

RECEPTORES POSTSINÁPTICOS DE NEUROTRANSMISORES

(receptores/NMDA/GABA/AMPA/kainato/acetiledina/glicina/glutamato/canal iónico/ionotrópico/metabotrópico)

JUAN LERMA

Instituto Cajal, CSIC. Avda. Doctor Arce, 37. 28002 Madrid

Desde un punto de vista histórico, los mecanismos que llevan la transmisión sináptica química se han dividido en pre- y postsinápticos. Aquellos que tienen que ver con la liberación de neurotransmisor se atribuyen al elemento presináptico, mientras que los que tienen que ver con la respuesta generada por una substancia neurotransmisora forman parte de los elementos postsinápticos. Hablando genéricamente, la información fluye de los elementos pre- a los postsinápticos. Esta división está implícita en la *teoría de la polarización dinámica* propuesta por Cajal hace ahora aproximadamente un siglo (1). Si embargo, aunque la teoría de Cajal sigue siendo válida, el estudio detallado de los mecanismos de la transmisión sináptica ha puesto de manifiesto que los términos pre- y postsináptico son difusos, ya que ambos lados de la sinapsis poseen propiedades comunes y la información puede viajar en ambas sendidos.

Las técnicas modernas están permitiendo establecer la relación existente entre las propiedades electrofisiológicas y farmacológicas de la transmisión sináptica y las propiedades químicas de los ensamblajes macromoleculares, así como su dependencia de la estructura molecular de los canales y receptores. De esta manera, la función sináptica la podemos definir a nivel molecular. Ello se debe principalmente al desarrollo de la técnica de patch-clamp (2), que ha hecho posible, por un lado, el estudio funcional de las neuronas y sus conexiones con un alto nivel de detalle y, por otro, el análisis de los receptores para neurotransmisores y canales iónicos asociados tras su expresión en sistemas heterólogos, como el oocito de *Xenopus* o las líneas celulares. Ello ha significado el advenimiento de una nueva era en el conocimiento de los receptores para neurotransmisores y canales iónicos en general. Este tipo de aproximación está permitiendo mapear los sitios de unión para el neurotransmisor, drogas y toxinas en la molécula del receptor, proporcionando un conocimiento exacto acerca de los mecanismos de acción.

MÚLTIPLES NEUROTRANSMISORES, MÚLTIPLES RECEPTORES

Desde la demostración de la naturaleza química de la transmisión sináptica y hasta no hace tanto tiempo, se pen-

saba que la acetilcolina (ACh) y la noradrenalina eran los únicos neurotransmisores involucrados en la transmisión sináptica tanto en el sistema nervioso periférico como en el sistema nervioso central (SNC). Ahora sabemos que hay, al menos, tres clases de neurotransmisores: aminoácidos, aminas biogénas y péptidos. Sin embargo, de las mil conexiones que cada una de las 10^{12} neuronas de un cerebro humano puede establecer, alrededor del 90% corresponden a sinapsis rápidas, bien excitadoras o bien inhibitorias, donde el neurotransmisor es un aminoácido. En el SNC, el neurotransmisor excitador mayoritario en las sinapsis rápidas es el ácido glutámico. Los principales agentes que median la transmisión sináptica inhibitoria rápida son el ácido γ -aminobutírico (GABA) y la glicina. El GABA media interacciones inhibitorias en la mayor parte del cerebro, mientras que la glicina es el agente inhibidor en una parte de las sinapsis establecidas principalmente en el tronco del encéfalo y la médula espinal. Por el contrario, las aminas y los péptidos tienen la potestad de modular la transmisión sináptica rápida y la excitabilidad neuronal. Cada uno de estos agentes neurotransmisores reconoce una colección de receptores a nivel postsináptico, que presentan un grado de diversidad funcional extraordinariamente amplio e impensable hace sólo unos años.

Si observamos la cara postsináptica de una sinapsis del SNC, se pueden identificar varios elementos (ver 3 para revisión): los receptores del neurotransmisor, la densidad postsináptica y las enzimas que fosforilan y desfosforilan las proteínas que forman esta densidad. El avance en el conocimiento de los receptores para neurotransmisores ha puesto de manifiesto la existencia de dos tipos generales de receptores. Uno forma un canal iónico que es capaz de ligar moléculas de neurotransmisor. La unión de éste induce un cambio conformacional en el canal que desencadena su apertura, permitiéndose el flujo iónico. Son los receptores *ionotrópicos*, que median la señalización mediante un cambio rápido de la conductancia de la membrana. Alternativamente, los neurotransmisores pueden unirse a receptores que no forman canales, sino que su activación induce la aparición de segundos mensajeros. Este tipo de receptor se conoce como *metabotrópico*. A diferencia del primero, que traduce la señal química a eléctrica en una escala temporal breve (milisegundos), la acción de los receptores metabotrópicos se ini-

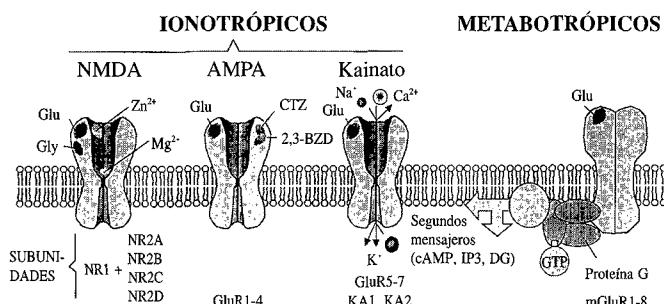


Figura 1. Los receptores de glutamato pueden ser agrupados en dos grandes familias. Los receptores metabotrópicos están acoplados a una proteína G y median su acción a través de segundos mensajeros. Estos son generados por la activación de la Fosfoplasa C, que hidroliza fosfoinositidos, o inhibición de la Adenilato Ciclase, que regula a la baja la actividad de la Proteína kinasa A, dependiente de AMP cíclico (cAMP). IP3, inositol 1,4,5-trifosfato; DG, diacilglicerol.

Los receptores ionotrópicos forman un canal iónico y dan origen a la transducción rápida de las señales. En base a sus propiedades farmacológicas y biofísicas se han dividido en tres clases, los de N-metil-D-aspartato (NMDA), ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico (AMPA) y kainato. Además de los lugares de fijación del agonista, sobre la representación esquemática de cada receptor se indican los sitios descritos de regulación alostérica. CTZ, ciclotiacida; 2,3-BZD, 2,3-benzodiazepina (e.g. GYKI 53655). En la parte inferior se enumeran las subunidades clonadas de cada uno de ellos, cuya combinación da lugar a receptores recombinantes con propiedades funcionales semejantes a las observadas en los receptores nativos.

cia lentamente y persiste durante segundos. Este tipo de receptor juega, principalmente, un papel modulador de la transmisión sináptica rápida y de la excitabilidad neuronal y puede de involucrar, en el proceso de comunicación, a neuronas distantes. Por ello también se denomina *transmisión a distancia*, por *volumen* o por *efecto regadera*.

RECEPTORES POSTSINÁPTICOS. EL CASO DEL GLUTAMATO

El transmisor liberado en la gran mayoría de los contactos sinápticos excitadores en el SNC es el ácido glutámico y las propiedades básicas de los canales iónicos involucrados en su acción son muy similares a las de los receptores nicotínicos de ACh de las fibras musculares esqueléticas. El glutamato reconoce al menos cuatro tipos de receptor. La acción sináptica excitadora rápida de este neurotransmisor se lleva a cabo principalmente por la activación de los receptores ionotrópicos. En base a sus propiedades farmacológicas, éstos pueden ser subdivididos en dos grandes clases: los de NMDA (N-metil-D-aspartato) y los de «no-NMDA» que no reconocen esta sustancia como agonista. Estos últimos incluyen los receptores de AMPA y de kainato. Todos ellos son macroproteínas que forman un poro acuoso que en presencia de agonista se abre para dejar paso a cationes (Na^+ , K^+ y, en algunos casos, Ca^{2+}).

Para el no especialista, es necesario hacer notar que en los tres tipos de receptor el agonista endógeno es el ácido glu-

támico. El NMDA y el AMPA son compuestos sintéticos, mientras que el kainato se extrae de ciertas algas. Esto significa que ninguna de estas sustancias se encuentra en el cerebro, sino que son herramientas farmacológicas que permiten la separación funcional de un receptor de otro.

Los receptores de glutamato están compuestos por diferentes subunidades, que presentan una secuencia aminoacídica relacionada entre sí en mayor o menor grado. La mayoría de estas subunidades han sido analizadas funcionalmente mediante su expresión recombinante en configuración homo- o heteromérica. Estos estudios han puesto de manifiesto que no todas las combinaciones de subunidades generan receptores funcionales, pero las que los forman reproducen las características de los receptores nativos. Estudios más recientes, abordando aspectos estructurales de las subunidades de los receptores de glutamato, han puesto de manifiesto que todas ellas presentan una topología común, diferente de la mostrada por la otra gran familia de receptores ionotrópicos, de ACh, GABA y glicina. Básicamente, la diferencia estriba en que, en vez de presentar 4 segmentos hidrofóbicos que atraviesan la membrana (M1-M4; caso de los receptores de GABA, glicina y ACh), las subunidades de los receptores de glutamato tienen 3 segmentos transmembrana (M1, M3 y M4), disponiéndose el M2 en forma de horquilla, entrando y saliendo de la bicapa lipídica desde la cara intracelular. La figura 2 muestra un esquema de la topología común a las distintas subunidades de receptores de glutamato, donde se indican lugares ya identificados en la secuencia aminoacídica de cada subunidad cuyo cambio tiene consecuencias funcionales.

DOS COMPONENTES MEDIAN LA RESPUESTA DE LAS SINAPSIS GLUTAMATÉRGICAS

Cuando una célula presináptica es estimulada, la respuesta postsináptica presenta dos componentes. Uno es rápido y otro tiene un desarrollo más lento. Estos componentes pueden ser separados farmacológicamente. Como muestra la figura 3, en presencia de APV, un antagonista del receptor de NMDA, el componente rápido queda patente como una corriente de entrada de desarrollo rápido que presenta una desactivación igualmente rápida (pocos ms). Si, por el contrario, se incluye un antagonista del receptor de AMPA (GYKI 53655), entonces se observa que la activación sináptica se desarrolla más lentamente, generándose una corriente entrante que permanece activa por más tiempo que la anterior. Este doble curso temporal, tanto en el desarrollo como en la desactivación de las corrientes sinápticas en una sinapsis glutamatérgica, indica la existencia de, al menos, dos tipos de receptores que son activados por el glutamato liberado sinápticamente. Son los receptores de AMPA y NMDA. Los cursos temporales diferentes se deben pues a la distinta cinética de activación-desactivación que presentan intrínsecamente estos dos tipos de receptores postsinápticos.

Aunque en la mayoría de las sinapsis la respuesta se debe a la activación de receptores de AMPA y NMDA, recientemente se ha establecido que en la sinapsis formada por la fi-

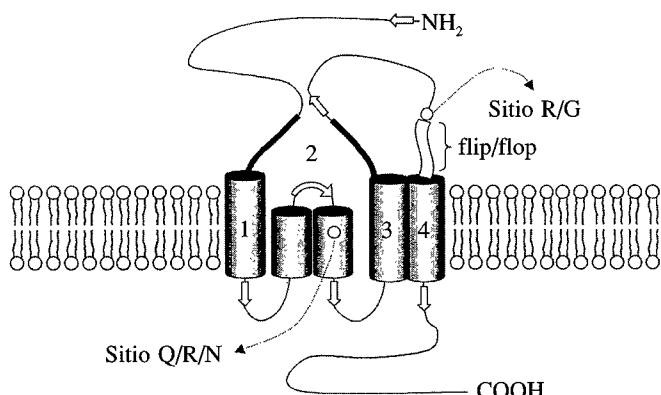


Figura 2. Topología de las subunidades de los receptores de glutamato. La figura representa de manera esquemática la secuencia aminoacídica insertada en la membrana celular. Los segmentos de la molécula que se insertan en la membrana están representados como estructuras cilíndricas. Los segmentos M1, M3 y M4 atraviesan totalmente la membrana, mientras que el segmento M2 forma una horquilla reentrando en la célula. Sobre este esquema aparecen indicados los restos y zonas con importancia funcional. Los segmentos engrosados pre-M1 y post-M3 indican la zona identificada como de reconocimiento para el agonista (Stern-Bach y cols, 1994). En el M2 se marca el lugar aproximado donde se sitúa el lugar que puede contener una glutamina (Q) o una arginina (R) en las subunidades GluR2, GluR5 y GluR6, mientras que es ocupado por una asparragina (N) en los receptores de NMDA. Este residuo determina la permeabilidad a Ca^{2+} del canal iónico. El sitio R/G puede aparecer en forma editada en las subunidades GluR2, GluR3 y GluR4. La zona flip/flop es igualmente específica del receptor de AMPA y consiste en un cassette de 38 aminoácidos cuya presencia en una u otra modalidad está regulada por procesamiento alternativo del mRNA. Tanto el sitio R/G como la zona flip/flop tienen influencia sobre las propiedades de desensibilización de los receptores. Se cree que el receptor de glutamato funcional consiste en una estructura que incluye 5 subunidades.

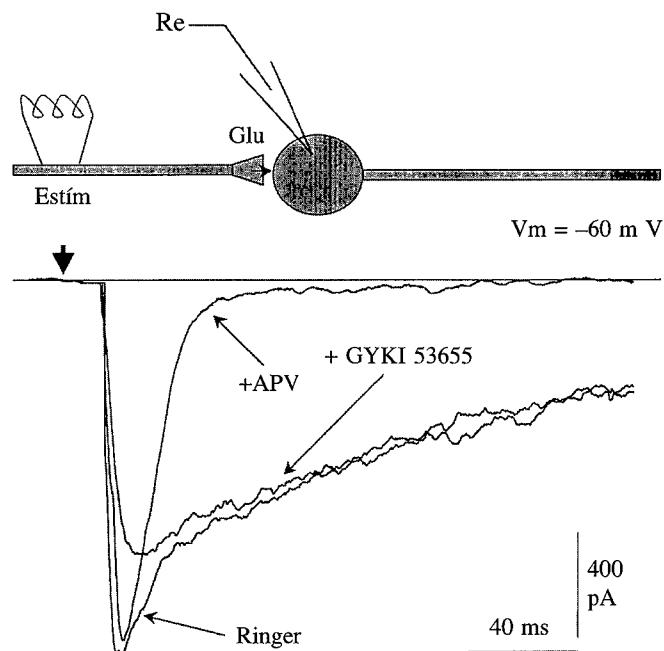


Figura 3. Corrientes en una sinapsis glutamatérgica. La activación sináptica glutamatérgica produce una respuesta con dos componentes que se pueden disecar farmacológicamente. En ausencia de antagonistas y Mg^{2+} (Ringer), la respuesta sináptica presenta dos componentes, uno rápido y otro lento. La adición de un antagonista de los receptores de NMDA (APV) desenmascara la presencia de un componente rápido, que es debido a la activación de los receptores de AMPA. Cuando el registro se realiza en presencia de un antagonista específico de los receptores de AMPA (GYKI 53655), la corriente sináptica queda limitada al componente lento, generado por la activación de los receptores de NMDA.

bras musgosas del hipocampo y las células piramidales de CA3, existe un componente de la respuesta sináptica que es mediada por receptores de kainato. Tal respuesta es puesta de manifiesto únicamente tras la estimulación repetida de las fibras musgosas y presenta una cinética de activación más lenta que la debida a los receptores de AMPA (4, 5). Aunque se desconoce la función que este tipo de respuestas podría jugar en la fisiología sináptica, es claro que añaden un grado de libertad adicional a la transmisión sináptica a este nivel.

Receptores de tipo AMPA. Los receptores de AMPA median la mayor parte de la corriente generada por activación sináptica, y producen la despolarización rápida de la membrana. Existe una familia de subunidades que pueden formar parte de este receptor. Se han identificado 4 genes diferentes con varios productos generados por procesamiento alternativo de los respectivos mRNA. Las subunidades correspondientes se han denominado GluR1 al 4, y pueden estar presentes en la misma neurona en distintas proporciones. Se ha postulado que los receptores nativos de AMPA son pentámeros (constituidos por cinco subunidades), que forman un canal iónico permeable a cationes, principalmente Na^+ y K^+ . Sin embargo, recientemente se ha puesto de manifiesto que aquellos receptores de AMPA que no incluyen la subunidad

GluR2 en su estructura permiten igualmente el paso de Ca^{2+} .

Aunque Ca^{2+} puede ser un portador de carga a través de estos receptores, se desconoce si este ion puede jugar un papel adicional en fenómenos de plasticidad sináptica o muerte neuronal mediados por los receptores de AMPA (para revisión consultar 6).

En los receptores de AMPA se ha identificado un residuo aminoacídico que está regulado por un mecanismo de edición durante la maduración del mRNA. Este residuo se dispone en el dominio membranario M2, que forma parte del canal iónico, en un sitio denominado Q/R. El aminoácido codificado en el genoma es una glutamina (Q). La desaminación de la adenosina a inosina por una enzima específica durante la maduración del mRNA provoca un cambio de anticodón, pasando a codificarse en el mRNA maduro una arginina (R) (7). Este fenómeno no ocurre en todas las subunidades del receptor de AMPA, sino únicamente en la denominada GluR2. Se ha establecido que el 99% de las subunidades GluR2 en un cerebro adulto se encuentran editadas y son fenotípicamente dominantes en el receptor funcional. Aquellos receptores que incluyen GluR2 (editado) en su estructura no son permeables a Ca^{2+} . Se piensa que el control de la expresión de GluR2 representa un mecanismo por el que las neuronas controlan el número de receptores de AMPA permeables a Ca^{2+} (8).

Otro aspecto interesante, revelado por los estudios de estructura-función de los receptores de AMPA, es que las subunidades pueden existir en dos formas diferentes, según presenten un cassette de 38 aminoácidos justo antes del M4. Los receptores de AMPA que incluyen subunidades conteniendo el cassette flop desensibilizan en mayor medida y más rápidamente que aquellas conteniendo cassettes flip. Además, el sitio de edición R/G controla las propiedades de recuperación de la desensibilización de los receptores de AMPA. Como la cinética de desensibilización de los receptores determina la capacidad de respuesta de la célula postsináptica, es claro que las sinapsis con receptores de AMPA que se desensibilicen en menor grado durante la transmisión y/o se recuperen de la desensibilización más rápidamente (caso de receptores conteniendo una G en ese sitio) serán capaces de transmitir mayores frecuencias de impulsos presinápticos. Ambas modificaciones postranscripcionales parecen ser usadas durante el desarrollo para afinar la propiedades cinéticas de los receptores de AMPA y, por consiguiente, la capacidad de transmisión de la información.

Receptores de tipo NMDA. El receptor de NMDA posee varios sitios de regulación (fig. 1). A saber, además del lugar donde se une el agonista endógeno, glutamato, existe un sitio que glicina reconoce con alta afinidad y es diferente del receptor inhibitorio de glicina (ver más adelante). Glicina aumenta la activación del receptor de NMDA de forma dosis-dependiente y se ha demostrado que es un requisito esencial para la activación. Es decir, en ausencia de glicina, el glutamato es inhábil para operar al receptor de NMDA (9). Tenemos pues un receptor que es el único conocido que necesita de la presencia conjunta de dos ligandos para ser activo. Igualmente se conoce la existencia de un lugar modulador negativo que une Zn^{2+} , inhibiendo la activación del receptor de NMDA.

El receptor de NMDA forma un canal catiónico que es bloqueado por concentraciones fisiológicas de Mg^{2+} (10). El bloqueo por Mg^{2+} de los canales de NMDA es evidente en registros de corrientes elementales como las mostradas en la figura 4. Aquí se ha excindido un parche de membrana de una neurona hipocámpica mantenida en cultivo. Al aplicar NMDA en presencia de glicina (Gly), se puede registrar la actividad unitaria de los pocos canales presentes en la porción de membrana excindida. Este registro corresponde al estado estacionario de la respuesta a NMDA, donde 1-3 canales alternan sus aperturas. En a se ha magnificado un fragmento del registro, observándose como el canal asociado al receptor de NMDA fluctúa entre el estado cerrado y abierto, pasando en este último cierto periodo de tiempo. Si el experimento se repite en presencia de Mg^{2+} , entonces las aperturas se ven interrumpidas frecuentemente por numerosas transiciones a un estado aparentemente cerrado, es el estado bloqueado, indistinguible del cerrado puesto que en ambas situaciones el canal no conduce corriente (b representa una fracción expandida del registro). Se ha determinado que las interrupciones breves y frecuentes entre estado conductivo y no conductivo se deben a la entrada y salida del Mg^{2+} del interior canal. El proceso se representa esquemáticamente en la parte inferior de la figura.

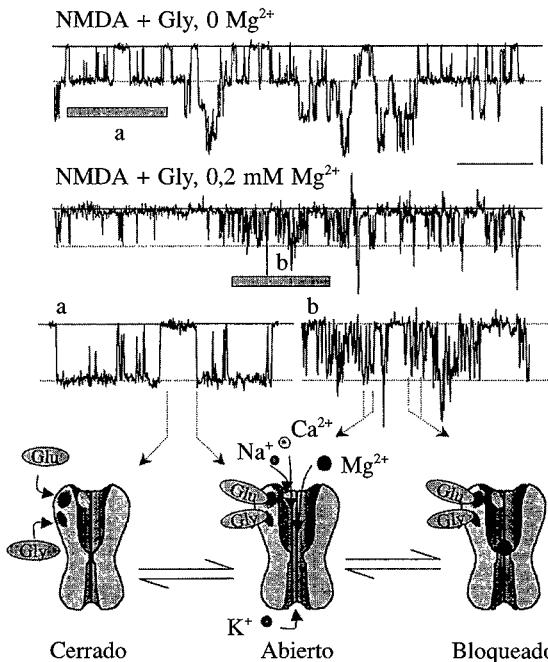


Figura 4. Bloqueo por Mg^{2+} del canal formado por el receptor de NMDA. Los registros muestran las transiciones entre aperturas y cierres de unos pocos canales registrados con la técnica de patch-clamp en un parche de membrana excindido de una neurona hipocámpica en cultivo. El registro ha sido hecho en condiciones de estado estacionario en la presencia continua de NMDA y glicina, en ausencia y presencia de $200 \mu M Mg^{2+}$. Las fragmentos de registro indicados como a y b se muestran a mayor escala temporal en la parte inferior. Obsérvese como, en presencia de Mg^{2+} , las aperturas se ven interrumpidas frecuentemente. Esto se explica por la entrada y salida de los iones Mg^{2+} del canal, bloqueando transitoriamente la permeación a su través, según se muestra en el esquema del inferior de la figura.

Al ser Mg^{2+} una molécula cargada, el bloqueo del canal del receptor de NMDA es dependiente del voltaje transmembrana. Es decir, el grado de inhibición de la respuesta producida por activación de receptores de NMDA es paulatinamente menor a medida que la membrana está menos hipopolarizada, desapareciendo el efecto bloqueante del Mg^{2+} a valores de aproximadamente -30 mV. Por ello, la relación intensidad-voltaje de las respuestas mediadas por estos receptores en presencia de Mg^{2+} presenta una región (entre -60 y -30 mV.) donde la pendiente (la conductancia) es negativa. Este fenómeno se observa en las corrientes generadas sinápticamente. Ello se pone de manifiesto en la figura 5, donde la corriente sináptica se ha medido a dos tiempos diferentes, en función del potencial de membrana establecido. Debido a la diferente cinética de activación de los receptores de AMPA y de NMDA (Figura 3), la medida a tiempos breves representa mayoritariamente el componente sináptico correspondiente a la activación de los receptores de AMPA, mientras que si la medida se realiza a tiempos más tardíos, el valor representa casi exclusivamente la activación sináptica de los receptores de NMDA.

La propiedad más importante del receptor de NMDA es que forma un canal iónico altamente permeable a Ca^{2+} . Esta

vía de entrada de Ca^{2+} al interior celular es funcionalmente importante y parece ser la causa de que la activación del receptor de NMDA sea esencial para disparar fenómenos de plasticidad sináptica, así como fenómenos de muerte neuronal. El bloqueo dependiente de voltaje por Mg^{2+} y la alta permeabilidad a Ca^{2+} del receptor de NMDA proveen el fundamento molecular por el que este receptor está involucrado en el fenómeno plástico conocido como potenciación perdurable de la transmisión sináptica (LTP, del inglés Long Term Potentiation), un modelo de aprendizaje a nivel celular. La característica propiedad asociativa de la LTP es conferida por la necesidad de que la membrana sea depolarizada para permitir que el flujo iónico tenga lugar a través del canal de NMDA, al ser desbloqueado. La subsecuente entrada de Ca^{2+} desencadena los procesos que conllevan el aumento de la eficacia sináptica (11).

Con técnicas de biología molecular se ha determinado la existencia de 5 genes que codifican otras tantas subunidades de receptores de NMDA. La subunidad denominada NR1 presenta 7 isoformas, la presencia de cada cual dota al receptor de propiedades ligeramente diferentes. Esta subunidad es expresada por la mayoría de las neuronas, siendo el elemento común de todos los receptores de NMDA (ver fig. 1). Por el contrario, la familia de subunidades denominada NR2, que tiene cuatro miembros numerados de la A a la D, presenta una expresión regional específica, dotando a los receptores de NMDA que las incluyen de propiedades funcionales particulares.

Al igual que en los receptores de AMPA, se ha identificado un residuo aminoacídico en el canal iónico responsable de la alta permeabilidad a Ca^{2+} . Este corresponde a una asparragina (N) situada en una posición homóloga al sitio

Q/R del resto de los receptores de glutamato. Es por ello por lo que este sitio de control molecular de la permeabilidad a iones divalentes en los receptores de glutamato se conoce como Q/R/N.

Receptores tipo kainato. El papel funcional de los receptores con afinidad alta o intermedia para kainato está empezando a ser conocido (12). Sin embargo desde hace tiempo se conocen evidencias acerca de la existencia de lugares de unión con alta afinidad para kainato en cerebro con una localización diferente a la presentada por los receptores de AMPA. En la actualidad se cree que los receptores de kainato están formados por las subunidades denominadas GluR5, GluR6 y GluR7, en combinación con las denominadas KA1 y KA2. Aunque se han demostrado respuestas funcionales en neuronas de hipocampo mediadas por alguna de estas subunidades, su papel en la transmisión sináptica excitadora es oscuro (13).

RECEPTORES INVOLUCRADOS EN LA INHIBICIÓN SINÁPTICA

Los neurotransmisores inhibidores GABA y glicina hiperpolarizan la membrana postsináptica mediante el aumento de su conductancia a iones cloruro. Esto tiene lugar porque tanto los receptores de GABA como los de glicina son proteínas integrales que forman un canal aniónico. Las secuencias aminoacídicas de las subunidades que componen los receptores de GABA y glicina son parecidas y estructuralmente semejantes a los receptores nicotínicos, presentando notables diferencias con los glutamatérgicos. Se asume, pues, que los receptores de GABA_A y glicina pertenecen a la misma superfamilia génica que los de ACh nicotínicos, ya que todos presentan 4 segmentos α -helicoidales que atraviesan la membrana y, por tanto, presentan una topología transmembranal parecida, disponiéndose los extremos amino- y el carboxi- terminales extracelularmente. El canal activado por GABA tiene, al menos, dos regiones funcionalmente importantes, dado que tanto las benzodiazepinas (e.g. valium) como los barbituratos producen un incremento en la función GABAérgica incrementando la corriente de cloruro producida por GABA. Aunque la composición subunitaria de los receptores de GABA puede ser múltiple y no se conoce con precisión, se ha determinado la existencia de 4 subunidades denominadas α , β , γ y δ . Estas subunidades no se encuentran representadas de igual forma en todos los núcleos del SNC, lo que sugiere cierto grado de diversidad en la composición de los receptores de GABA de acuerdo a la región cerebral. Igualmente cada una de estas subunidades presenta diversidad al existir en variantes múltiples. Por ejemplo la subunidad $\alpha 1$ es expresada mayoritariamente por neuronas pertenecientes a la corteza, el hipocampo y el cerebelo, mientras que la $\alpha 3$ está muy poco presente en cerebelo. Por el contrario, la $\alpha 6$ se expresa casi exclusivamente en las células granulosas del cerebelo. Se ha determinado que las subunidades α y β poseen sitios de reconocimiento para barbitúricos, mientras que las benzodiazepinas reconocen la subunidad γ . El sitio de reconocimiento para el agonista (GABA) se ha situado igualmente

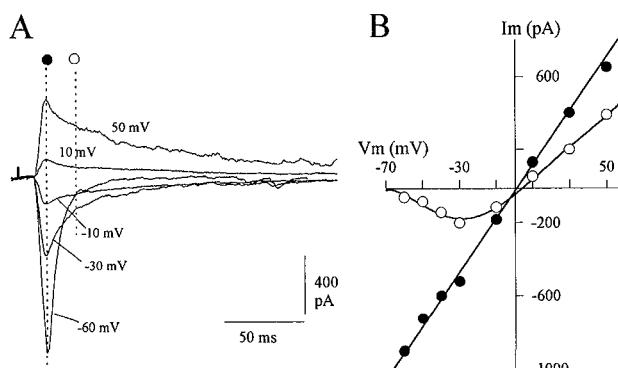


Figura 5. Los componentes de la respuesta sináptica glutamatérgica presentan diferente sensibilidad al potencial de membrana. La corriente sináptica se registró a varios potenciales de membrana tras la estimulación de una célula presináptica, tal y como se muestra en el esquema de la Figura 3. A, la contribución del componente tardío a la corriente sináptica aumenta según la membrana es depolarizada. En B, se representa la variación de la amplitud de la corriente medida tanto al pico como 25 ms después en función del potencial de membrana impuesto. Obsérvese como el componente tardío, pero no el componente temprano, presenta una pendiente negativa en la conductancia (círculos vacíos), otorgada por el bloqueo voltaje-dependiente de los receptores de NMDA por Mg^{2+} .

en las subunidades α y β , por lo que es fácil deducir que un receptor con sensibilidad a benzodiazepinas debe estar formado al menos por subunidades α , β , y γ . Más recientemente, se ha aislado otra subunidad denominada ρ , preferentemente expresada por células de la retina de vertebrados. Los receptores que incluyen esta subunidad forman un canal iónico permeable a cloruro pero no son sensibles a las benzodiazepinas ni a los barbitúricos. Se han denominado receptores GABA_C y, al contrario que los GABA_A, no son inhibidos por bicuculina. Con mayor sensibilidad al GABA que los receptores GABA_A, los receptores GABA_C probablemente median la inhibición lateral a las respuestas lumínicas en la retina.

RECEPTORES METABOTRÓPICOS

Aparte de la familia de receptores que forman y operan canales directamente, como son los de ACh nicotínicos, GABA, glicina, AMPA, NMDA y kainato, existe una gran familia de receptores para neurotransmisores que ejercen su efecto mediante la interacción con un grupo de proteínas reguladoras que tienen la característica de unir GTP y que por ello se denominan Proteínas G. Este tipo de receptores, llamados metabotrópicos, son utilizados en diversas vías de señalización, no sólo de neurotransmisores sino también de una gran cantidad de mensajeros extracelulares, tales como sustancias olorosas y hormonas. Esta familia incluye receptores α - y β -adrenérgicos, de dopamina, serotonina, ACh muscarínicos, rodopsina y una gran variedad de peptidos. El ácido glutámico es también activo en este cuarto tipo de receptores, a través de los cuales es capaz de modificar la concentración de mensajeros intracelulares, como el diacilglicerol, inositol trifosfato y Ca²⁺ (mediante la activación de la fosfolipasa C) y el AMP cíclico (inhibiendo la adenilato ciclase). Este tipo de actividad lleva consigo un efecto modulador de la transmisión sináptica. Los receptores metabotrópicos se localizan tanto a nivel presináptico, donde regulan la liberación de neurotransmisor, como a nivel postsináptico modulando canales iónicos y receptores ionotrópicos. Los receptores metabotrópicos ejercen, por tanto, un efecto modulador en las sinapsis rápidas, bien mediante cambios en la liberación de neurotransmisor o modificando la sensibilidad de otros receptores o canales iónicos. De esta manera pueden producir alteraciones de la eficacia de las conexiones sinápticas, contribuyendo a una de las más importantes propiedades sinápticas: la capacidad de ser plástica.

Desde el punto de vista molecular, los receptores metabotrópicos, están constituidos por una única subunidad proteica que atraviesa la membrana 7 veces (por ello esta familia también se conoce como de receptores con 7 dominios transmembrana). Los receptores metabotrópicos de glutamato (mGluRs) contienen un dominio extracelular de gran longitud donde se localiza el sitio de reconocimiento para glutamato. El dominio intracelular contiene las regiones donde se produce la interacción con las proteínas G, así como numerosos sitios de fosforilación para proteínas kinasas. Por el momento se han identifica-

do hasta ahora 8 receptores, denominados mGluR 1 a 8, que se pueden clasificar en 3 grupos generales de acuerdo al perfil farmacológico y al mecanismo de transducción. El grupo I está constituido por los mGluR 1 y 5; el grupo II por los mGluR 2 y 3 y el grupo III por los mGluR 4, 6, 7 y 8. Además y al igual que para los receptores ionotrópicos, existen varias isoformas de algunos de estos receptores metabotrópicos generadas por procesamiento alternativo de sus RNA mensajeros (ver Pin y Bockaert, 1995).

Los mGluR del grupo I estimulan la fosfolipasa C con el consiguiente aumento de inositol trifosfato (IP₃) y de diacilglicerol. El aumento de la concentración intracelular de IP₃ provoca a su vez la liberación de Ca²⁺ de compartimentos intracelulares y, junto al diacilglicerol, provoca la activación de la Proteína Kinasa C. Los mGluR de los grupos II y III están acoplados a la Adenilato Ciclase produciendo su inhibición. Por tanto, la activación de algunos receptores metabotrópicos producen una disminución de AMPc intracelular y de aquellos procesos modulados por este segundo mensajero (p.ej. la actividad de la Proteína Kinasa A). Además se ha descrito que, a través de la proteína G, pueden estar directamente acoplados a canales de Ca²⁺, impidiendo su apertura.

Al igual que otros receptores metabotrópicos, los mGluR no sólo se disponen presinápticamente para modular la liberación de neurotransmisor, sino también a nivel postsináptico donde modulan la actividad de receptores ionotrópicos implicados en la transmisión sináptica rápida tanto en sinapsis excitadoras (los receptores de AMPA y NMDA) como inhibidoras (receptores GABA_A).

CONCLUSIONES

En las sinapsis excitadoras del cerebro de los vertebrados el neurotransmisor liberado es glutamato, que reconoce específicamente una serie de receptores postsinápticos. La sinapsis rápidas inhibidoras utilizan igualmente aminoácidos como agentes neurotransmisores, GABA o glicina. Hace pocos años la transmisión sináptica mediada por la activación de estos receptores parecía ser un fenómeno razonablemente sencillo. El fenómeno se ha revelado mucho más complejo. Sin embargo, las bases moleculares de la transmisión sináptica empiezan a ser bien entendidas, comenzándose a conocer en detalle las moléculas involucradas en este proceso así como los mecanismos involucrados en la señalización y su modulación. Durante los últimos años las técnicas genuinamente electrofisiológicas, como la de patch-clamp, en combinación con técnicas de biología molecular han puesto de manifiesto la existencia de familias génicas que codifican para un gran número de receptores glutamatérgicos, GABAérgicos y, en menor medida, glicinérgicos. Estos conocimientos están sentando las bases para el diseño racional de drogas que mediante la interacción con los receptores para los neurotransmisores sean capaces de ejercer las acciones terapéuticas convenientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ramón y Cajal, S. (1891) Significación fisiológica de las expansiones protoplásmicas y nerviosas de las células de la substancia gris. *Gaceta Sanitaria de Barcelona*, **17**, 1-15.
2. Hamill, O.P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B. & Sigworth, F.J. (1981) Improved patch-clamp techniques for high resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch.* **391**, 85-100.
3. Ziff, E.B. (1997) Enlighenting the postsynaptic density, *Neuron* **19**, 1163-1174.
4. Castillo, P.E., Malenka, R.C. & Nicoll, R.A. (1997) Kainate receptors mediate a slow postsynaptic current in hippocampal CA3 neurons. *Nature* **388**, 182-186.
5. Vignes, M. & Collingridge, G.L. (1997) The synaptic activation of kainate receptors. *Nature* **388**, 179-182.
6. Hollmann, M. & Heinemann, S.F. (1994) Cloned glutamate receptors. *Ann. Rev. Neurosci.* **17**, 31-108.
7. Higuchi, M., Single, F.N., Köhler, M., Sommer, B., Sprengel, R. & Seuberg, P.H. (1993) RNA editing of AMPA receptor subunit GluR-B: a base-paired intron-exon structure determines position and efficiency. *Cell* **75**, 1361-1370.
8. Lerma, J., Zukin, R.S. & Bennett, M.V.L. (1990) Glycine decreases desensitization of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors expressed in *Xenopus* oocytes and is required for NMDA responses, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**: 2354-2358.
9. Lerma, J. (1997) Kainate reveals its targets. *Neuron* **19**, 1155-1158.
10. Stern-Bach, Y., Bettler, B., Hartley, M., Sheppard, P. O., O'Hara, P. J., and Heinemann, S. F. (1994) Agonist selectivity of glutamate receptors is specified by two domains structurally related to bacterial amino acid-binding proteins. *Neuron* **13**, 1345-1357.
11. Nicoll, R.A. & Malenka, R.C. (1995) Contrasting properties of two forms of Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* **377**, 115-118.
12. Lerma, J., Morales, M., Vicente, M.A. and Herreras, O. (1997) Glutamate receptors of the kainate type and synaptic transmission, *Trends in Neurosci.* **20**, 9-12.
13. Rodríguez-Moreno, A., Herreras, O. & Lerma, J. (1997) Kainate Receptors Presynaptically Downregulate GABAergic Inhibition in the Rat Hippocampus. *Neuron* **19**, 893-901.
14. Pin J.P. and Bockaert, J. (1995) Get receptive to metabotropic glutamate receptors. *Curr Opin Neurobiol.* **5**, 342-349.

CONCEPTOS CLAVE

- Al menos hay tres clases de neurotransmisores: aminoácidos, aminas biogénas y péptidos.
- De las mil conexiones que cada una de las 10^{12} neuronas de un cerebro humano puede establecer, alrededor del 90% corresponden a sinapsis rápidas donde el neurotransmisor es un aminoácido, excitador o inhibidor.
- En el sistema nervioso central, el neurotransmisor excitador mayoritario en las sinapsis rápidas es el ácido glutámico. Los principales agentes que median la transmisión sináptica inhibitoria rápida son el ácido γ -aminobutírico (GABA) y la glicina.
- La activación de los receptores *ionotrópicos* induce un cambio conformacional que desencadena la apertura del canal iónico, mediando un incremento rápido de la conductancia de la membrana. Los neurotransmisores también reconocen receptores cuya activación induce la aparición de segundos mensajeros (receptores *metabotrópicos*). La acción de los receptores metabotrópicos se inicia lentamente y persiste durante segundos.
- La gran familia de receptores metabotrópicos ejerce su efecto mediante la interacción con un grupo de proteínas reguladoras que tienen la característica de unir GTP y que por ello se denominan Proteínas G. Este tipo de receptores son utilizados en diversas vías de señalización, no sólo de neurotransmisores sino también de una gran cantidad de mensajeros extracelulares, tales como sustancias olorosas y hormonas.
- Tanto farmacológicamente como funcionalmente, los receptores de glutamato pueden ser subdivididos en dos grandes clases: los de NMDA (N-metil-D-aspartato) y los de «no-NMDA». Estos últimos incluyen

yen los receptores de AMPA y de kainato. Todos ellos son estructuras heteroméricas compuestas por diferentes subunidades.

- La respuesta postsináptica excitatoria debida a la liberación de glutamato presenta dos componentes. Uno es rápido y otro tiene un desarrollo más lento. Estos componentes pueden ser separados farmacológicamente y corresponden a la activación de receptores de AMPA y NMDA.
- En los receptores de AMPA se ha identificado un residuo aminoácido que está regulado por un mecanismo de edición durante la maduración del mRNA. Este residuo se dispone en el dominio membranario M2 (sitio Q/R), que forma parte del canal iónico y controla la permeabilidad del canal a Ca^{2+} .
- El receptor de NMDA posee numerosos sitios de regulación y es el único conocido que necesita de la presencia conjunta de dos ligandos (glutamato y glicina) para ser activo.
- El receptor de NMDA forma un canal catiónico que es bloqueado por concentraciones fisiológicas de Mg^{2+} . Ello otorga a la activación de este receptor de voltaje-dependencia.
- La propiedad más importante del receptor de NMDA es que forma un canal iónico altamente permeable a Ca^{2+} . Esta vía de entrada de Ca^{2+} al interior celular es funcionalmente importante y parece ser la causa de que la activación del receptor de NMDA sea esencial para disparar fenómenos de plasticidad sináptica, así como fenómenos de muerte neuronal.
- Los barbitúricos y las benzodiacepinas actúan sobre el receptores de GABA. Tanto las benzodiazepinas (e.g. valium) como los barbituratos producen un incremento en la función GABAérgica incrementando la corriente de cloruro producida por GABA.