Instituto de Fisiología y Biofísica "Bernardo Houssay" (IFIBIO)

# Laboratorio de Fisiología de Circuitos Neuronales

*Departamento de Ciencias Fisiológicas, Unidad Académica 1*

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN:
PICT 2020 325. **Identificación de nuevos blancos terapéuticos en el sistema colinérgico estriatal en modelos animales de la enfermedad de Parkinson y las discinesias inducidas por L-dopa**

PICT 2022 042. **Adaptaciones de la inervación estriatal dopaminérgica residual y serotoninérgica, y su rol en la función motora, en un modelo animal de la enfermedad de Parkinson**

REQUISITOS
4° año de la Carrera de Medicina, haber aprobado Fisiología y Biofísica sin aplazos en parciales y final, capacidad para leer en inglés, conocimientos básicos de informática (Excel).

DOCENTE: Prof Titular Gustavo Murer
E-MAIL: gmurer@fmed.uba.ar

UBICACIÓN: Paraguay 2155, 7mo piso, sector M1

TAREAS
Los objetivos de ambos proyectos se copian al final del formulario. En el marco de dichos objetivos, el pasante:

- Participará en seminarios de discusión de artículos científicos recientemente publicados relacionados con el tema del proyecto.
- Realizará determinaciones conductuales para determinar signos de parkinsonismo y discinesias inducidas por L-DOPA en roedores.
- Realizará estudios histológicos e inmunohistoquímicos para verificar la degeneración de neuronas dopaminérgicas.
- Participará en procedimientos de cirugía estereotáxica cerebral en roedores.
- Contribuirá al desarrollo de experimentos de patch clamp de neuronas de los ganglios de la base.
- Organizará y analizará datos experimentales utilizando planillas de cálculo y software para estadística.
- Participará en discusiones del grupo de investigación relativas al avance del proyecto y la interpretación de resultados.

PROGRAMA:
El/la practicante tendrá acceso a las descripciones técnicas de los proyectos de investigación y publicaciones de nuestro grupo y podrá discutirlas con el

director del proyecto (Gustavo Murer) y la investigadora del CONICET asociada al grupo Cecilia Tubert. Nuestro grupo tiene más de 80 publicaciones internacionales relacionadas con la fisiología de los ganglios de la base y la fisiopatología de la enfermedad de Parkinson y las discinesias inducidas por L-DOPA, la complicación más frecuente del tratamiento de la enfermedad.
En los seminarios de discusión de artículos científicos, el/la practicante asistirá a una exposición del artículo realizada por un estudiante de doctorado o investigador de un grupo multidisciplinario de científicos del IFIBIO Houssay, que llamamos grupo de Neurociencia de Sistemas, e involucra a una decena de investigadores además de becarios de doctorado y postdoctorado. Esta actividad se realiza una vez por semana.
En una primera instancia, el/la practicante se integrará en el desarrollo de un experimento supervisado por Murer, Tubert y estudiantes de doctorado de nuestro grupo. Se generará un modelo animal de la enfermedad de Parkinson en ratones mediante la inyección intracerebral de una toxina selectiva para neuronas dopaminérgicas mediante cirugía estereotáxica, bajo anestesia gaseosa.
Para los experimentos se utilizarán ratones genéticamente modificados que permiten modular la función de tipos neuronales específicos dentro de los ganglios de la base. Esto permite determinar el rol de determinado tipo celular, en nuestro caso las interneuronas colinérgicas del cuerpo estriado, en la fisiopatología del parkinsonismo inducido experimentalmente.
Se informará a el/la pasante sobre aspectos éticos y de bioseguridad relacionados con los experimentos.
En las semanas siguientes el/la practicante participará en la realización de mediciones conductuales, aplicación de tratamientos farmacológicos, y realización de mediciones electrofisiológicas en neuronas mediante la técnica de patch clamp. Posteriormente se realizarán mediciones inmunohistoquímicas en secciones histológicas para determinar el grado de pérdida de la inervación dopaminérgica de los ganglios basales.

**Un experimento típico dura 12 a 15 semanas**

Si el/la pasante demuestra interés por profundizar su inserción en el laboratorio y tiene las cualidades para hacerlo, se planificará un segundo experimento con mayor participación directa en las tareas experimentales.

OBJETIVO

- Desarrollar el pensamiento crítico y el lenguaje técnico profesional relacionado con la investigación.
- Comprender la normativa ética y de bioseguridad que se aplica en la investigación animal en el contexto del proyecto que desarrollamos.

- Realizar mediciones conductuales en roedores y comprender su significado y limitaciones.
- Realizar mediciones inmunohistoquímicas en secciones de tejido, obtener imágenes de las mismas mediante microscopía sofisticada, y analizarlas con software dedicado.
- Organizar datos en planillas de cálculos y realizar análisis estadísticos simples. Realizar gráficos e interpretarlos.
- Dependiendo de la duración de la pasantía y la dedicación y aptitudes del/de la pasante, podrá involucrarse directamente en realizar cirugía estereotáxica.

CARGA HORARIA: 15 h semanales

**Identificación de nuevos blancos terapéuticos en el sistema colinérgico estriatal en modelos animales de la enfermedad de Parkinson y las discinesias inducidas por L-dopa**

Nuestro laboratorio busca esclarecer los mecanismos fisiopatológicos de los desórdenes del movimiento causados por alteraciones de los ganglios de la base y contribuir al desarrollo de nuevas terapéuticas para los mismos. El objetivo general de este proyecto **es identificar los mecanismos que alteran la actividad de las interneuronas colinérgicas estriatales (SCIN) en un modelo animal de la enfermedad de Parkinson que presenta discinesias inducidas por la terapéutica con L-DOPA (LID), con el propósito último de identificar nuevos blancos terapéuticos para estas condiciones clínicas.**

La enfermedad de Parkinson es la condición neurodegenerativa más frecuente luego de la enfermedad de Alzheimer. Definen a la enfermedad de Parkinson la degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la *substantia nigra pars compacta* (SNc) y las alteraciones principalmente motoras resultantes del déficit de dopamina (DA) en el cuerpo estriado, principal blanco de las proyecciones de la SNc. Dado que múltiples factores genéticos y ambientales interactúan ocasionando la degeneración de neuronas dopaminérgicas en los casos idiopáticos de la enfermedad, que constituyen un 90% del total, la terapéutica disponible no apunta a la etiología, sino a restablecer la estimulación de receptores para DA en el estriado. Pasados más de 50 años desde su descubrimiento, la terapéutica crónica con L-DOPA, el precursor de la síntesis de DA, sigue resultando ineludible en la mayor parte de los pacientes. Desafortunadamente, grados avanzados de degeneración promueven complicaciones de la terapéutica, incluyendo la aparición de movimientos anormales en una mayoría de los enfermos que reciben L-DOPA durante 10 años. Ante un escenario de gran dificultad para desarrollar terapias neuroprotectoras o neurorestauradoras, la identificación de nuevos blancos terapéuticos constituye un campo muy activo de investigación.

Los antagonistas de receptores muscarínicos para acetilcolina (ACh) jugaron un rol central en la terapéutica de la enfermedad de Parkinson antes de la era de la L-DOPA. Según los modelos fisiopatológicos que prevalecían en esa época, la falta de DA provoca un estado "hipercolinérgico" que contribuye a generar los signos clínicos de la enfermedad (Barbeau, 1962). Los efectos adversos de los fármacos "anticolinérgicos", debidos a su interferencia con funciones extraestriatales de la ACh, limitaron su uso clínico posterior, pero podrían ser evitados con nuevas terapias dirigidas selectivamente a mecanismos colinérgicos estriatales. Estudios recientes que demuestran que modular selectivamente la actividad de las SCIN disminuye los déficit motores en modelos animales de la enfermedad de Parkinson y modifica las LID (Maurice et al., 2015; Tanimura et al., 2019; Won et al., 2014; Aldrin-Kirk et al., 2018; Bordia et al., 2016), renovaron el interés por comprender los mecanismos que alteran la función de las SCIN en la enfermedad de Parkinson (Deffains and Bergman, 2015; Bordia and Perez, 2019; Tubert and Murer, 2020). En particular, cabe analizar si aproximaciones más específicas que la farmacológica dirigida a los receptores muscarínicos, que restauren la actividad fisiológica de las SCIN, tienen valor terapéutico en la enfermedad de Parkinson y en las LID.

En años recientes reportamos que las SCIN se tornan hiperexcitables en un modelo animal de la enfermedad de Parkinson, proporcionando una posible explicación para el estado hipercolinérgico estriatal que ocurriría en la enfermedad (Sanchez et al., 2001). Posteriormente revelamos que una disminución de una corriente de $K^+$ mediada por canales que contienen la subunidad Kv1.3 causa dicha hiperexcitabilidad (Tubert et al., 2016). Clásicamente se considera que la falta de inhibición de las SCIN por receptores D2 para DA produce un aumento del tono colinérgico en la enfermedad de Parkinson (Pisani et al., 2007). Sin embargo, la administración crónica de L-DOPA en dosis que llevaron a la aparición de LID, no solo no revirtió la hiperexcitabilidad de las SCIN, sino que la exacerbó, y provocó además un cambio profundo en su actividad espontánea, reemplazando su patrón marcapasos característico de descarga regular por una actividad oscilatoria de descarga en salvas promovida por un aumento de una conductancia de $K^+$ de tipo Kir2 (Paz et al., 2021). Nuestros últimos resultados indican que en condiciones normales el receptor D5 para DA expresado por las SCIN, vía un aumento de los niveles de cAMP, inhibe la corriente Kv1.3 y aumenta la corriente Kir2, produciendo un aumento de excitabilidad y actividad oscilatoria en salvas. En ratones modelo de un estado avanzado de la enfermedad de Parkinson, la exposición a L-DOPA provoca los mismos cambios en las corrientes Kv1.3 y Kir2 pero éstos persisten por horas luego de finalizados los efectos conductuales de la L-DOPA, hipotéticamente debido a una actividad sostenida independiente de ligando del receptor D5 (Paz et al., 2021; resultados preliminares). En conjunto, nuestros resultados sugieren que es necesario revisar la visión clásica sobre los mecanismos que afectan la función de las SCIN en la enfermedad de Parkinson y apuntan a los canales Kv1.3, Kir2 y el receptor D5 como potenciales nuevos blancos terapéuticos. Este proyecto buscará esclarecer el rol del receptor D5 en la generación de las

alteraciones persistentes de actividad de las SCIN que se observan en el parkinsonismo experimental avanzado con LID y proveer evidencia sobre el posible valor terapéutico de intervenciones selectivas sobre la expresión del receptor D5 en estas interneuronas, a través de los siguientes objetivos específicos:

**Objetivo 1.**

**Esclarecer los efectos dependientes e independientes de ligando del receptor D5 sobre la actividad intrínseca de las SCIN en un modelo animal de parkinsonismo avanzado con LID. Hipótesis:** *la estimulación del receptor D5 por DA tiene en las SCIN efectos que, luego de la lesión nigroestriatal severa y exposición crónica a L-DOPA, son dominantes y persisten de manera independiente de la presencia de DA.* Además de receptores D2, las SCIN expresan receptores D5 para DA (pero no receptores D1, que son farmacológicamente indistinguibles de los D5). Para determinar si el receptor D5 adquiere un rol dominante en el control de la actividad de las SCIN a través de mecanismos de señalización independientes de la presencia de ligando, estudiaremos la contribución relativa de los receptores D5 y D2 en los efectos de la DA sobre las SCIN, y la persistencia de los efectos de la DA, realizando registros de tipo *whole cell* y *cell attached* en rodajas de ratones control y con lesión nigroestriatal tratados con L-DOPA o vehículo. Además utilizaremos *agonistas inversos* del receptor D5, capaces de invertir los efectos del receptor sobre los niveles de cAMP intracelulares, y actuaremos sobre la capacidad de señalización del receptor D5 desde el interior de las SCIN, para determinar si una actividad sostenida del receptor D5 vía cAMP hacia canales Kv1.3 y Kir2 provoca los cambios persistentes de actividad de las SCIN que se observan en el parkinsonismo experimental avanzado con LID.

**Objetivo 2.**

**Determinar si la expresión estriatal del receptor D5 se modifica por efecto de la lesión nigroestriatal y un tratamiento con L-DOPA que induce discinesias. Hipótesis:** *la expresión del receptor D5 aumenta en las SCIN luego de la denervación crónica nigroestriatal, y se incrementa aún más con un tratamiento crónico con L-DOPA que induce LID.* La actividad independiente de ligando del receptor D5 crece en paralelo con los niveles de expresión del receptor y se manifiesta como un incremento de la producción basal de cAMP (Tibery and Caron, 1994). Además, estudios realizados en riñón sugieren que la señalización del receptor D5 continúa por mecanismos independientes de ligando extracelular luego de la internalización inducida por agonistas del receptor (Villar et al., 2013; Yang et al., 2020). Por ello aquí buscaremos determinar si aumenta la expresión del receptor D5 y si cambia su distribución subcelular por efecto de la lesión nigroestriatal y la exposición crónica a L-DOPA, mediante estudios de inmunohistoquímica en ratones que expresan en la membrana de las SCIN la proteína de fusión ChR2-EYFP, y realizando RT-PCR cuantitativa a partir de muestras de SCIN obtenidas por microdisección y captura láser (Tubert et al., 2016).

**Objetivo 3.**

**Determinar el efecto de intervenciones que reduzcan selectivamente la expresión del receptor D5 en las SCIN sobre su actividad anormal y el comportamiento en ratones con parkinsonismo avanzado y LID. <u>Hipótesis:</u>** *la eliminación de la expresión del receptor D5 previene y revierte las alteraciones funcionales de las SCIN, y esto se acompaña de una disminución de las discinesias y una prolongación de los efectos terapéuticos de la L-DOPA.* Aunque nuestra hipótesis sugiere que los agonistas inversos del receptor D5 podrían, a través de acciones sobre las SCIN, reducir las LID y los signos de parkinsonismo que reaparecen una vez finalizados los efectos de la L-DOPA, y de hecho existe evidencia clínica limitada que sugiere que uno de ellos, la clozapina, posee dichos efectos terapéuticos (Durif et al., 2004; Bennett et al., 1993), se trata de antipsicóticos que actúan sobre múltiples receptores para monoaminas, de modo que no proveen un medio para estudiar el rol del receptor D5 de las SCIN en el comportamiento. Por ello aquí proponemos combinar el uso de ratones genéticamente modificados y vectores virales para eliminar selectivamente el receptor D5 de las SCIN en el adulto, y determinar si esta manipulación previene o revierte el fenotipo fisiológico anormal que muestran las SCIN en ratones con parkinsonismo avanzado y LID, y disminuye las alteraciones motoras que presentan estos animales.

**Adaptaciones de la inervación estriatal dopaminérgica residual y serotoninérgica, y su rol en la función motora, en un modelo animal de la enfermedad de Parkinson**

Nuestro laboratorio busca esclarecer los mecanismos fisiopatológicos de los desórdenes del movimiento causados por alteraciones de los ganglios de la base y contribuir al desarrollo de nuevas terapéuticas para los mismos. El objetivo general de este proyecto **es establecer qué mecanismos dopaminérgicos y serotoninérgicos subyacen a las fluctuaciones de actividad motora que se presentan en un modelo animal de la enfermedad de Parkinson avanzada, incluyendo las discinesias inducidas por la terapéutica con L-DOPA (LID) y otros fenómenos motores que se presentan una vez que el efecto sintomático de la L-DOPA desaparece (distonías, cinesia paradójica).**

La enfermedad de Parkinson es la condición neurodegenerativa más frecuente luego de la enfermedad de Alzheimer. Definen a la enfermedad de Parkinson la degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la *substantia nigra pars compacta* (SNc) y las alteraciones principalmente motoras resultantes del déficit de dopamina (DA) en el cuerpo estriado, principal blanco de las proyecciones de la SNc. Dado que múltiples factores genéticos y ambientales interactúan ocasionando la degeneración neuronal en los casos idiopáticos de la enfermedad, que constituyen un 90% del total, la terapéutica disponible no apunta a la etiología, sino a restablecer la estimulación de receptores para DA en el estriado. Pasados más de 50 años desde su descubrimiento, la terapia crónica con L-DOPA resulta ineludible en casi todos los pacientes. El tratamiento es efectivo en etapas tempranas de la enfermedad, cuando las terminaciones axonales dopaminérgicas remanentes almacenan la DA sintetizada a partir de la L-DOPA, proveyendo un

mecanismo de liberación de DA regulado. En etapas avanzadas toman relevancia otros sitios de conversión de L-DOPA en DA, incluida la inervación serotoninérgica por los núcleos del rafe, lo que presumiblemente resulta en una estimulación desregulada de los receptores para DA. El periodo de beneficio sintomático que produce cada dosis de L-DOPA se acorta y los síntomas típicos de la enfermedad (fundamentalmente la hipo/bradicinesia) reaparecen antes de que sea tiempo de recibir la siguiente dosis (*wearing off*). Además, se presentan nuevos problemas motores asociados a la interacción entre la enfermedad y el tratamiento, tanto durante el periodo de beneficio sintomático producido por una dosis de L-DOPA (estado "on"), como una vez que este terminó (estado "off"). Una mejor comprensión de los roles de las distintas fuentes que producen DA a partir de L-DOPA en la generación de la diversidad de problemas motores que se presentan durante la terapéutica con L-DOPA podría redundar en el diseño de mejores tratamientos para la enfermedad.

Los fenómenos motores que se observan en la enfermedad de Parkinson se interpretan como debidos a un desbalance de actividad entre las dos vías eferentes del estriado, la vía directa estriatonigral y la vía indirecta estriatopalidal, ambas reguladas por las interneuronas colinérgicas del estriado (SCIN) y por la SNc. Compensaciones pre y postsinápticas mantienen la homeostasis estriatal hasta que la mitad de las neuronas de la SNc degeneraron; luego la concentración de DA extracelular cae, la vía indirecta se torna hiperactiva, emergen oscilaciones anormales de actividad neuronal en el circuito, y aparecen los síntomas típicos de la enfermedad (Dreyer, 2014; Escande et al., 2016; Bello et al., 2017; Parker et al., 2018). Por qué en estadios más avanzados de degeneración algunos pacientes desarrollan fluctuaciones motoras y otros no, es poco comprendido. Estudios propios y de otros grupos identifican a la activación anormal y sostenida de receptores D1/D5 para DA en la vía directa y las SCIN como un mecanismo clave de las fluctuaciones de actividad motora que ocurren en el parkinsonismo avanzado. Las fibras dopaminérgicas remanentes se hipertrofian y podría haber una hiper-inervación serotoninérgica del estriado en la enfermedad de Parkinson, y aunque se presume que la estimulación no fisiológica de neuronas estriatales por dichas aferencias causa las complicaciones motoras asociadas al tratamiento con L-DOPA, se desconoce qué cambios de conectividad entre esas aferencias y distintos tipos de neuronas estriatales subyacen a los mismos. Por otro lado, aunque se ha atribuido un rol central a la estimulación "pulsátil" de receptores para DA durante cada dosis de L-DOPA en la aparición de las fluctuaciones motoras, estudios recientes demuestran que los pacientes pueden sufrir discinesias y, paradójicamente, estados "off", durante la terapéutica basada en la infusión continua de L-DOPA (Cenci et al., 2020; Rota et al., 2022). Además, es posible inducir discinesias activando neuronas estriatales por optogenética en animales parkinsonianos que nunca recibieron L-DOPA (Perez et al., 2017; Keifman et al., 2019). Estos hallazgos indican que es necesario revisar algunos conceptos básicos de este campo de investigación.

Nuestra hipótesis general es que, en el parkinsonismo avanzado, se produce una reconfiguración del entramado sináptico entre las aferencias

dopaminérgicas/serotoninérgicas y las neuronas estriatales, que, junto a cambios en la sensibilidad postsináptica a la DA inducidos por la exposición a L-DOPA, originan los diversos fenómenos motores que ocurren durante los estados on y off L-DOPA. Esta hipótesis será evaluada a través de los siguientes objetivos específicos:

**Objetivo 1.**

**Esclarecer el impacto funcional de las aferencias dopaminérgicas remanentes y las entradas serotoninérgicas, sobre las neuronas estriatales, que caracterizan al estado discinético en el parkinsonismo avanzado. Hipótesis:** *en los animales que desarrollan LID la activación selectiva de fibras dopaminérgicas remanentes y aferencias serotoninérgicas produce una sobre-excitación de las neuronas de la vía directa y las SCIN a través de efectos mediados por receptores D1/D5, seguida de un periodo de refractariedad a la DA coincidente con el estado off L-DOPA.* En estudios previos reportamos que las SCIN muestran una activación constitutiva de la cascada de señalización asociada al receptor D5 para DA y dejan de responder a los agonistas D1/D5 en animales con parkinsonismo avanzado que desarrollaron LID (Paz et al., 2022). Se desconoce si este fenómeno afecta a otras neuronas estriatales, como las que expresan el receptor D1 y forman la vía directa, que son esenciales en la regulación del movimiento normal y la aparición de movimientos anormales en la enfermedad de Parkinson. Algunos estudios farmacológicos abordaron los efectos de la DA y serotonina sobre neuronas estriatales en animales normales, pero poco se sabe de los efectos de la DA y serotonina liberadas por la inervación nativa sobre neuronas estriatales, y ningún estudio abordó este problema en modelos animales de la enfermedad. Aquí planteamos estudiar los efectos de la DA liberada por la inervación nativa, presumiblemente responsable de las complicaciones motores asociadas a la terapéutica con L-DOPA, sobre la actividad de las neuronas estriatales que dan origen a la vía directa y las SCIN, en un modelo animal de parkinsonismo avanzado. Especulamos con que la aparición de refractariedad de neuronas estriatales a la DA durante el tratamiento con L-DOPA, sumada a cambios en la inervación dopaminérgica del circuito estriatal, son en parte responsables de la menor duración del efecto de la L-DOPA y de la profundización de los estados "off" que se presentan en etapas avanzadas de la enfermedad.

**Objetivo 2.**

**Identificar las conexiones entre las aferencias dopaminérgicas remanentes y serotoninérgicas, y distintos componentes celulares del estriado, que caracterizan al estado discinético en el parkinsonismo avanzado. Hipótesis:** *la inervación dopaminérgica específica sobre espinas dendríticas de neuronas estriatales de la vía directa es reemplazada por inervación serotoninérgica, pero persisten fibras con varicosidades dopaminérgicas en la cercanía de las SCIN, en los animales discinéticos.* La gran extensión del árbol axonal pondría a las terminaciones dopaminérgicas estriatales en una situación de vulnerabilidad que las hace susceptibles a degenerar ante un déficit de energía (Bolam and Pissadaki, 2012), especialmente cuando se encuentran lejos de una fuente neurotrófica

(Ortega-de San Luis et al., 2018). Proponemos investigar si el componente específico mayoritario de la inervación dopaminérgica estriatal, dirigido a las espinas dendríticas de las neuronas estriatales de proyección, degenera preferencialmente, persistiendo fibras con varicosidades no asociadas a sitios postsinápticos específicos como única fuente de los efectos funcionales de la inervación nativa remanente. Además, dado que las SCIN son fuente de factores tróficos para los axones dopaminérgicos y conforman, por su escasez, una red dispersa en el estriado, proponemos que persisten aferencias ubicadas en la proximidad de las SCIN. Finalmente, se ha reportado que una hiper-inervación rafe-estriatal podría contribuir al desarrollo de las LID, pero se desconocen los blancos celulares y subcelulares de dicha inervación. Este objetivo busca determinar qué cambios en la inervación dopaminérgica remanente y serotoninérgica caracterizan a los animales que desarrollaron LID.

**Objetivo 3**.

**Determinar los efectos conductuales de activar e inhibir las aferencias dopaminérgicas remanentes y serotoninérgicas en el parkinsonismo avanzado con y sin discinesias. Hipótesis:** *la activación de fibras dopaminérgicas remanentes provoca actividad motora durante el estado off L-DOPA, incluyendo discinesias/distonías en los animales que desarrollaron LID, pero solo al comienzo del tratamiento, debido a que posteriormente se producen adaptaciones en el circuito estriatal que reducen la sensibilidad a la DA endógena durante el estado off L-DOPA.* Resultados preliminares indican que ratones modelo de la enfermedad de Parkinson que desarrollaron LID muestran episodios de aumento de la movilidad e incluso discinesia/distonía en situaciones de estrés, 24 horas después de haber recibido una primera dosis discinetogénica de L-DOPA, lo cual podría constituir un modelo relevante para el estudio de los fenómenos motores que presentan los pacientes durante el estado "off L-DOPA". Sin embargo, este fenómeno se atenúa a lo largo del tratamiento (Fig. 1 y 2). Predecimos que, en animales parkinsonianos que desarrollan LID, la activación de fibras dopaminérgicas durante el estado off L-DOPA reactivará transitoriamente las LID, mientras que su inhibición bloqueará la expresión de la actividad motora que se presenta en el estado off durante el estrés. Además, esperamos que estos efectos se produzcan sólo al comienzo de un tratamiento discinetogénico con L-DOPA, y también que no se presenten discinesias/distonías, sino sólo un aumento de motilidad, en los ratones que no desarrollan LID y que presumiblemente no sufren las adaptaciones estriatales que caracterizan a los ratones con LID. Por otro lado, la liberación de DA sintetizada a partir de L-DOPA desde fibras serotoninérgicas jugaría un rol importante en las LID (Carta et al., 2007; Sellnow et al., 2019), pero se desconoce si la activación selectiva de fibras rafe-estriatales es suficiente para inducir discinesias. En resumen, se desconocen los efectos conductuales de la activación de la inervación dopaminérgica residual y serotoninérgica en el parkinsonismo avanzado, lo cual resulta clave para comprender fenómenos que limitan la calidad de vida de los pacientes, incluyendo el *wearing off*, las LID, la aparición de estados "off" durante la terapia de estimulación continua de receptores para DA, y las distonías/discinesias del estado off L-DOPA (Cenci et al., 2020; Rota et al., 2022).