos procesos celulares que podrían explicar sus efectos biológicos (cuadro 1). Sin embargo, a las concentraciones extracelulares que se alcanzan después de las dosis (1 a 5 mg/kg/24h) que suelen ingerirse durante su consumo recreativo (café y bebidas cafeinadas) (33), el efecto más consistente es el bloqueo de las acciones de la adenosina, un autacoide liberado por prácticamente todos los tipos celulares en condiciones de gran actividad metabólica (33, 34, 36, 37).

Cuadro 1
Efectos celulares acumulativos de la cafeína en relación a sus concentraciones.

Concentración de cafeína	Efecto celular
1-30 μM	Bloqueo de los receptores de adenosina A_1 , A_{2A} y A_{2B}
20-300 μM	Bloqueo de los receptores A_3 e inhibición de la fosfodiesterasa de AMPc
40-700 μM	Bloqueo de los receptores GABA_A
100-3000 μM	Liberación de calcio del retículo endoplásmico.

Modificado de la ref. 33

La adenosina es un modulador inhibidor endógeno cuyas concentraciones extracelulares en el SNC oscilan en el rango de 30 a 300 nM (33). Se han identificado 4 subtipos de receptores de adenosina: A_1 , A_{2A} , A_{2B} y A_3 (33, 38). Numerosas evidencias indican que la activación de los receptores A_1 y A_{2A} producen efectos inhibidores de la locomoción. En contraste, los antagonistas de estos receptores

estimulan la actividad locomotora (38). La cafeína es un antagonista competitivo, no selectivo, que se une a los receptores de adenosina con el siguiente orden de potencias $A_{2A} > A_1 \cong A_{2B} \gg A_3$ (33). Se ha propuesto que los efectos psicomotores de la cafeína a las dosis habituales de consumo humano se deben al bloqueo de los receptores A_1 y A_{2A} (33, 34, 36-38), los cuales son muy abundantes en el núcleo caudoputamen (33, 39), que participa de manera importante en el control de la actividad motora (10).

Efectos de la cafeína sobre la conducta motora.

Entre los efectos conductuales más sobresalientes de la cafeína están: la estimulación de la actividad locomotora en animales de laboratorio (38, 40-42), el incremento de la conducta locomotora inducida por agonistas de dopamina en ratas reserpinizadas, acinéticas (43, 44) e incremento de la conducta de giro inducida por agonistas dopaminérgicos en ratas hemiparkinsonianas (45, 46). Los efectos de la cafeína sobre la locomoción espontánea en roedores dependen de la dosis; el efecto estimulante tiene su umbral a dosis de 1-3 mg/kg, alcanzándose la respuesta máxima con dosis entre 10 y 30 mg/kg (38). Sin embargo, dosis mayores de 30 mg/kg tienen un efecto depresor de la locomoción (34, 38). Numerosos estudios están a favor de que, en los roedores, la cafeína debe sus efectos estimulantes de la locomoción al bloqueo de los receptores de adenosina A_{2A} , ya que este efecto de la cafeína puede ser mimetizado por fármacos antagonistas selectivos de los receptores A_{2A} , pero no por los antagonistas A_1 (31, 47, 48).

Efecto de los antagonistas A_{2A} de adenosina sobre la transmisión colinérgica estriatal.

Los receptores de adenosina podrían ser un blanco potencial para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson dado que se encuentran ampliamente expresados en el núcleo caudoputamen (31, 34). Hay evidencias de que el sistema colinérgico intrínseco de este núcleo puede ser modulado en direcciones opuestas por la adenosina dependiendo del tipo de receptor que es activado. Así, la estimulación de los

receptores de tipo A_1 disminuye la secreción de acetilcolina *in vitro* (49, 50), mientras que la activación de los receptores A_{2A} aumenta la liberación de acetilcolina, tanto *in vitro* (49) como *in vivo* (51). Estos hallazgos tienen implicaciones terapéuticas importantes puesto que la transmisión colinérgica estriatal se encuentra aumentada en la enfermedad de Parkinson (16).

¿Podría la cafeína ser usada como adyuvante de los anticolinérgicos en la enfermedad de Parkinson?

Tomando como base las evidencias de que los antagonistas de los receptores A_{2A} de la adenosina podrían reducir la liberación de acetilcolina en el estriado (49, 51), propusimos que la cafeína aumentaría la eficacia de los fármacos anticolinérgicos en modelos preclínicos de la enfermedad de Parkinson. Esta hipótesis fue puesta a prueba recientemente, encontrándose que una dosis baja de cafeína (1 mg/kg) incrementó la potencia del fármaco anticolinérgico trihexifenidilo (THF) para inhibir la catalepsia inducida con haloperidol (52) y para restaurar la locomoción y la actividad exploratoria en ratas reserpinizadas (53). El haloperidol induce un síndrome de rigidez e inmovilidad por bloqueo competitivo de los receptores dopaminérgicos D_2 del cerebro (54, 55); mientras que la reserpina es una toxina que actúa por inhibición del transporte y almacenamiento de la dopamina en las vesículas secretorias de las neuronas dopaminérgicas (56-58). En ambos modelos, el sinergismo de la cafeína fue más intenso cuando se administró con una dosis pequeña de THF (0.1 mg/kg) que por sí sola no revirtió los efectos inhibidores de la locomoción causados por el haloperidol o la reserpina. Este hallazgo es importante ya que sugiere que el uso concomitante de cafeína permitiría reducir las dosis de anticolinérgicos a un nivel que no produzca amnesia ni alteraciones cognitivas en los pacientes de edad avanzada, que son muy sensibles a estos efectos (26-29). De hecho, la administración simultánea de dosis pequeñas de cafeína y THF a los animales reserpinizados, promovió que éstos recuperasen de manera completa sus patrones normales de

locomoción y actividad exploratoria (53), los cuales exhibieron su característico decremento a lo largo del tiempo, conocido como habituación a corto plazo, que es una forma simple de aprendizaje espacial en la que están involucrados procesos de memoria a corto plazo (59). Estos hallazgos apoyan la idea de que la combinación de dosis bajas de cafeína y anticolinérgicos tiene el potencial de aliviar los trastornos motores en pacientes parkinsonianos, con un bajo riesgo de causar alteraciones de la memoria.

Hay fuertes evidencias de que la administración crónica de cafeína puede inducir tolerancia a sus efectos psicomotores (60-62). Esto sería una desventaja para su uso crónico como adyuvante de la terapia anticolinérgica en la enfermedad de Parkinson. Para evaluar esta posibilidad, se realizaron experimentos en animales que previamente recibieron tres dosis diarias de cafeína (1 mg/kg) durante una semana. Se observó que el tratamiento subcrónico con dosis bajas de cafeína no produjo tolerancia al sinergismo con el THF para inhibir la catalepsia por haloperidol (52). Estos resultados sugieren que la cafeína podría ser usada a largo plazo en los pacientes con enfermedad de Parkinson, sin pérdida de su eficacia para intensificar las acciones terapéuticas de los anticolinérgicos.

¿Cuáles son los posibles efectos adversos de la combinación de cafeína con anticolinérgicos?

Se ha reportado que la cafeína puede causar trastornos del sueño o inducir ansiedad en personas susceptibles (63, 64), lo cual sería una desventaja para su uso crónico como adyuvante de los anticolinérgicos en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. A este respecto, existen dos estudios en pacientes parkinsonianos tratados con L-DOPA o agonistas dopaminérgicos D_2 en quienes la administración de dosis grandes de cafeína (\approx 11-20 mg/kg/día) no produjo alivio adicional de los trastornos motores (65, 66). En lugar de ello, en los pacientes tratados con cafeína se observó una tendencia al incremento del temblor y la rigidez (66), una mayor duración de las discinesias inducidas con L-DOPA (65), y en la mayoría de los pacientes que recibieron la metilxantina

Adyuvantes terapéuticos en la enfermedad de Parkinson.

reportaron ansiedad, inquietud e insomnio (65, 66). Estos antecedentes destacan la importancia de realizar estudios preclínicos exhaustivos que permitan evaluar no sólo la eficacia, sino también los posibles efectos adversos de los tratamientos emergentes en los pacientes con enfermedad de Parkinson (67). En nuestros estudios preclínicos evaluamos el efecto de una dosis baja de cafeína (1 mg/kg), equivalente a la que contiene una taza de café (33). Para determinar si la combinación de dosis bajas de cafeína y THF tiene algún riesgo de inducir ansiedad, se analizó el índice tigmotáctico en la prueba de locomoción efectuada en ratas reserpinizadas (53). El índice tigmotáctico es el porcentaje de la distancia que recorren los roedores a 5 cm o menos de las paredes y se ha reportado que es una prueba muy sensible para detectar fármacos que inducen ansiedad (68). Los fármacos inductores de ansiedad incrementan significativamente el índice tigmotáctico, ya que los animales ansiosos prefieren caminar cerca de las paredes en busca de protección y seguridad. Cuando se administró una mezcla de cafeína (1 mg/kg) y THF (0.1 mg/kg) a ratas reserpinizadas, éstas recuperaron su patrón de locomoción y exploración a niveles normales, pero sin modificar el índice tigmotáctico, lo cual sugiere que esta combinación de fármacos tiene un bajo potencial de inducir ansiedad en pacientes con enfermedad de Parkinson (53).

¿Cuál es el mecanismo del sinergismo entre la cafeína y el trihexifenidilo?

De los resultados obtenidos en los dos modelos preclínicos de parkinsonismo, queda claro que el efecto del anticolinérgico THF aumenta cuando se administra conjuntamente con una dosis baja de cafeína. Estudios efectuados en ratas indican que la cafeína, a la dosis de 1 mg/kg, incrementa selectivamente el consumo de glucosa en el núcleo caudoputamen (69, 70), el cual contiene grandes cantidades de receptores adenosinérgicos de los tipos A_1 y A_{2A} (33, 39). Actualmente existe el consenso de que, a las dosis habituales de consumo humano, los efectos psicomotores de la cafeína se producen por antagonismo de las acciones de la adenosina endógena

sobre estos dos subtipos de receptores (33, 37, 38). Puesto que la cafeína tiene una potencia similar como antagonista de los receptores A_1 ($K_D = 20 \mu\text{M}$) y A_{2A} ($K_D = 8.1 \mu\text{M}$) (33), el sinergismo con los anticolinérgicos podría deberse al bloqueo de alguno de estos receptores, o de ambos. Para responder a esta incógnita, se evaluó la capacidad de fármacos antagonistas selectivos de los receptores A_1 o A_{2A} para actuar de manera sinérgica con el THF, en el modelo de catalepsia inducida con haloperidol. Los resultados fueron claros: únicamente el ZM 241385, un antagonista selectivo de los receptores A_{2A} , actuó de manera sinérgica con una dosis sub-umbral de THF para inhibir la catalepsia (71). Estos resultados indican que el sinergismo de la cafeína con el THF está mediado por el bloqueo de los receptores A_{2A} de adenosina.

En el núcleo caudoputamen (también conocido como estriado), la mayor parte de los receptores A_{2A} están localizados en una sub-población de neuronas GABAérgicas que usan como co-transmisor al péptido encefalina, expresan receptores dopaminérgicos del tipo D_2 y establecen contacto sináptico con neuronas del globo pálido externo (33, 34, 41, 72, 73). Por otro lado, existen evidencias de que las interneuronas colinérgicas estriatales también expresan receptores A_{2A} , aunque en menor número (29, 73, 74). Por consiguiente, la capacidad de la cafeína y de los antagonistas A_{2A} selectivos para incrementar el efecto antiparkinsoniano de los anticolinérgicos podría deberse al bloqueo de los receptores A_{2A} localizados en las neuronas GABA/encefalina, en las interneuronas colinérgicas, o en ambas (figura 2A). Tomando en consideración que la acción antiparkinsoniana de los anticolinérgicos se atribuye a su capacidad de contrarrestar el aumento de la transmisión colinérgica estriatal posterior a la pérdida de la innervación dopaminérgica (16), hemos planteado dos hipótesis para explicar el sinergismo entre los antagonistas A_{2A} de la adenosina y los anticolinérgicos: (a) los antagonistas A_{2A} reducen los efectos postsinápticos de la acetilcolina (ACh) en las neuronas estriadopalidales y (b) los antagonistas A_{2A} actúan directamente en las interneuronas colinérgicas

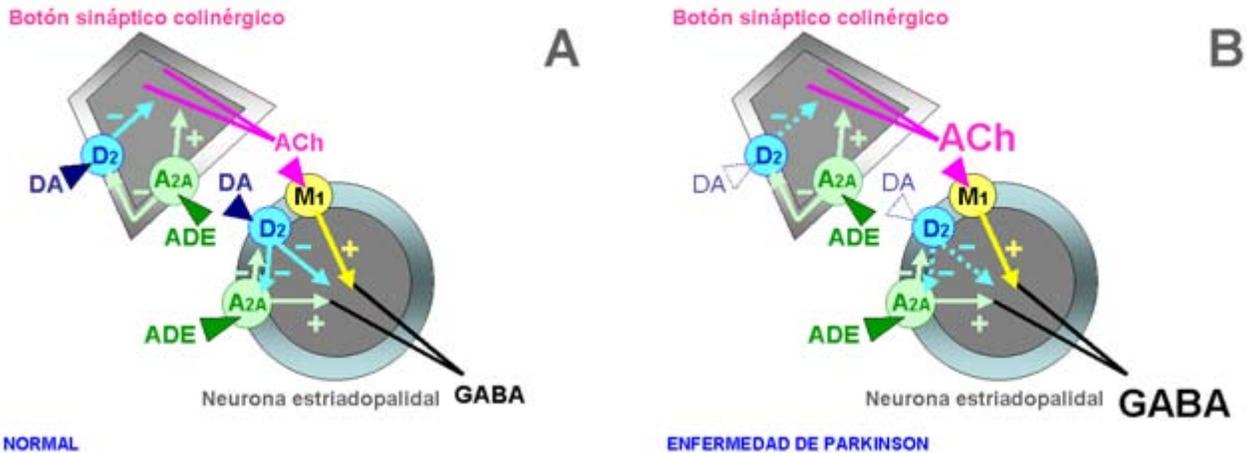


Figura 2A.- Efectos de la adenosina en los receptores A_{2A} del estriado. En el estriado con inervación dopaminérgica intacta, la activación de los receptores D₂ por la dopamina (DA, triángulo azul) inhibe la liberación de acetilcolina por las interneuronas colinérgicas y la liberación de ácido -aminobutírico (GABA) por las neuronas estriado-palidales, facilitando la actividad motora. La activación de los receptores A_{2A} por la adenosina (ADE, triángulo verde) se opone a estos efectos, reduciendo la afinidad de la dopamina por los receptores dopaminérgicos D₂, con lo cual favorece la liberación de acetilcolina (ACh, triángulo magenta) y su efecto excitador sobre los receptores muscarínicos M₁ de las neuronas estriado-palidales. Se establece así un balance que regula el flujo de información para el control de los movimientos.

Figura 2B.- Efectos de la adenosina en los receptores A_{2A} del estriado desprovisto de su inervación dopaminérgica. Cuando se pierde la inervación dopaminérgica del estriado, los efectos de la adenosina (ADE, triángulo verde) sobre los receptores A_{2A} se vuelven dominantes, promoviendo una mayor liberación de acetilcolina (ACh, triángulo magenta) que activa a los receptores muscarínicos M₁ de las neuronas estriado-palidales, aumentando su frecuencia de disparo y, por consiguiente, la liberación de GABA en el globo pálido. El resultado final es una inhibición de la actividad motora, característica de la enfermedad de Parkinson.



Figura 2C.- Hipótesis del sinergismo de la cafeína con los anticolinérgicos en los modelos preclínicos de la enfermedad de Parkinson. En el estriado desprovisto de su inervación dopaminérgica, la cafeína (triángulos rojos) bloquea competitivamente a los receptores A_{2A}, inhibiendo el exceso de liberación de acetilcolina (ACh, triángulo magenta) promovido por la adenosina (ADE, triángulos verdes). Al disminuir la concentración de acetilcolina en la hendidura sináptica, se reducen los requerimientos de anticolinérgicos (triángulo café) necesarios para bloquear a los receptores muscarínicos (M₁) postsinápticos, lo cual explica el sinergismo con la cafeína. El resultado final, es el restablecimiento del balance funcional normal, con un mejor control de los movimientos voluntarios.

Revista Biomédica

para reducir la liberación de ACh. Cabe aclarar que estas dos propuestas, más que excluyentes, podrían ser complementarias.

Hipótesis 1.

Como se mencionó, las neuronas GABAérgicas estriado-palidales expresan en abundancia los receptores dopaminérgicos D₂ (34). Existen fuertes evidencias de que la activación de los receptores A_{2A} reduce la afinidad de la dopamina por los receptores D₂ (72). Lo opuesto ocurriría cuando los receptores A_{2A} son bloqueados, y esto explica los efectos estimulantes de la locomoción de la cafeína y los antagonistas A_{2A} (31, 32, 36, 47). De acuerdo con esto, en los modelos de parkinsonismo inducido con haloperidol o reserpina, el sinergismo entre el THF y los antagonistas de los receptores A_{2A} de la adenosina podría deberse al restablecimiento del tono inhibitor normal que ejerce la dopamina en las neuronas GABA/encefalina y en las interneuronas colinérgicas (Figura 2B). Como resultado de lo anterior, no sólo se reduciría la liberación de ACh, sino también su influencia excitadora directa sobre las neuronas

Adyuvantes terapéuticos en la enfermedad de Parkinson.

estriadopalidales (Figura 2C). Cabe mencionar que lo anterior sólo sería posible en aquellos casos en que la pérdida de inervación dopaminérgica sea parcial, ya que la interacción entre los receptores A_{2A} y D_2 carecería de relevancia en ausencia de dopamina.

Hipótesis 2.

En ratones que carecen de receptores dopaminérgicos D_2 la cafeína todavía es capaz de estimular la actividad locomotora, aunque en menor intensidad (41, 42). Estos hallazgos sugieren que los antagonistas A_{2A} también podrían incrementar el efecto antiparkinsoniano de los anticolinérgicos a través de un mecanismo en el que no participan los receptores D_2 . En este sentido, las interneuronas colinérgicas estriatales representan otro blanco alternativo para la interacción sinérgica entre los antagonistas A_{2A} y los anticolinérgicos (figura 2). Estas neuronas expresan receptores adenosinérgicos A_1 y A_{2A} (30, 73, 74), los cuales son capaces de modular la neurotransmisión colinérgica, puesto que en preparaciones de sinaptosomas colinérgicos estriatales los agonistas A_1 reducen la liberación de ACh, en tanto que los agonistas A_{2A} la aumentan (49, 50). Estas observaciones concuerdan con estudios de microdiálisis efectuados en ratas con lesión unilateral de la vía dopaminérgica nigroestriatal, en las que la perfusión intraestriatal de un agonista selectivo A_{2A} induce una mayor liberación de ACh en el estriado lesionado comparado con el estriado con inervación dopaminérgica intacta (51). En apoyo de las observaciones anteriores, los estudios conductuales han demostrado que la administración sistémica de fármacos agonistas selectivos de los receptores A_{2A} , no sólo inducen catalepsia por sí mismos, sino que incrementan la catalepsia inducida por haloperidol, efectos que son bloqueados por dosis bajas (0.1 mg/kg) del antagonista muscarínico escopolamina (75). Asimismo, en ratas hemiparkinsonianas, la inyección de un agonista selectivo A_{2A} en el estriado privado de su inervación dopaminérgica produce una disminución de la conducta de giro inducida con apomorfina (76). Este efecto parece estar causado por un aumento en la liberación de ACh, ya que la aplicación intraestriatal de atropina revierte el efecto inhibitor del agonista

A_{2A} sobre la conducta de giro estimulada por apomorfina (76). Tomados en conjunto, los hallazgos anteriores apoyan la hipótesis de que la inhibición de la liberación de ACh estriatal mediada por los antagonistas A_{2A} es el mecanismo responsable de su sinergismo con los anticolinérgicos en los modelos experimentales de la enfermedad de Parkinson (figuras 2B y 2C).

CONCLUSIONES.

La evidencia disponible indica que los fármacos antagonistas de los receptores A_{2A} de adenosina son capaces de incrementar la potencia de los anticolinérgicos en modelos preclínicos de parkinsonismo. Aunque la cafeína es un antagonista no selectivo de los receptores A_1 y A_{2A} , su bajo costo y su relativa carencia de efectos adversos la convierten en un fármaco prometedor para ser usado como adyuvante de la terapia anticolinérgica, permitiendo reducir sus dosis y sus efectos adversos en pacientes con enfermedad de Parkinson.

AGRADECIMIENTOS.

Los trabajos experimentales que sirvieron de base para la presente revisión fueron financiados por la UADY (Proyectos CIRB-99-024 y CIRB-04-006) y el CONACYT-México (Proyectos 31377-N y 34424-N). Rosa E. Moo Puc y José L. Bata García recibieron sendas becas de Maestría del proyecto CONACYT 31377-N. Jairo Villanueva Toledo recibió una beca-tesis de Licenciatura del programa PRIORI de la UADY.

REFERENCIAS.

- 1.- Birkmayer W, Danielczyk W. La enfermedad de Parkinson. Barcelona: Empresa Editorial Herder SA; 1997.
- 2.- Mayeux R. Epidemiology of neurodegeneration. *Annu Rev Neurosci* 2003; 26: 81-104.
- 3.- Baldereschi M, DiCarlo A, Rocca WA, Vanni P, Maggi S, Perissinotto E, *et al.* Parkinson's disease and parkinsonism in a longitudinal study: two-fold higher incidence in men. ILSA Working Group. Italian Longitudinal Study on Aging. *Neurology* 2000; 55: 1358-63.
- 4.- Bargas J, Galarraga E, Aceves J. Los ganglios basales. En: Muñoz-Martínez J, García X, compiladores. *Fisiología: Células, Organos y Sistemas*. México: Secretaría de Salud,

JL Góngora-Alfaro, RE Moo-Puc, J Villanueva-Toledo, G Arankowsky-Sandoval y col.

UNAM, CINVESTAV-IPN, IMSS, Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas y Fondo de Cultura Económica; 1998. vol 5, Unidad X Sistema Nervioso. p. 257-73.

5.- Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. First of two parts. *N Eng J Med* 1998; 339: 285-94.

6.- Jiménez FJ, Pilés S, Muñoz E, Aguilar M. Síndromes parkinsonianos. *Arch Neuroci* 2000; 5: 84-95.

7.- García-Martínez JC. La enfermedad de Parkinson vista por un afectado. *Rev Neurol* 2003; 37: 391-400.

8.- Gage FH. Society for Neuroscience *Newsletter* USA. 2002; May-June.

9.- Consejo Nacional de las Adicciones. Programas de Acción en Salud Mental: Programa Específico de Atención a la Enfermedad de Parkinson. México DF 2002. Disponible en: URL: http://www.salud.gob.mx/unidades/conadic/pparkinson_index.htm#intro.

10.- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática de México. INEGI 2004. Disponible en: URL: <http://www.inegi.gob.mx/inegi/default.asp>.

11.- Otero-Siliceo E. Parkinson: Enfoque al Futuro. México: Fondo de Cultura Económica e Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía; 1996.

12.- Barbeau A. The pathogenesis of Parkinson's disease: a new hypothesis, *Canad Med Ass J* 1962; 87: 802-7.

13.- McGeer P, Boulding JE, Gibson WC. Drug induced extrapyramidal reactions: treatment with diphenhydramine hydrochloride and dydroxyphenylalanine *JAMA* 1961; 177: 665-70.

14.- Weintraub MI, VanWoert MH. Reversal by levodopa of cholinergic hypersensitivity in Parkinson's disease. *N Eng J Med* 1971; 284: 412-5.

15.- McGeer PL, Hattori T, Singh VK, McGeer EG. Cholinergic systems in extrapyramidal function, En: Yahr MD, editor. *The Basal Ganglia*. New York: Raven Press; 1976. p. 213-26.

16.- Duvoisin RC. Cholinergic-anticholinergic antagonism in parkinsonism. *Arch Neurol* 1967; 17: 124-36.

17.- Fahn S, Burke R, Stern Y, Antimuscarinic drugs in the treatment of movement disorders. En: Aquilonius SM, Gillberg PG, editores. *Progress in Brain Research*.

Amsterdam: Elsevier; 1990. vol. 84. p. 389-97.

18.- Bartholini G. Interaction of striatal dopaminergic, cholinergic, and GABAergic neurons: relation to extrapyramidal function. *Trends Pharmacol Sci* 1980; 1: 138-40.

19.- Stoof JC, Drukarch B, DeBoer P, Westerink BHC, Groenewegen HJ. Regulation of the activity of striatal cholinergic neurons by dopamine. *Neuroscience* 1992; 47: 755-70.

20.- DeBoer P, Abercrombie ED. Physiological release of striatal acetylcholine in vivo: modulation by D1 and D2 dopamine receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 277: 775-83.

21.- De Boer P, Abercrombie ED, Heeringa M, Westerink BHC. Differential effect of systemic administration of bromocriptine and L-DOPA on the release of acetylcholine from striatum of intact and 6-HODA-treated rats. *Brain Res* 1993; 608: 198-203.

22.- Bianchine JR. Drogas para la enfermedad de Parkinson; relajantes musculares de acción central. En: Goodman-Gilman A, Goodman LS, Gilman A, editores. *Goodman y Gilman Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Sexta edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1981. p. 475-93.

23.- Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. Second of two parts. *N Eng J Med* 1988; 339: 285-94.

24.- Calne DB. Treatment of Parkinson's disease. *N Eng J Med* 1993; 329: 1021-7.

25.- Fahn S, Medical treatment of Parkinson's disease. *J Neurol* 1998; 245 (Suppl. 3):15-24.

26.- Nishiyama K, Mizuno T, Sakuta M, Kurisaki H. Chronic dementia in Parkinson's disease treated by anticholinergic agents. Neuropsychological and neuroradiological examination. *Adv Neurol* 1993; 60: 479-83.

27.- Van Spaendonck K, Berger H, Horstink M, Bytenhuijs E, Cools A. Impaired cognitive shifting in Parkinsonian patients on anticholinergic therapy. *Neuropsychologia* 1993; 31: 407-11.

28.- Pondal M, Del Ser T, Bermejo F. Anticholinergic therapy and dementia in patients with Parkinson's disease. *J Neurol* 1996; 243: 543-46.

Adyuvantes terapéuticos en la enfermedad de Parkinson.

- 29.- Bédard MA, Pillon B, Dubois B, Duchesne N, Masson H, Agid Y. Acute and long-term administration of anticholinergics in Parkinson's disease: specific effects on the subcortico-frontal syndrome. *Brain Cogn* 1999; 40: 289-313.
- 30.- Richardson P, Hiroshi K, Jenner P. Adenosine A_{2A} receptor antagonists as new agents for the treatment of Parkinson's disease. *Trends Pharmacol Sci* 1997; 18: 338-44.
- 31.- Ferré, S., Popoli, B., Giménez-Llort, L., Rimondini, R., Müller, C.E., Strömberg, I., Ögren, S.O. and Fuxe, K. Adenosine/dopamine interaction: implications for the treatment of Parkinson's disease, *Parkinsonism Relat Disord* 2001; 7:235-41.
- 32.- Rall WT. Estimulantes del sistema nervioso central; las xantinas. En: Goodman-Gilman A, Goodman LS, Gilman A, editores. *Goodman y Gilman Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Sexta edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1981. p. 587-601.
- 33.- Fredholm BB, Battig K, Holmén J, Nehlig A, Zvartau EE. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol Rev* 1999; 51: 83-133.
- 34.- Fisone G, Borgkvist A, Usiello A. Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. *CMLS Cell Mol Life Sci* 2004; 61: 857-72.
- 35.- Snel J, Tiegues Z, Lorist MM. (2004) Effects of caffeine on sleep and wakefulness: an update. En: Nehlig A, editor. *Coffee, Tea, Chocolate and the Brain*. Boca Raton: CRC Press; 2004. p. 13-33.
- 36.- Ferré S, Fredholm B, Morelli M, Popoli P, Fuxe K. Adenosine-Dopamine receptor-interactions as an integrative mechanism in the basal ganglia. *Trends Neurosci* 1997; 20: 482-7.
- 37.- Daly JW, Fredholm BB. Mechanisms of action of caffeine on the nervous system, En: Nehlig A, editor. *Coffee, Tea, Chocolate and the Brain*. Boca Raton: CRC Press; 2004. p. 1-11.
- 38.- Daly JW, Shi D, Nikodijević O, Jacobson K. The role of adenosine receptors in the central action of caffeine. En: Gupta B, Gupta U, editores. *Caffeine and Behavior: Current Views and Research Trends*. Boca Raton: CRC Press; 1999. p. 1-16.
- 39.- Fredholm BB, Lindström K. Autoradiographic comparison of the potency of several structurally unrelated adenosine receptor antagonists at adenosine A₁ and A_{2A} receptors. *Eur J Pharmacol* 1999; 380: 197-202.
- 40.- Boissier J, Simon P. Action de la caffeine sur la motilité spontanée de la souris. *Arch Int Pharmacodyn Thé* 1965; 158: 212-21.
- 41.- Zahniser N, Simosky K, Mayfield D, Negri C, Hanania T, Larson G, *et al.* Functional uncoupling of adenosine A_{2A} receptors and reduced response to caffeine in mice lacking dopamine D₂ receptors. *J Neurosci* 2000; 20: 5949-57.
- 42.- Chen J, Moratalla R, Impagnatiello F, Grandy D, Cuellar B, Rubinstein M, *et al.* The role of the D₂ dopamine receptor (D2R) in A_{2A} adenosine receptor (A2AR)-mediated behavioral and cellular responses as revealed by A_{2A} and D₂ receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 1970-5.
- 43.- Waldeck B. Sensitization by caffeine of central catecholamine receptors. *J Neurochem* 1973; 33: 999-1005.
- 44.- Popoli P, Caporali MG, Carolis AS. Akinesia due to catecholamine depletion in mice is prevented by caffeine: further evidence for an involvement of adenosinergic system in the control of motility. *J Pharm Pharmacol* 1990; 43: 280-1.
- 45.- Casas M, Ferré S, Cobos A, Grau JM, Jané F. Relationship between rotational behaviour induced by apomorphine and caffeine in rats with unilateral lesion of the nigrostriatal pathway. *Neuropharmacology* 1989; 28: 407-9.
- 46.- Casas M, Prat G, Robledo P, Barbanj M, Kulisevsky J, Jané F. Repeated co-administration of caffeine and bromocriptine prevents tolerance to the effects of caffeine in the turning behavior animal model. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999; 9: 515-21.
- 47.- Griebel G, Saffroy-Spittler M, Misslin R, Remmy D, Vogel E, Bourguignon J. Comparison of the behavioral effects of an adenosine A₁/A₂-receptor antagonist, CGS15943A, and an A₁-selective antagonist, DPCPX. *Psychopharmacol* 1991; 103: 541-4.
- 48.- Svenningsson P, Nomikos G, Ongini E, Fredholm BB. Antagonism of adenosine A_{2A} receptors underlies the behavioural activating effect of caffeine and is associated with reduced expression of messenger RNA for NGFI-A and NGFI-B in caudate-putamen and nucleus accumbens. *Neuroscience* 1997; 79: 753-64.

JL Góngora-Alfaro, RE Moo-Puc, J Villanueva-Toledo, G Arankowsky-Sandoval y col.

- 49.- Kirkpatrick K, Richardson P. Adenosine receptor-mediated modulation of acetylcholine release from rat striatal synaptosomes. *Br J Pharmacol* 1993; 11: 949-54.
- 50.- Kirk I, Richardson P. Adenosine A_{2A} receptor-mediated modulation of striatal [³H]GABA and [³H]acetylcholine release. *J Neurochem* 1994; 62: 960-6.
- 51.- Kurokawa M, Koga K, Kase H, Nakamura J, Kuwana Y. Adenosine A_{2A} receptor-mediated modulation of striatal acetylcholine release *in vivo*. *J Neurochem* 1996; 66: 1882-8.
- 52.- Moo-Puc RE, Góngora-Alfaro JL, Alvarez-Cervera FJ, Pineda JC, Arankowsky-Sandoval G, Heredia-López F. Caffeine and muscarinic antagonists act in synergy to inhibit haloperidol-induced catalepsy. *Neuropharmacology* 2003; 45: 493-503.
- 53.- Moo-Puc RE, Villanueva-Toledo J, Arankowsky-Sandoval G, Alvarez-Cervera F, Góngora-Alfaro JL, Treatment with subthreshold doses of caffeine plus trihexyphenidyl fully restores locomotion and exploratory activity in reserpinized rats. *Neurosci Lett* 2004; 367: 327-31.
- 54.- Ross RT. Drug-induced Parkinsonism and other movement disorders. *Can J Neurol Sci* 1990; 17: 155-62.
- 55.- Boulay D, Depoortere R, Oblin A, Sanger DJ, Schoemaker H, Perrault G. Haloperidol-induced catalepsy is absent in dopamine D₂, but maintained in dopamine D₃ receptor knockout-mice. *Eur J Pharmacol* 2000; 391: 63-73.
- 56.- Colpaert FC. Pharmacological characteristics of tremor, rigidity and hypokinesia induced by reserpine in rat. *Neuropharmacology* 1987; 26: 1431-40.
- 57.- Trugman JM, James, CL. Rapid development of dopaminergic supersensitivity in reserpine treated rats demonstrated with ¹⁴C-2-deoxyglucose autoradiography. *J Neurosci* 1992; 12: 2875-9.
- 58.- Naudon L, Leroux-Nicollet I, Raisman-Vozari R, Botton D, Costentin J., Time-course of modifications elicited by reserpine on the density and mRNA synthesis of the vesicular monoamine transporter, and on the density of the membrane dopamine uptake complex. *Synapse* 1995; 21:29-36.
- 59.- Cerbone A, Sadile AG. Behavioral habituation to spatial novelty: interference and noninterference studies. *Neurosci Biobehav Rev* 1994; 18: 497-518.
- 60.- Holtzman SG. Complete, reversible, drug-specific tolerance to stimulation of locomotor activity by caffeine. *Life Sci* 1983; 33: 779-87.
- 61.- Finn IB, Holtzman SG. Tolerance to caffeine-induced stimulation of locomotor activity in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1986; 238: 542-6.
- 62.- Nehlig A. Dependence upon coffee and caffeine: an update. En: Nehlig A, editor. *Coffee, Tea, Chocolate and the Brain*. Boca Raton: CRC Press; 2004. p. 133-46.
- 63.- Smith A. Effects of caffeine on human behavior. *Food Chem Toxicol* 2002; 40: 1243-55.
- 64.- Smith BD, Osborne A, Mann M, Jones H, White T. Arousal and behavior: biopsychological effects of caffeine. En: Nehlig A, editor. *Coffee, Tea, Chocolate and the Brain*. Boca Raton: CRC Press; 2004. p. 35-52.
- 65.- Shoulson I, Chase TN. Caffeine and the antiparkinsonian response to levodopa or piribedil. *Neurology* 1975; 25: 722-4.
- 66.- Kartzinel R, Shoulson I, Calne DB. Studies with bromocriptine: III. Concomitant administration of caffeine to patients with idiopathic parkinsonism. *Neurology* 1976; 26: 741-3.
- 67.- Gerlach M, Foley P, Riederer R. The relevance of preclinical studies for the treatment of Parkinson's disease. *J Neurol* 2003; 250 (Suppl. 1): 31-4.
- 68.- Simon P, Dupuis R, Costentin J. Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behav Brain Res* 1994; 61: 59-64.
- 69.- Nehlig A. Cerebral energy metabolism and blood flow: useful tools for the understanding of the behavioral effects of caffeine. En: Gupta B, Gupta U, editores. *Caffeine and Behavior: Current Views and Research Trends*. Boca Raton: CRC Press; 1999. p. 31-47.
- 70.- Nehlig A, Boyet S. Dose-response study of caffeine effects on cerebral functional activity with a specific focus on dependence. *Brain Res* 2000; 858: 71-7.
- 71.- Villanueva-Toledo J, Moo-Puc RE, Góngora-Alfaro JL. Selective A_{2A}, but not A₁ adenosine antagonists enhance the anticataleptic action of trihexyphenidyl in rats. *Neurosci Lett* 2003; 346: 1-4.

Adyuvantes terapéuticos en la enfermedad de Parkinson.

72.- Fuxe K, Ferré S, Zoli M, Agnati LF. Integrated events in central dopamine transmission as analyzed at multiple levels. Evidence for intramembrane A_{2A} /dopamine D_2 and adenosine A_1 /dopamine D_1 receptor interactions in the basal ganglia. *Brain Res Rev* 1998; 26: 258-73.

73.- Svenningsson P, Fisone G, Fredholm B. Distribution, biochemistry and function of striatal adenosine A_{2A} receptors. *Prog Neurobiol* 1999; 59: 355-96.

74.- Richardson PJ, Dixon AK, Lee K, Bell MI, Cox PJ, Williams R, *et al.* Correlating physiology with gene expression in striatal cholinergic neurones. *J Neurochem* 2000; 74: 839-46.

75.- Mandhane SN, Chopde CT, Ghosh AK. Adenosine A_2 receptors modulate haloperidol-induced catalepsy in rats. *Eur J Pharmacol* 1997; 328: 135-41.

76.- Vellucci SV, Sirinathsinghji DJS, Richardson PJ. Adenosine A_2 receptor regulation of apomorphine-induced turning in rats with unilateral striatal dopamine denervation. *Psychopharmacology* 1993; 111: 383-8.