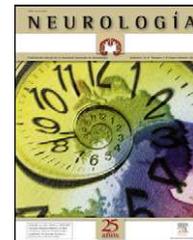


NEUROLOGÍA

www.elsevier.es/neurologia



REVISIÓN

Estructura y función de las subunidades del receptor a glutamato tipo NMDA

M.E. Flores-Soto^{a,*}, V. Chaparro-Huerta^a, M. Escoto-Delgadillo^{b,c}, E. Vazquez-Valls^d, R.E. González-Castañeda^e y C. Beas-Zarate^{a,f}

^a Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular, División de Neurociencias, CIBO, IMSS, México

^b Laboratorio de Inmunodeficiencias y Retrovirus Humanos, CIBO, IMSS, México

^c Departamento de Producción Agrícola, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México

^d Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica, UMAE Hospital de Especialidades, CMNO, IMSS, Guadalajara, México

^e Departamento de Neurociencias, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, CUCS, U. de G., Guadalajara, Jalisco, México

^f Laboratorio de Regeneración y Desarrollo Neural, Instituto de Neurobiología, Departamento de Biología Celular y Molecular, CUCBA, México

Recibido el 21 de septiembre de 2011; aceptado el 12 de octubre de 2011

Accesible en línea el 2 de enero de 2012

PALABRAS CLAVE

Excitotoxicidad;
Isoformas;
Receptor NMDA;
Subunidad NR1;
Subunidad NR2

Resumen

Introducción: Realizar una revisión de la fisiología de las subunidades del receptor a glutamato tipo N-metil-D-aspartato (NMDA).

Desarrollo: El ácido glutámico (Glu) es el principal neurotransmisor excitador del sistema nervioso central la cual interactúa con dos tipos de receptores clasificados como: metabotrópicos y ionotrópicos. Los receptores ionotrópicos se dividen de acuerdo a la afinidad de sus agonistas específicos en: N-metil-D-aspartato (NMDA), ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol (AMPA) y ácido kaínico (KA). Los receptores NMDA son estructuras macromoleculares que se forman por combinaciones de diferentes subunidades: NMDAR1 (NR1), NMDAR2 (NR2) y (NR3)

Conclusiones: El estudio de este receptor ha sido de gran interés por la función que desempeña en la plasticidad sináptica, pero sobre todo por la permeabilidad que tiene para el ion Ca^{++} . En esta revisión se analiza la composición molecular del receptor NMDA, así como las distintas variantes de edición de la subunidad NR1 que en asociación con la subunidad NR2 forman el principal dímero de este receptor. La composición, estructura y funcionalidad y sus distintos patrones de expresión tanto temporal y espacial, ha permitido conocer la versatilidad y la diversidad funcional tanto de las diferentes isoformas de la subunidad NR1, así como las distintas propiedades farmacológicas de la subunidad NR2.

© 2011 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mario.flores@hotmail.es (M.E. Flores-Soto).

KEYWORDS

Excitotoxicity;
Isoforms;
NMDA receptor;
Subunit NR1;
Subunit NR2

Structure and function of NMDA-type glutamate receptor subunits**Abstract**

Introducción: To review the physiology of the glutamate receptor subunits such as N-methyl-D-aspartate (NMDA).

Desarrollo: Glutamic acid (Glu) is the major excitatory neurotransmitter in the central nervous system which interacts with two types classified into two types: metabotropic and ionotropic. Ionotropic receptors are classified according to the affinity of their specific agonists: N-methyl-D-aspartate (NMDA), α -amino acid-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole (AMPA) and kainic acid (KA). NMDA receptors are macromolecular structures that are formed by different combinations of subunits, NMDAR1 (NR1), NMDAR2 (NR2) and NMDAR3 (NR3)

Conclusiones: The study of this receptor has been of great interest due to its role in synaptic plasticity, but mainly due to the permeability it has to Ca^{++} ion. This review examines the molecular composition of NMDA receptor and the variants of NR1 subunit edition in association with NR2 subunit dimer, the main form of this receptor. The composition, structure and function and their distinct expression patterns in both time and space, has shown the versatility and diversity of functionally different isoforms of the NR1 subunit and various pharmacological properties of the NR2 subunit.

© 2011 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El ácido glutámico (Glu) es el principal neurotransmisor excitatorio del sistema nervioso central (SNC)¹ (fig. 1). El Glu es un aminoácido no esencial que no atraviesa la barrera hemoencefálica, se sintetiza en la mitocondria de la neurona a partir de glucosa y varios precursores. El Glu después de sintetizarse se libera hacia el citoplasma en donde se acumula en vesículas sinápticas por un proceso dependiente de $\text{Mg}^{++}/\text{ATP}^2$. La propagación del impulso nervioso hacia la terminal axónica, promueve la liberación de Glu en la sinapsis a través de un mecanismo dependiente de la concentración intracelular de Ca^{++} , mediante un proceso de exocitosis³, para interactuar con sus receptores específicos.

Los receptores a Glu se clasifican en dos tipos: los receptores metabotrópicos (mGluRs) que promueven la activación de segundos mensajeros vía proteínas G, y los receptores ionotrópicos que están acoplados a un canal iónico y su activación permite la entrada de diversos iones, principalmente Ca^{++} , Na^+ , así como la salida de K^+ (fig. 2)^{4,5}.

La estructura de los mGluRs la constituye una cadena proteica que atraviesa siete veces la membrana, hasta la fecha se han clonado 8 unidades que se denomina como mGluR1 hasta el mGluR8, agrupándose de acuerdo a: a) la homología de sus aminoácidos (70% de homología entre los miembros de una misma clase y 45% de homología entre cada clase);

b) en respuesta a sus agonistas, y c) a la vía de señalización de segundos mensajeros².

Los receptores ionotrópicos se dividen de acuerdo a la afinidad de sus agonistas específicos en: N-metil-D-aspartato (NMDA), ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol (AMPA) y ácido kaínico (KA)². Los receptores ionotrópicos son heterómeros constituidos por diferentes subunidades, las cuales le confieren al receptor diferentes propiedades fisiológicas y farmacológicas (fig. 2).

Los receptores AMPA se estructuran por combinaciones de las subunidades GluR1-4, que forman un canal iónico permeable a Na^+ . Sin embargo, se ha puesto de manifiesto que aquellos receptores AMPA que no incluyen la subunidad GluR2 en su estructura son altamente permeables a Ca^{++} ; esto se debe a la presencia de un residuo de arginina (R), aminoácido presente en la posición R586 de la subunidad GluR2 en el TMII, a diferencia en las subunidades GluR1, GluR3 y GluR4 que presenta un residuo de glutamina (Q) en la posición Q582 de la proteína de la subunidad GluR1⁶.

Los receptores a kainato son heterómeros proteicos formados por combinaciones de las subunidades denominadas GluR5, GluR6 y GluR7, en combinación con KA1 y KA2. La combinación de KA2 con GluR5 conforma un receptor funcional permeable a Na^{+2} .

Receptores NMDA

La estructura de los receptores NMDA (R-NMDA) no es del todo clara, ya que se ha propuesto que puede formar estructuras tetra o pentaméricas⁶. Sin embargo, lo cierto es de que se forman por combinaciones de diferentes subunidades: NMDAR1 (NR1), NMDAR2 (NR2) y NMDAR3 (NR3)², su estructura en su conjunto forma un canal iónico permeable a Ca^{++} . La NR1 está codificada por un gen único, sin embargo, el transcrito puede generar al menos ocho isoformas. Mientras que para las subunidades tipo NR2 existen cuatro genes

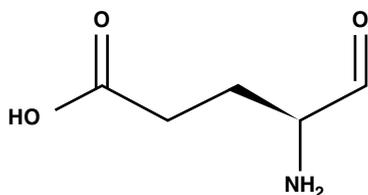


Figura 1 Estructura química del glutamato.

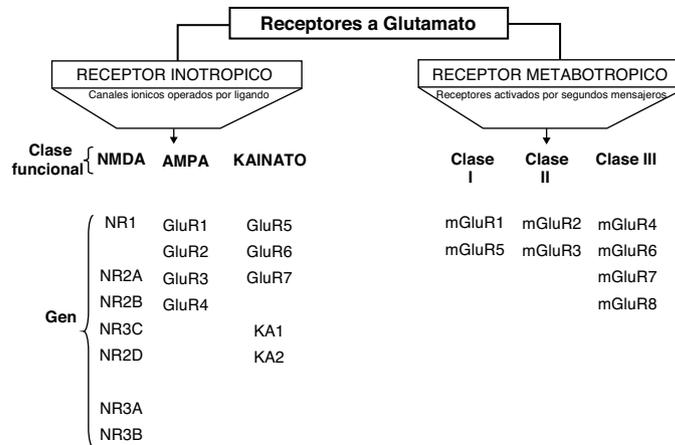


Figura 2 Clasificación de los receptores glutamato.

diferentes que codifican para las subunidades NR2A, NR2B, NR2C y NR2D⁷.

La activación del R-NMDA requiere de la unión simultánea de dos diferentes agonistas, el Glu y la glicina (Gli), por esta razón se les refiere como co-agonistas del R-NMDA. En el SNC la concentración de Gli en el medio extracelular es 1 mM, suficiente para actuar como co-agonista y que el Glu active a este receptor². Otras características importantes son su alta permeabilidad a Ca⁺⁺, su facilidad al bloqueo por Mg⁺⁺ extracelular y su sensibilidad al voltaje, ya que cuando se despolariza la membrana celular se reduce la afinidad del sitio de unión por el Mg⁺⁺ y se elimina el bloqueo⁸.

Los receptores NMDA funcionales generalmente se forman por heterotetrámeros integrados por dos dímeros conformados por las subunidades NR1-NR2, en donde en la subunidad NR1 posee un sitio de unión para glicina cada una y en la subunidad NR2 con un sitio de unión para glutamato en cada una de ellas, es decir 2 sitios de unión para glicina (S1) y dos para glutamato (S2) en cada receptor⁹⁻¹¹. Por tanto, el dímero NR1-NR2 se considera la estructura base de organización funcional en cada receptor en donde se localizan los diversos sitios de unión y de reconocimiento para diferentes ligandos, tanto fisiológicos como farmacológicos. Así, cada subunidad de receptores ionotrópicos posee una estructura molecular muy semejante, el cual se organiza en cuatro dominios funcionales que son: un dominio extracelular con el amino (N) terminal (DNT), un dominio de unión para el ligando (DBL), una región transmembrana, formado por cuatro segmentos hidrofóbicos (M1 a M4) en donde el segmento M2 que ingresa parcialmente a la membrana conforma el canal iónico y finalmente un dominio del carboxilo (C) en la región intracelular (DCT) (fig. 3). Adicionalmente, a los sitios naturales de unión para glicina y para glutamato en el dímero NR1-NR2, particularmente, en la región extracelular de NR2 posee sitios de unión para ligando endógenos como las poliaminas, sitio de redox para protones y para el zinc que pueden ejercer un efecto regulador de la actividad del receptor NMDA al permitir el incremento o la disminución del flujo de calcio a través de la actividad del receptor bajo condiciones fisiológicas y/o patológicas. Mientras que, los ligandos exógenos para esteroides, etanol, ifenprodil, así como algunas moléculas sintéticas que sirven como

herramientas experimentales para el estudio de las propiedades del receptor NMDA y facilitar el desarrollo de antagonistas de utilidad terapéutica.

Los homómeros de la subunidad NR2 no generan receptores funcionales, por lo cual solo se les considera como moduladores, y los homómeros de la subunidad NR1 dan como resultado canales que aunque son activados por Glu o NMDA, en presencia de Gli, presentan corrientes de muy baja amplitud con respecto a los receptores formados por la combinación de subunidades NR1-NR2⁸.

Trabajos realizados por Das en 1998 demostraron la existencia de dos variantes de la subunidad NR3 (a y b) codificada por genes distintos. La variante NR3a se expresa en todo el SNC y la expresión de la variante NR3b se restringe exclusivamente a las neuronas motoras. La subunidad NR3 al igual que la subunidad NR2 es una subunidad reguladora, cuya presencia disminuye las corrientes iónicas generadas por la activación de los heterómeros NR1/NR2. Estudios posteriores demostraron que la co-expresión de NR1/NR3b forma receptores de glicina excitadores, insensibles al Glu, al NMDA, y al bloqueo por Mg⁺⁺, debido a esto se ha propuesto que este tipo de receptores podría intervenir en la activación de las llamadas sinapsis silenciosas de NMDA^{12,13}.

Subunidad NR1

El ARNm de la subunidad NR1 comienza a expresarse en el cerebro de rata, a partir de los 14 días de desarrollo embrionario, aumentando sus niveles gradualmente hasta tres semanas después del nacimiento¹⁴. Existen 8 variantes de procesamiento para el ARNm de NR1 (NR1-1a/4a y NR1-1b/4b) que difieren entre sí por la presencia o ausencia de una secuencia de 21 aminoácidos (N1: exón 5) en la región N-terminal (fig. 4), y el procesamiento diferencial de los exones 21 y 22 que da lugar a cambios en las secuencias de la región C-terminal (unidades C1, C2 y C2')^{15,16} (figs. 5 y 6). La región N1 es importante en la regulación de las propiedades del canal, ya que modifica su sensibilidad a espermina, al pH y al zinc¹⁷. En las isoformas que contienen el exón N1, ni las poliaminas ni el Zn⁺ potencian la estimulación por Glu, posiblemente por su naturaleza catiónica y su

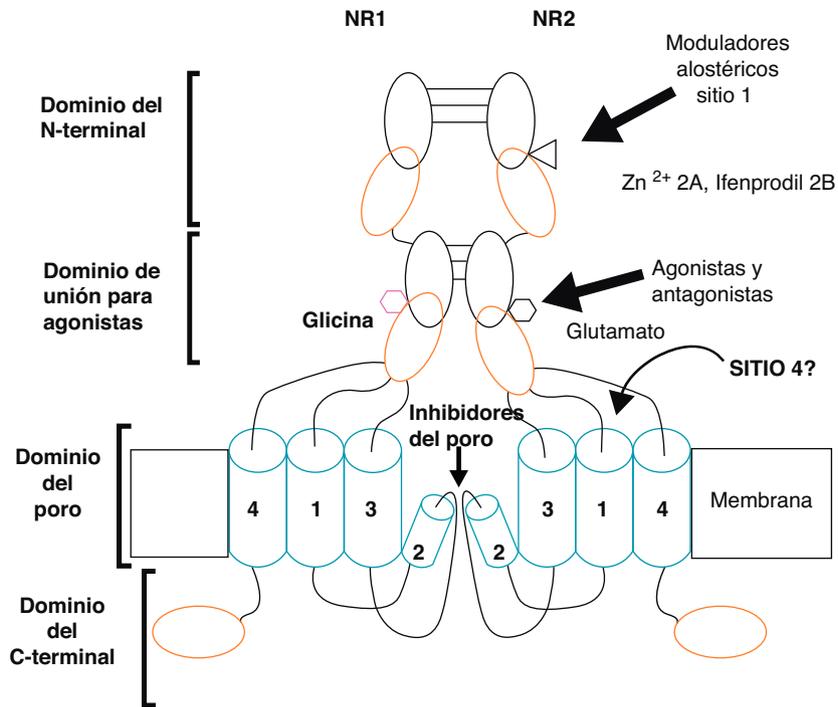


Figura 3 Representación esquemática de la estructura del receptor a glutamato tipo NMDA y sus sitios de regulación farmacológica.

repulsión por el exón. También se relacionan con la presencia del exón N1, propiedades como la afinidad de los receptores por los agonistas, y su sensibilidad a los antagonistas APV (ácido D-(–)-2-amino-5-fosfonopentanoico), CPP, 7-CK y MK-8 01. La sensibilidad al pH de los NMDAR es determinado por la presencia del exón 5. A pH fisiológico los receptores que incluyen esta variante se activan completamente, mientras que los receptores que carecen del exón 5 están inhibidos de forma parcial^{18,19}.

Por otra parte, los exones de la región C-terminal tienen un papel importante en la regulación y localización del NMDAR en la membrana celular. Así, el exón 21 codifica para C1, con residuos de ser susceptibles de fosforilación por PKC y PKA, e involucrados en la regulación positiva de NR1 en respuesta a Glu^{20,21} y una diana para la interacción con calmodulina cinasa, que puede modular negativamente la actividad del NMDAR^{22,23}. Además, la región C1 presenta también sitios de interacción con neurofilamentos y

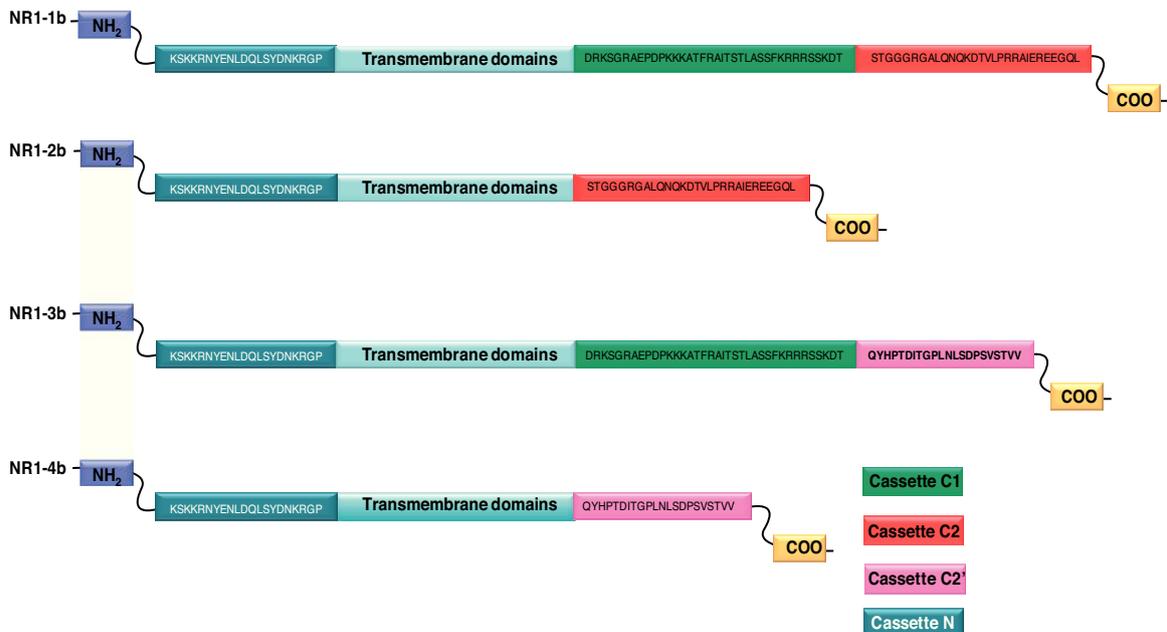


Figura 4 Isoformas de la subunidad NR1 con presencia del exón 5.

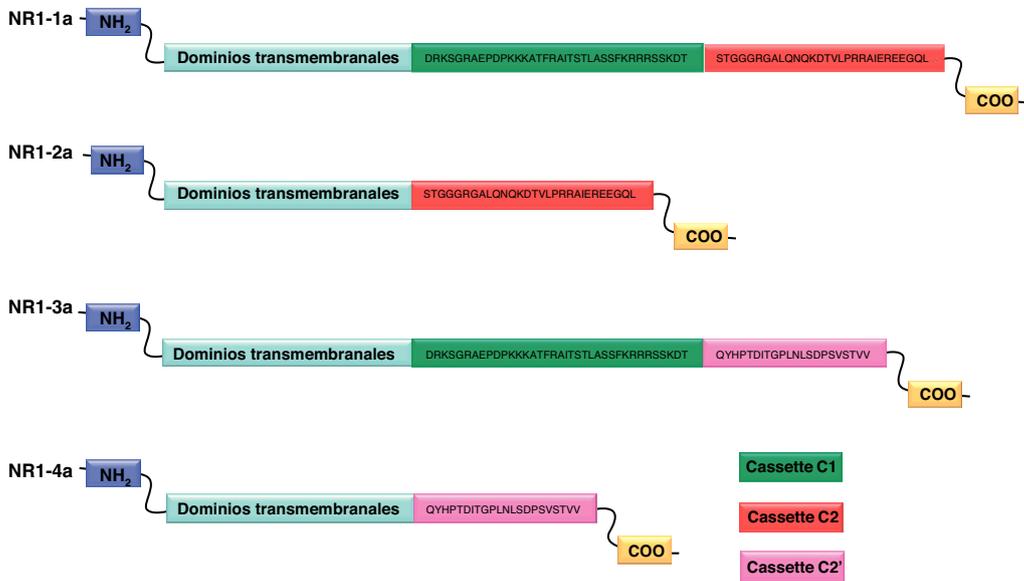


Figura 5 Isoformas de la subunidad NR1 que carecen del exón 5.

secuencias de retención en el retículo endoplásmico (RE) que participan, respectivamente, en el posicionamiento y transporte de los NMDARs a la membrana.

En el procesamiento del exón 22, el uso variable de un sitio aceptor hace posible la expresión, alternativamente, de dos unidades diferentes, C2 o C2'. En la unidad C2', los aminoácidos del extremo C-terminal constituyen un dominio de unión a proteínas PDZ (Postsynaptic Density-95/Discs Large/Zonula Occludens-1-binding Motif), que permiten la asociación del NMDAR en clusters sobre la superficie celular^{24,25}. Además, mediante la interacción con las proteínas PDZ, estos dominios pueden enmascarar las señales de retención en el RE presentes en C1, facilitando el transporte y ensamblaje de los NMDAR a la membrana. En algunas variantes C2', la pérdida adicional de la unidad C1, y la consecuente eliminación de las secuencias de retención en

el RE, promueven aún más la llegada a la membrana de estas formas de NR1²⁶. Los exones C2 y C2' intervienen en el transporte, inserción y mantenimiento de la subunidad NR1 en la membrana sináptica. El exón C2' de la NR1 de la rata contiene una secuencia de interacción con dominios PDZ, a través de la cual el receptor NMDA interactúa con proteínas de la densidad postsináptica, sin embargo, la NR1 de aves y de peces carece de estos dominios. En las aves, el exón C2 contiene un sitio de N-miristoilación, que podría proveer un mecanismo alternativo de anclaje en la membrana, y tanto C2 como C2' contienen dos secuencias consenso para la fosforilación por PKC. Estas características sugieren que los mecanismos que controlan el número de receptores NMDA en la sinapsis y su variación en condiciones fisiológicas y patológicas difieren ampliamente entre las especies.

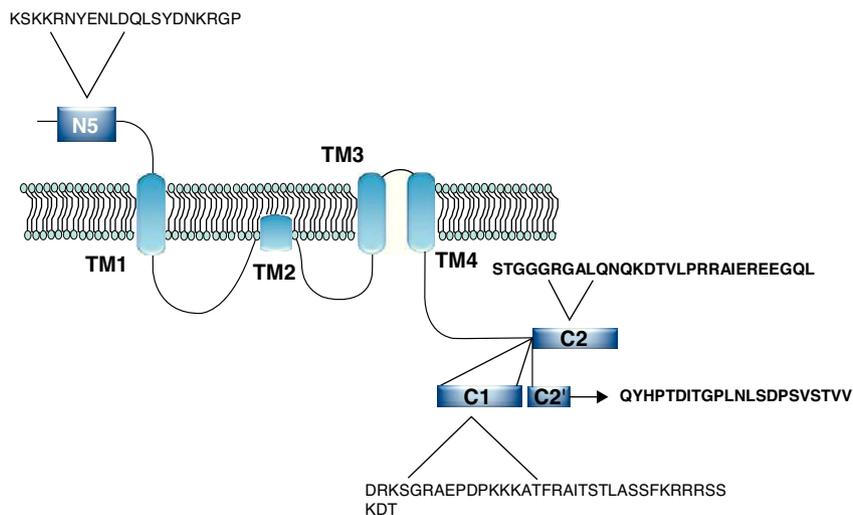


Figura 6 Figura que muestra los distintos sitios de empalme alternativo.

Por otro lado, se ha demostrado que el procesamiento en el sitio C2/C2' está regulado por la actividad sináptica y que existe, por tanto, una relación entre el nivel de actividad, el procesamiento y el tráfico de subunidades a la membrana durante la modificación de sinapsis excitatorias. Trabajos realizados por Kreutz en 1998 han mostrado cambios en la expresión de las isoformas de NR1 en situaciones patológicas, en un modelo experimental de seccionamiento del nervio óptico donde se inducen diferencialmente las isoformas NR1b, que aportan a las células afectadas una ventaja significativa para su supervivencia^{27,28}. Resulta evidente que el tráfico y ensamblaje de las subunidades del NMDAR son procesos finamente regulados y que, particularmente en el caso de NR1 constituyen pasos críticos para su expresión en la membrana plasmática.

Subunidad NR2

En comparación con la subunidad NR1 los patrones de expresión tanto temporales como espaciales son diferentes restringiéndose a ciertos núcleos definidos dentro del SNC cambiando durante su desarrollo²⁹. Esta subunidad es el determinante en la diversidad funcional del receptor NMDA como la sensibilidad, conductancia, cinética de desactivación y de-sensibilización del receptor^{30,31}, influyendo directamente en la duración de las corrientes postsinápticas excitatorias³².

En general, todas las subunidades NR2 presentan un dominio intracelular C-terminal mucho más extenso que el de las subunidades NR1. Mediante el análisis de ratones transgénicos que expresan formas truncadas de NR2, se demostró que el extremo C-terminal es fundamental para la función y localización de estas subunidades en la membrana sináptica³³. Cerca de TM4 existen regiones que intervienen en la internalización dependiente de clatrina, y posterior degradación, de las subunidades NR2A y NR2B. Estas son similares a las que existen en NR1 y en las subunidades NR2C y NR2D. Se ha encontrado un segundo dominio de internalización en la región C-terminal distal de la subunidad NR2B, que se relaciona con la internalización y posterior reciclaje, en vez de la degradación, de esta proteína. En NR2B también existen secuencias de retención en el RE, similares a las de NR1, que podrían enmascararse mutuamente al asociarse las dos subunidades entre sí en el RE³⁴. Las subunidades NR2 además tienen en sus aminoácidos del extremo C-terminal dominios de interacción con proteínas PDZ^{35,36}, que no solo facilitan la asociación de los NMDARs en clusters sobre la superficie celular, sino que al igual que sucede con NR1, pueden contribuir a su estabilidad al enmascarar los dominios de internalización.

Finalmente, la función de las subunidades NR2, de forma similar a NR1, está sujeta a regulación por fosforilación²⁰. Así, la proteína cinasa dependiente de cAMP (PKA) y la proteína kinasa C (PKC) fosforilan *in vitro* residuos de serina y threonina en estas subunidades^{37,38}, resultando en la modulación positiva de la actividad del receptor. Además, estas subunidades son substratos de otras cinasas como Src y Fyn, que fosforilan residuos de tirosina^{39,40}, y median en la susceptibilidad de NR2 a la proteólisis por calpaína.

Características electrofisiológicas del receptor NMDA

Prácticamente, en todos los estudios se ha empleado la subunidad NR1a para ser co-expresada con alguna o varias subunidades NR2. La razón de coexpresar dos tipos de subunidades se basa en estudios anteriores en los que se determinó que la sola expresión de subunidades NR2 no genera receptores funcionales, y que la expresión de canales homoméricos NR1 da como resultado canales que aunque son activados por Glu o NMDA en presencia de glicina y se bloquean por Mg⁺⁺ de manera dependiente del voltaje, presentan corrientes de muy baja amplitud con respecto a los receptores neuronales. En cambio cuando se co-expresan subunidades NR1 y NR2, se observa un aumento en la amplitud de la corriente que es similar a la observada en los receptores nativos. Adicionalmente, la sensibilidad por el L-Glutamato, la desensibilización y la cinética de desactivación son propiedades que también se encuentran influenciadas por la subunidad NR2 y marcan una diferencia en el umbral de activación, modulación y duración de las corrientes postsinápticas excitatorias medidas por el receptor NMDA⁴¹.

El bloqueo por Mg⁺⁺ dependiente de voltaje es mayor a los potenciales negativos en los receptores NR1a/NR2A y NR1a/NR2B (2,4 y 2,1 μ M), comparados con los receptores NR1a/NR2C y NR1a/NR2D (14,2 y 10,2 μ M) por tal motivo los diferentes subtipos de receptores NMDA son activados a distintos rangos de potencial de membrana^{29,42,43}. La constante de tiempo de cierre de estos heterómeros (NR1a/NR2A) es rápida, siendo de 3 a 4 veces menor que la de los heterómeros NR2B o NR2C, y hasta 40 veces menor que la de los heterómeros de la subunidad NR2D²⁹; además estos receptores se distinguen por ser canales de más alta conductancia que los formados por las subunidades NR1a/NR2C y NR1a/NR2D⁴⁴.

La expresión de las subunidades NR1a y NR2B se correlaciona con la distribución de los receptores de NMDA con alta afinidad por los agonistas^{45,46}. En la rata, la subunidad NR2B se expresa predominantemente en el cerebro anterior de los neonatos, así como en el estriado medio y en el cerebelo, del que prácticamente desaparece en los adultos^{29,47-49}. Los estudios funcionales demuestran que los receptores que incluyen esta subunidad presentan una mayor afinidad por los co-agonistas Glu y glicina que los receptores NR1a/NR2A⁴⁵.

Estudios de transfección en sistemas heterólogos demostraron que los heterómeros NR1a/NR2B presentan una mayor permeabilidad e influjo de Ca⁺⁺, se activan a bajas concentraciones de Glu que los heterómeros NR1a/NR2A. La inserción de la subunidad NR1a con la subunidad NR2A y NR2B, forma receptores altamente sensibles al bloqueo por Mg⁺⁺ activándose solamente en condiciones despolarizantes⁴¹.

Estudios en células granulares cerebelares de ratones para la subunidad NR2C demostraron un aumento en las corrientes postsinápticas excitatorias, comprobando la baja probabilidad de apertura de los receptores NR1/NR2C⁵⁰, la amplitud de las corrientes evocadas para estos ratones knockout es dos veces mayor en comparación con los ratones nativos y el decaimiento de las corrientes es más rápido⁵¹.

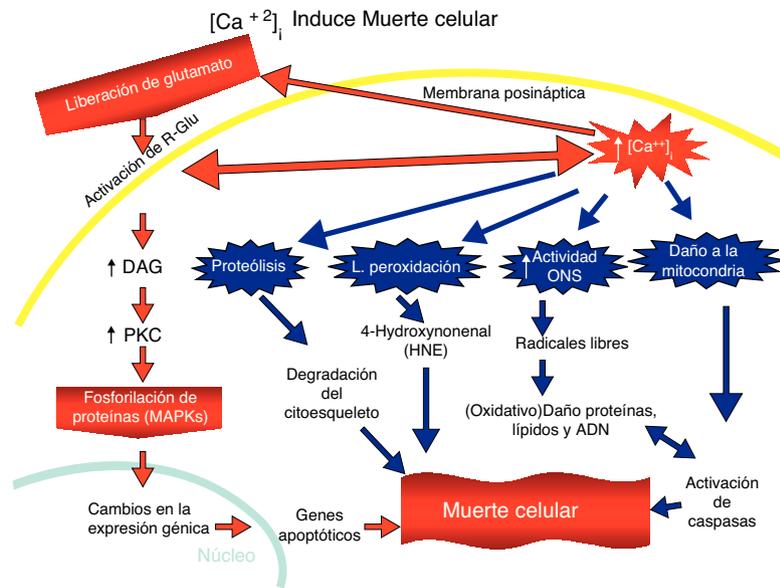


Figura 7 Muerte celular excitotóxica.

Por otro lado, la subunidad NR2D presenta una mayor afinidad al Glu, son poco sensibles al bloque por Mg^{++} y el tiempo de cierre de estos heterómeros es muy lenta, en comparación con los heterómeros NR1a/NR2A, NR1a/NR2B y NR1a/NR2C, por lo que esta subunidad desempeña un papel muy importante en el daño neuronal excitotóxico⁵². Además, esta actividad podría resultar en una lenta pero prolongada entrada de Ca^{++} a la célula que se encuentran expresando esta subunidad, coordinando la actividad pre y postsináptica permitiendo un grado de flexibilidad temporal para la formación de ciertas sinapsis en el desarrollo, que es la etapa de mayor expresión de la subunidad NR2D²⁹.

Mecanismos de excitotoxicidad

La muerte neuronal inducida por una excesiva liberación de Glu y sobreactivación de los receptores a Glu, se conoce como excitotoxicidad⁵³. Este fenómeno se asocia con diversos estados patológicos del SNC, entre los que se incluyen: la epilepsia⁵⁴, hipoxia/isquemia y trauma. Además, se le implica en Huntington, Alzheimer y el Parkinson^{55,56}.

La sobreactivación de los receptores a Glu principalmente el tipo NMDA es uno de los procesos implicados en la neurodegeneración y muerte celular presentes en diversas patologías⁵⁷. Esta produce una elevación de Ca^{++} intracelular que promueve la lipoperoxidación (LP) de la membrana citoplasmática, retículo endoplasmático (RE) y la mitocondria⁵⁸. Esta lipoperoxidación se debe a la producción de óxido nítrico (ON) y radicales superóxido (O_2^-), los cuales forman peroxinitros, también se genera 4-hidroxinonenal (HNE) que altera la actividad de los transportadores de la membrana y canales iónicos cuando los lípidos de las membranas son peroxidados⁵⁹. También la LP induce daño a la ATPasa Na^+/K^+ , a los transportadores de glucosa y de Glu como parte del proceso excitotóxico, perturba la homeostasis iónica en el RE y mitocondria, comprometiendo el abastecimiento de ATP^{58,59}.

El aumento en la concentración intracelular de Ca^{++} desencadena la activación de vías de señalización intracelular relacionadas con la muerte celular apoptótica como son: la activación de diferentes enzimas dependientes de Ca^{++} (proteasas, nucleasas y fosfolipasas)⁵⁸. Además la excitotoxicidad se correlaciona con la activación de MAPKs⁶⁰ (fig. 7).

Implicaciones patológicas del receptor NMDA

Se conoce que la modulación de la neurotransmisión excitatoria mediada por los receptores a Glu principalmente los del tipo NMDA tiene importantes implicaciones en el origen del daño y muerte celular que se observa en diversas condiciones como el accidente vascular cerebral, la hipoxia, la isquemia y la epilepsia entre otras, así como en patologías de enfermedades neurodegenerativas crónicas como el Alzheimer, Parkinson, Huntington y la esclerosis lateral amiotrófica (ALS). Todas estas comparten características patológicas comunes de una gradual y selectiva pérdida neuronal, principalmente por sobre activación de los receptores a Glu. Aunque los grupos neuronales primordialmente afectados varían según la enfermedad, y las causas de la muerte neuronal se desconocen, la sobreactivación de los receptores a Glu generalmente conlleva a un aumento en la concentración citoplásmica de Ca^{++} y la generación de especies reactivas de oxígeno, factores que parecen desempeñar un papel muy relevante en los mecanismos de neurodegeneración y muerte neuronal progresiva en estos padecimientos, por ejemplo el Alzheimer y Huntington.

Enfermedad de Alzheimer

La fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer (EA) es altamente compleja e influye directamente en múltiples sistemas tanto metabólicos como de neurotransmisión. Entre sus efectos sobre éstos se tienen alteraciones en el

metabolismo de la proteína precursora de amiloide (APP) y alteraciones en los sistemas de neurotransmisión de tipo colinérgica, adrenérgica, serotoninérgica, dopaminérgica y glutamatérgica⁶¹. Diversos trabajos demuestran que los primeros eventos que ocurren en la patología de la enfermedad de Alzheimer es una alteración de las sinapsis glutamatérgicas que se correlaciona de manera significativa con el grado de deterioro cognitivo de esta enfermedad⁶². Evidencias experimentales, tanto clínicas como moleculares, han demostrado que los receptores a Glu del tipo NMDA son disfuncionales en las primeras etapas de la enfermedad. Estudios *in vitro* realizados por Shankar en el 2007, demostraron que los oligómeros del β A suprimen la potenciación a largo plazo de los receptores a NMDA⁶³. El receptor NMDA no solamente posee un papel importante en la regulación de la actividad sináptica, sino que también participa en el procesamiento de la proteína precursora amiloide (APP), afectando la liberación del péptido β A. La aplicación de β -amiloide promueve la endocitosis de los receptores NMDA en las neuronas corticales, esto permite que en la enfermedad de Alzheimer, estas neuronas expresen un menor número de receptores NMDA, lo que provoca una depresión rápida y persistente de las corrientes evocadas por el NMDA en las neuronas corticales. La endocitosis de los receptores NMDA dependiente del β -amiloide requiere de la participación del receptor nicotínico α -7, de la proteína-fosfatasa 2B (PP2B) y de la tirosina-fosfatasa STEP (*striatal-enriched protein tyrosine phosphatase*). La desfosforilación de la subunidad NR2B (receptor NMDA 2B) del receptor NMDA se correlaciona con la endocitosis del receptor, estos datos indican la presencia de un nuevo mecanismo mediante el cual el β -amiloide puede contribuir a la neuropatología de la enfermedad de Alzheimer, originando una disfunción sináptica a través de inhibir la ubicación funcional los receptores a Glu tipo NMDA a nivel sináptico⁶⁴.

Enfermedad de Huntington

La enfermedad de Huntington es un trastorno neurodegenerativo autosómico dominante causada por una mutación específica en el gen de la proteína huntingtina. Trabajos realizados por Coyle en 1976 demostraron que la inyección de ácido kaínico en el estriado producía lesiones similares a las que se observaron en muestras de tejidos de pacientes con enfermedad de Huntington⁶⁵. En este sentido, se ha propuesto la participación de un mecanismo de excitotoxicidad por la sobreactivación de los receptores de NMDA, que produce un mayor ingreso de Ca^{++} y Na^+ . También la excitotoxicidad de esta patología se puede explicar por una disminución de la recaptura de Glu por las células gliales o el mecanismo recientemente descrito que involucra la coparticipación de los receptores de NMDA y óxido nítrico, este último actuando como radical libre⁶⁶. La utilización de ratones Knockout, apoya la hipótesis según la cual un aumento en la sensibilidad del receptor de NMDA media fenómenos excitotóxicos, específicamente la combinación de subunidades del subtipo que comprende NR1A y NR2B, serían los responsables de la selectiva vulnerabilidad de las neuronas a una neurodegeneración⁶⁷. El análisis post mortem de cerebros de pacientes con enfermedad de Huntington ha reforzado la participación de la excitotoxicidad en la degeneración

selectiva de las neuronas estriatales en estos pacientes. En los núcleos estriados de enfermos de Huntington se ha descrito una disminución en los niveles de expresión tanto del ARNm como de las proteínas de las subunidades del receptor a Glu tipo NMDA, asociándose esta disminución con el grado de degeneración neuronal. Sin embargo, los receptores NMDA se expresan tanto en interneuronas y neuronas de proyección estriatales⁶⁸, como por neuronas del hipocampo y del cerebelo⁶⁹, zonas que no se afectan en la enfermedad de Huntington, por lo que la expresión de receptores NMDA per se no explica la afectación selectivamente de las neuronas estriatales de proyección, o como unas regiones cerebrales son afectadas mientras que otras no. Este hecho sugiere que la composición diferencial de los receptores NMDA en estas zonas del cerebro podría explicar la degeneración selectiva que ocurre en zonas muy específicas en la enfermedad de Huntington. Cabe recordar que la susceptibilidad al daño depende de la composición de las subunidades del receptor a Glu de tipo NMDA, así como de sus patrones de expresión tanto temporales como espaciales. Se sabe que la sensibilidad al bloqueo por Mg^{++} es mayor a los potenciales negativos en los receptores con combinaciones de NR1a/NR2a y NR1A/NR2B (2,4 y 2,1 μM), en comparación con los receptores con combinación integrada por las subunidades NR1a/NR2C y NR1a/NR2D (14,2 y 10,2 μM), así mismo el tiempo de cierre de estos heterómeros es más rápida. Por lo tanto una disminución en la expresión de estas subunidades (NR2A y NR2B) podría asociarse con la susceptibilidad de las neuronas a degenerar por el daño neuronal excitotóxico^{29,42,43}. Esta teoría se refuerza por el hecho de que la huntingtina mutada, potencia la muerte excitotóxica mediada por receptores NMDA que contengan la subunidad NR2B⁷⁰⁻⁷², los cuales se expresan en todas las neuronas estriatales de proyección⁷³, las más afectadas en la enfermedad de Huntington.

Con esta base, se podría concluir de que los avances en la investigación de la biología molecular de los receptores NMDA, resultan importantes ya que se podrían considerar estos como dianas moleculares para el desarrollo de una terapia más efectiva a través del diseño de nuevos agonistas y antagonistas de alta potencia y selectividad en la neurotransmisión glutamatérgica para reducir la neuroexcitotoxicidad que se observa en estas enfermedades neurodegenerativas y condiciones patológicas previamente mencionadas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Orrego F, Villanueva S. The chemical nature of the main central excitatory transmitter: a critical appraisal based upon release studies and synaptic vesicle localization. *Neuroscience*. 1993;56:539–55.
2. Hassel B, Dingledine R. Glutamate. En: Siegel GJ, Brady S, Price DL, editores. *Basic neurochemistry. molecular, cellular and medical aspects*. Albers RW: Academic Press; 2005. p. 267–90.

3. Pigino G, Morfini G, Brady ST. Intracellular trafficking. En: Siegel GJ, Brady S, Price DL, editores. *Basic neurochemistry. molecular, cellular and medical aspects*. Albers: Academic Press; 2005. p. 139–64.
4. Rodríguez A, López Colomé AM. Características farmacológicas de las subunidades de los receptores de glutamato del tipo N-metil-D-aspartato (NMDA). *Salud Ment*. 1997;20:39–47.
5. Ozawa S, Kamiya H, Tsuzuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog Neurobiol*. 1998;54:581–618.
6. Michaelis EK. Molecular biology of glutamate receptors in the central nervous system and their role in excitotoxicity, oxidative stress and aging. *Prog Neurobiol*. 1998;54:369–415.
7. Llansola M, Sanchez-Perez A, Cauli O, Felipe V. Modulation of NMDA receptors in the cerebellum. Properties of the NMDA receptor that modulate its function. *Cerebellum*. 2005;4:154–61.
8. Lynch DR, Guttman RP. NMDA receptor pharmacology: perspectives from molecular biology. *Curr Drug Targets*. 2001;2:215–31.
9. Schorge S, Colquhoun D. Studies of NMDA receptor function and stoichiometry with truncated and tandem subunits. *J Neurosci*. 2003;23:1151–8.
10. Papadakis M, Hawkins LM, Stephenson FA. Appropriate NR1-NR1 disulfide-linked homodimer formation is requisite for efficient expression of functional, cell surface N-methyl-D-aspartate NR1/NR2 receptors. *J Biol Chem*. 2004;279:14703–12.
11. Schüler T, Mesic I, Madry C, Bartholomäus I, Laube B. Formation of NR1/NR2 and NR1/NR3 heterodimers constitutes the initial step in N-methyl-D-aspartate receptor assembly. *J Biol Chem*. 2008;283:37–46.
12. Das S, Sasaki YF, Rothe T, Premkumar LS, Takasu M, Crandall JE, et al. Increased NMDA current and spine density in mice lacking the NMDA receptor subunit NR3A. *Nature*. 1998;393:377–81.
13. Chatterton JE, Awobuluyi M, Premkumar LS, Takahashi M, Talantova Y, Shin M, et al. Excitatory glycine receptors containing the NR3 family of NMDA receptor subunits. *Nature*. 2002;415:793–8.
14. Laurie DJ, Seeburg PH. Regional and developmental heterogeneity in splicing of the rat brain NMDAR1 mRNA. *J Neurosci*. 1994;14:3180–94.
15. Zukin RS, Bennett MV. Alternatively spliced isoforms of the NMDAR1 receptor subunit. *Trends Neurosci*. 1995;18:306–13.
16. Holmes KD, Mattar PA, Marsh DR, Weaver LC, Dekaban GA. The N-methyl-D-aspartate receptor splice variant NR1-4 C-terminal domain. Deletion analysis and role in subcellular distribution. *J Biol Chem*. 2002;277:1457–68.
17. Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev*. 1999;51:7–61.
18. Traynelis SF, Hartley M, Heinemann SF. Control of proton sensitivity of the NMDA receptor by RNA splicing and polyamines. *Science*. 1995;268:873–6.
19. Lyuboslavsky P, French A, Le P, Wyatte K, Thiel WH, Marchan EM, et al. Molecular determinants of proton-sensitive N-methyl-D-aspartate receptor gating. *Low CM, Mol Pharmacol*. 2003;63:1212–22.
20. Tingley WG, Roche KW, Thompson AK, Haganir RL. Regulation of NMDA receptor phosphorylation by alternative splicing of the C-terminal domain. *Nature*. 1993;364:70–3.
21. Bradley J, Carter SR, Rao VR, Wang J, Finkbeiner S. Splice variants of the NR1 subunit differentially induce NMDA receptor-dependent gene expression. *J Neurosci*. 2006;26:1065–76.
22. Ehlers MD, Zhang S, Bernhardt JP, Haganir RL. Inactivation of NMDA receptors by direct interaction of calmodulin with the NR1 subunit. *Cell*. 1996;84:745–55.
23. Rycroft BK, Gibb AJ. Inhibitory interactions of calcineurin (phosphatase 2B) and calmodulin on rat hippocampal NMDA receptors. *Neuropharmacology*. 2004;47:505–14.
24. Okabe S, Miwa A, Okado H. Alternative splicing of the C-terminal domain regulates cell surface expression of the NMDA receptor NR1 subunit. *J Neurosci*. 1999;19:7781–92.
25. Scott DB, Blanpied TA, Swanson GT, Zhang C, Ehlers MD. An NMDA receptor ER retention signal regulated by phosphorylation and alternative splicing. *J Neurosci*. 2001;21:3063–72.
26. Styley S, Roche KW, McCallum J, Sans N, Wenthold RJ. PDZ domain suppression of an ER retention signal in NMDA receptor NR1 splice variants. *Neuron*. 2000;28:887–98.
27. Kreuz MR, Böckers TM, Bockmann J, Seidenbecher CI, Kracht B, Vorwerk CK, et al. Axonal injury alters alternative splicing of the retinal NR1 receptor: the preferential expression of the NR1b isoforms is crucial for retinal ganglion cell survival. *J Neurosci*. 1998;18:8278–91.
28. Virgo L, Dekkers J, Mentis GZ, Navarrete R, De Belleruche J. Changes in expression of NMDA receptor subunits in the rat lumbar spinal cord following neonatal nerve injury. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2000;26:258–72.
29. Monyer H, Burnashev N, Laurie DJ, Sakmann B, Seeburg PH. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron*. 1994;12:529–40.
30. Vicini S, Wang JF, Li JH, Zhu WJ, Wang YH, Luo JH, et al. Functional and pharmacological differences between recombinant N-methyl-D-aspartate receptors. *J Neurophysiol*. 1998;79:555–66.
31. Erreger K, Dravid SM, Banke TG, Wyllie DJ, Traynelis SF. Subunit-specific gating controls rat NR1/NR2A and NR1/NR2B NMDA channel kinetics and synaptic signalling profiles. *J Physiol*. 2005;563:345–58.
32. Lester RA, Clements JD, Westbrook GL, Jahr CE. Channel kinetics determine the time course of NMDA receptor mediated synaptic currents. *Nature*. 1990;346:565–7.
33. Sprengel R, Suchanek B, Amico C, Brusa R, Burnashev N, Rozov A, et al. Importance of the intracellular domain of NR2 subunits for NMDA receptor function in vivo. *Cell*. 1998;92:279–89.
34. Hawkins LM, Prybylowski K, Chang K, Moussan C, Stephenson FA, Wenthold RJ. Export from the endoplasmic reticulum of assembled N-methyl-D-aspartic acid receptors is controlled by a motif in the c terminus of the NR2 subunit. *J Biol Chem*. 2004;279:28903–10.
35. Kornau HC, Schenker LT, Kennedy MB, Seeburg PH. Domain interaction between NMDA receptor subunits and the postsynaptic density protein PSD-95. *Science*. 1995;269:1737–40.
36. Chung HJ, Huang YH, Lau LF, Haganir RL. Regulation of the NMDA receptor complex and trafficking by activity-dependent phosphorylation of the NR2B subunit PDZ ligand. *J Neurosci*. 2004;24:10248–59.
37. Leonard AS, Hell JW. Cyclic AMP-dependent protein kinase γ phosphorylates N-methyl-D-aspartate receptors at different sites. *J Biol Chem*. 1997;272:12107–15.
38. Scott DB, Blanpied TA, Ehlers MD. Coordinated PKA and PKC phosphorylation suppresses RXR-mediated ER retention and regulates the surface delivery of NMDA receptors. *Neuropharmacology*. 2003;45:755–67.
39. Lau GC, Saha S, Faris R, Russek SJ. Up-regulation of NMDAR1 subunit gene expression in cortical neurons via a PKA-dependent pathway. *J Neurochem*. 2004;88:564–75.
40. Sala C, Sheng M. The fyn art of N-methyl-D-aspartate receptor phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96:335–7.
41. Cull-Candy S, Brickley S, Farrant M. NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Curr Opin Neurobiol*. 2001;11:327–35.
42. Burnashev N, Zhou S, Neher E, Sakmann B. Fractional calcium currents through recombinant GluR channels of the NMDA, AMPA and Kainate receptor subtypes. *J Physiol*. 1995;485:403–18.

43. Jatzke C, Watanabe J, Wollmuth LP. Voltage and concentration dependence of Ca(2+) permeability in recombinant glutamate receptor subtypes. *J Physiol.* 2002;538:25–39.
44. Morrisett R. Electrophysiologic characteristics of heteromeric recombinant NMDA receptors: Comparison with native receptors. En: *The Ionotropic Glutamate Receptors.* Monaghan DT, Wenthold RJ (Eds) Humana Press, Nueva Jersey, 1997. p. 157.
45. Buller AL, Larson HC, Schneider BE, Beaton JA, Morrisett RA, Monaghan DT. The molecular basis of NMDA receptor subtypes: native receptor diversity is predicted by subunit composition. *J Neurosci.* 1994;14:5471–84.
46. Erreger K, Geballe MT, Kristensen A, Chen PE, Hansen KB, Lee CJ, et al. Subunit-specific agonist activity at NR2A-, NR2B-, NR2C-, and NR2D-containing N-methyl-D-aspartate glutamate receptors. *Mol Pharmacol.* 2007;72:907–20.
47. Watanabe M, Inoue Y, Sakimura K, Mishina M. Developmental changes in distribution of NMDA receptor channel subunit mRNAs. *Neuroreport.* 1992;3:1138–40.
48. Goebel DJ, Poosch MS. NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1Com, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A. *Brain Res Mol Brain Res.* 1999;69:164–70.
49. Kurkó D, Dezso P, Boros A, Kolok S, Fodor L, Nagy J, et al. Inducible expression and pharmacological characterization of recombinant rat NR1a/NR2A NMDA receptors. *Neurochem Int.* 2005;46:369–79.
50. Lu C, Fu Z, Karavanov I, Yasuda RP, Wolfe BB, Buonanno A, et al. NMDA receptor subtypes at autaptic synapses of cerebellar granule neurons. *J Neurophysiol.* 2006;96:2282–94.
51. Cathala L, Misra C, Cull-Candy S. Developmental profile of the changing properties of NMDA receptors at cerebellar mossy fiber-granule cell synapses. *J Neurosci.* 2000;20:5899–905.
52. Wenzel A, Benke D, Mohler H, Fritschy JM. N-methyl-D-aspartate receptors containing the NR2D subunit in the retina are selectively expressed in rod bipolar cells. *Neuroscience.* 1997;78:1105–12.
53. Olney JW. New insights and new issues in developmental neurotoxicology. *Neurotoxicology.* 2002;23:659–68.
54. Lapouble E, Montécot C, Sevestre A, Pichon J. Phosphinothricin induces epileptic activity via nitric oxide production through NMDA receptor activation in adult mice. *Brain Res.* 2002;957:46–52.
55. Nishizawa Y. Glutamate release and neuronal damage in ischemia. *Life Sci.* 2001;69:369–81.
56. Mattson MP. Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2000;1:120–9.
57. Martin LJ, Al-Abdulla NA, Brambrink AM, Kirsch JR, Sieber FE, Portera-Cailliau C. Neurodegeneration in excitotoxicity, global cerebral ischemia, and target deprivation: A perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *Brain Res Bull.* 1998;46:281–309.
58. Mattson MP, LaFerla FM, Chan SL, Leissring MA, Shepel PN, Geiger JD. Calcium signaling in the ER: its role in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci.* 2000;23:222–9.
59. Mattson MP, Culmsee C, Yu ZF. Apoptotic and antiapoptotic mechanisms in stroke. *Cell Tissue Res.* 2000;301:173–87.
60. Kawasaki H, Morooka T, Shimohama S, Kimura J, Hirano T, Gotoh Y, et al. Activation and involvement of p38 mitogen-activated protein kinase in glutamate-induced apoptosis in rat cerebellar granule cells. *J Biol Chem.* 1997;272:18518–21.
61. Olney JW, Wozniak DF, Farber NB. Excitotoxic neurodegeneration in Alzheimer's disease. New hypothesis and new therapeutic strategies. *Arch Neurol.* 1997;54:1234–40.
62. Coleman PD, Yao PJ. Synaptic slaughter in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2003;24:1023–7.
63. Shankar GM, Bloodgood BL, Townsend M, Walsh DM, Selkoe DJ, Sabatini BL. Natural oligomers of the Alzheimer amyloid-beta protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway. *J Neurosci.* 2007;27:2866–75.
64. Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, Paul S, Moran T, Choi EY, et al. Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. *Nat Neurosci.* 2005;8:1051–8.
65. Coyle JT, Schwarcz R. Lesion of striatal neurones with kainic acid provides a model for huntington chorea. *Nature.* 1976;263:244–6.
66. Petersen A, Mani K, Brundin P. Recent advances on the pathogenesis Huntington disease. *Exp Neurol.* 1999;157:1–18.
67. Zeron MM, Hansson O, Chen N, Wellington CL, Leavitt BR, Brundin P, et al. Increased sensitivity to N-methyl-D-aspartate receptor-mediated excitotoxicity in a mouse model of Huntington's disease. *Neuron.* 2002;33:849–60.
68. Landwehrmeyer GB, Standaert DG, Testa CM, Penney Jr JB, Young AB. NMDA receptor subunit mRNA expression by projection neurons and interneurons in rat striatum. *J Neurosci.* 1995;15:5297–307.
69. Standaert DG, Landwehrmeyer GB, Kerner JA, Penney Jr JB, Young AB. Expression of NMDAR2D glutamate receptor subunit mRNA in neurochemically identified interneurons in the rat neostriatum, neocortex and hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res.* 1996;42:89–102.
70. Zeron MM, Fernandes HB, Krebs C, Shehadeh J, Wellington CL, Leavitt BR, et al. Potentiation of NMDA receptor-mediated excitotoxicity linked with intrinsic apoptotic pathway in YAC transgenic mouse model of Huntington's disease. *Mol Cell Neurosci.* 2004;25:469–79.
71. Li L, Murphy TH, Hayden MR, Raymond LA. Enhanced striatal NR2B-containing N-methyl-D-aspartate receptor-mediated synaptic currents in a mouse model of Huntington disease. *J Neurophysiol.* 2004;92:2738–46.
72. Li L, Fan M, Icton CD, Chen N, Leavitt BR, Hayden MR, et al. Role of NR2B-type NMDA receptors in selective neurodegeneration in Huntington disease. *Neurobiol Aging.* 2003;24:1113–21.
73. Standaert DG, Friberg IK, Landwehrmeyer GB, Young AB, Penney Jr JB. Expression of NMDA glutamate receptor subunit mRNAs in neurochemically identified projection and interneurons in the striatum of the rat. *Brain Res Mol Brain Res.* 1999;64:11–23.