

ARTÍCULO DIVULGATIVO:

Los receptores de glutamato como dianas moleculares en la terapia de enfermedades neurológicas

Dra. Sonia Marco¹, Dra. Isabel Pérez Otaño¹ y Dr. Rafael Luján²

¹Centro de Investigación Médica Aplicada- Lab. Neurobiología Celular (Dpto Neurociencias)

²Universidad de Castilla La Mancha- Dpto Ciencias Médicas (Facultad de Medicina)

Resumen

El aminoácido dicarboxílico L-glutamato es uno de los neurotransmisores más abundantes en el sistema nervioso, donde actúa como mediador de la comunicación y plasticidad sináptica, en mecanismos de muerte neuronal o en enfermedades neurológicas graves como el Alzheimer, Parkinson ó la isquemia cerebral. El glutamato realiza su acción excitadora actuando sobre receptores específicos localizados en la superficie neuronal. Existen dos tipos principales de receptores de glutamato: receptores ionotrópicos y receptores metabotrópicos. Los primeros son canales iónicos regulados por ligando, mientras que los segundos no forman canales, sino que se encuentran acoplados a proteínas G y modulan la producción de segundos mensajeros intracelulares. Posiblemente, existen más estudios sobre los receptores del glutamato que sobre cualquier otro sistema neurotransmisor, lo que ha permitido un mejor conocimiento del funcionamiento del sistema nervioso. Asimismo, ha abierto las puertas para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas frente a patologías causadas por alteraciones de la neurotransmisión glutamatérgica.

Introducción

El cerebro está constituido por dos tipos de células, las neuronas y las células gliales, que se diferencian entre sí por su morfología, estructura, bioquímica y, especialmente, por su función. Sin minimizar el papel desempeñado por las células gliales, las cuales hoy día se sabe que cumplen funciones más allá del mero soporte estructural y metabólico, las neuronas juegan un papel central. Ello es debido a que son las células cerebrales encargadas de percibir los cambios que se producen en el medio ambiente, comunicar estos cambios a otras neuronas y, finalmente, producir respuestas adecuadas a dichos cambios. En la mayoría de los casos, este proceso esencial de comunicación neuronal se lleva a cabo mediante la liberación de pequeñas cantidades de mensajeros químicos, denominados *neurotransmisores*. Estos mensajeros químicos modifican la actividad eléctrica de las neuronas mediante su unión a receptores localizados en la superficie neuronal, lo que induce cambios funcionales en las neuronas. Este proceso de comunicación neuronal se lleva a cabo en lugares especializados denominados *sinapsis*, consideradas como la unidad elemental del procesamiento de información en el cerebro.

Dentro de la compleja maquinaria sináptica cabe destacar el papel central desempeñado por los receptores de neurotransmisores. La actividad de los neurotransmisores en las sinapsis está mediada por dos tipos de receptores: *ionotrópicos*, que forman canales iónicos y permiten el paso de ciertos iones a través de la membrana plasmática, y *metabotrópicos*, que se encuentran asociados a proteínas G y ejercen una acción moduladora sobre la transmisión sináptica. La importancia del estudio de las sinapsis y,

especialmente, de los receptores de neurotransmisores en la señalización neuronal, estriba en que la mayoría de fármacos de importancia clínica, tales como anestésicos, ansiolíticos, anticonvulsivos, etc., o las farmacoterapias que se emplean en el tratamiento de determinadas enfermedades neurológicas, actúan sobre los mecanismos de acción de los propios receptores de neurotransmisores.

Desde un punto de vista estructural, las sinapsis químicas están constituidas por tres partes: un elemento presináptico, un elemento postsináptico y una hendidura sináptica (**Figura 1**). El *elemento presináptico* lo constituye, por regla general, la terminación nerviosa que contiene y libera el neurotransmisor, almacenado en vesículas sinápticas. La *hendidura sináptica* es un espacio de unos 20-30 nm de espesor que separa el elemento pre- y postsináptico. El *elemento postsináptico* lo compone cualquier compartimento celular de la segunda neurona, enfrentada inmediatamente a la hendidura sináptica. Aunque el axón o el soma de una neurona pueden actuar como elemento postsináptico, los más frecuentes en el cerebro son los troncos dendríticos y las espinas dendríticas. En la cara interna de la membrana postsináptica suele existir un material denso, más o menos prominente según el tipo de sinapsis, que da lugar a la denominada densidad postsináptica.

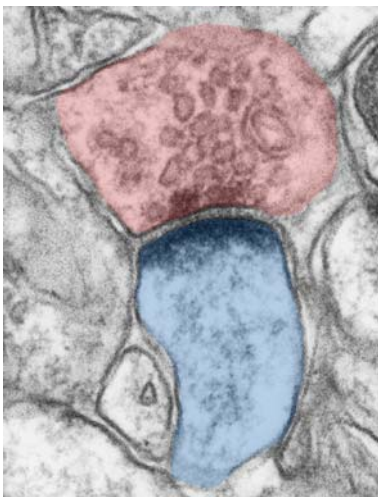


Figura 1. La sinapsis

Microfotografía electrónica donde se aprecia (1) el **elemento presináptico** con las vesículas donde se almacena el neurotransmisor y mitocondrias que suministran energía necesaria para el almacenamiento y liberación del neurotransmisor (en rosa), (2) el **elemento postsináptico**, caracterizado por la densidad postsináptica donde se localizan los receptores específicos para el neurotransmisor (en azul), y (3) la **hendidura sináptica** entre ambos.

Desde un punto de vista molecular, la sinapsis presenta una organización compleja tanto a nivel pre- como postsináptico, y tiene una composición neuroquímica y molecular muy específica, que se extiende a neurotransmisores y sus receptores, enzimas de síntesis, degradación y regulación de neurotransmisor, proteínas de adhesión, proteínas de anclaje y señalización de receptores, etc. Por ejemplo, sólo la cara postsináptica de sinapsis excitatorias contiene entre 600 y 1000 proteínas diferentes!

El glutamato y sus receptores

La mayor parte de la comunicación entre neuronas del sistema nervioso central (SNC) se realiza por aminoácidos que actúan como neurotransmisores. Hasta la fecha, cinco aminoácidos han sido reconocidos como neurotransmisores: ácido γ -aminobutírico (GABA), glicina, taurina, ácido glutámico y ácido aspártico. Los tres primeros tienen efectos predominantemente inhibitorios, mientras que los dos últimos son normalmente excitatorios. Los más abundantes y fisiológicamente más importantes son el glutamato y el GABA. El glutamato media la mayoría de la transmisión sináptica excitatoria. Contribuye además a cambios duraderos en la eficacia sináptica como son la potenciación a largo plazo (LTP) y la depresión a largo plazo (LTD), considerados como el sustrato molecular de procesos de aprendizaje y memoria. Igualmente, el glutamato juega un papel vital durante el desarrollo del SNC, donde participa en procesos fisiológicos tan diversos como la proliferación, maduración, migración y supervivencia neuronal, la formación, remodelación y eliminación de sinapsis. La coordinación de estas funciones

convierte al glutamato en un mediador fundamental del establecimiento y consolidación de circuitos nerviosos. Además, está implicado en patologías como la epilepsia, la hipoxia y las lesiones cerebrales isquémicas, así como en enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer o la corea de Huntington.

Las acciones fisiológicas del glutamato están mediadas a través de la activación de receptores ionotrópicos y metabotrópicos. Los receptores ionotrópicos de glutamato (iGlu) están implicados en la neurotransmisión rápida en el SNC y se clasifican en tres tipos en función del agonista que los activa: receptores NMDA (ácido N-metil-D-aspartico), receptores AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico) y receptores de kainato. Los receptores iGlu forman un canal catiónico que permite el paso selectivo de iones sodio (Na^+), potasio (K^+) ó calcio (Ca^{2+}), produciendo una despolarización de la neurona. Los receptores metabotrópicos de glutamato (mGlu) no forman canales iónicos, sino que están acoplados a proteínas G y regulan la actividad de enzimas de membrana y canales iónicos. De esta forma, los receptores mGlu median la actividad sináptica excitadora lenta, pero prolongada, en el SNC y tienen un papel modulador.

Receptores ionotrópicos de glutamato

Los iGlu son complejos tetraméricos de subunidades del mismo tipo funcional que se ensamblan como un dímero de dímeros formando un canal central por donde fluyen los cationes. Existen 16 subunidades diferentes de receptores ionotrópicos que se agrupan y denominan según integren receptores de tipo NMDA, AMPA o kainato (**Figura 2a**).

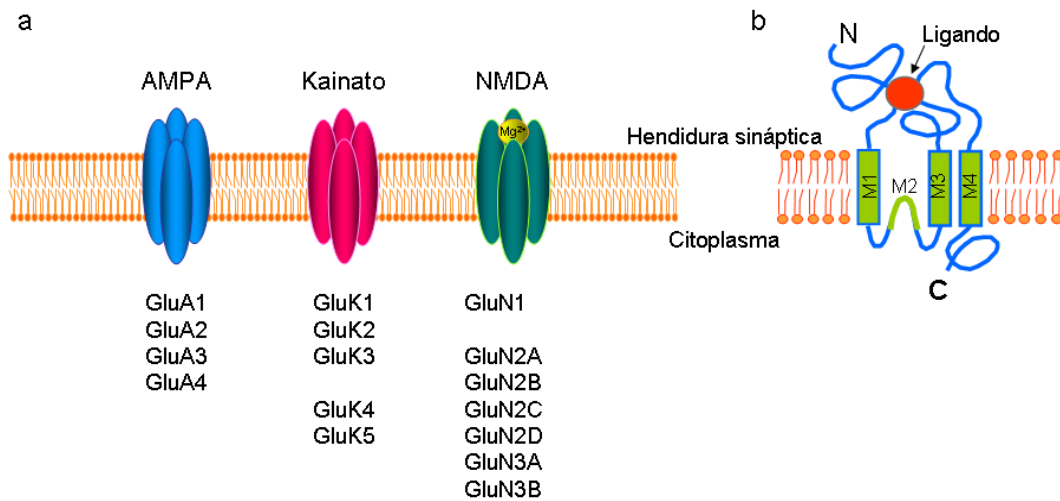


Figura 2. Receptores ionotrópicos del glutamato

Cada subunidad posee 4 dominios: un dominio amino-terminal extracelular, un dominio extracelular de unión al ligando, un dominio transmembrana y un dominio carboxi-terminal intracelular (**Figura 2b**). El dominio transmembrana está formado por tres hélices que atraviesan completamente la membrana plasmática (M1, M3 y M4) y un segmento (M2) que se introduce parcialmente en la membrana para retornar al espacio intracelular, y que forma las paredes del poro. El dominio de unión al ligando está formado por los segmentos extracelulares S1 y S2. S1 se encuentra entre el dominio amino-terminal y el primer segmento transmembranal M1, y S2 entre los segmentos M3 y M4. El dominio carboxi-terminal es el más variable, en términos de secuencia peptídica y longitud, entre las diferentes subunidades. Contiene lugares de fosforilación y regiones de unión a proteínas intracelulares, implicados en la regulación del tráfico y la función del receptor. Las subunidades de receptores AMPA (GluA1-4) y las subunidades de kainato GluK1 a GluK3 pueden ensamblarse para dar lugar a receptores homoméricos (formados por el mismo tipo de subunidades) ó heteroméricos (formados por diferentes subunidades).

En cambio, las subunidades GluK4 y GluK5 forman receptores de tipo kainato funcionales solamente cuando se ensamblan con GluK1 a GluK3. La permeabilidad al calcio de los receptores de tipo AMPA y kainato es baja debido a un proceso de edición del ARNm de subunidades GluA2, GluK1 y GluK2. La edición causa la sustitución de un aminoácido neutro, glutamina, situado en el dominio del poro, por una arginina, cuya carga positiva impide el paso de Ca^{2+} . Este proceso opera en la mayoría de receptores AMPA del SNC y constituye un mecanismo de protección frente al riesgo de excitotoxicidad mediada por una entrada masiva de Ca^{2+} .

Los receptores funcionales de NMDA requieren el ensamblaje de dos subunidades GluN1 (de la que existen 8 isoformas, generadas por procesamiento alternativo de un mismo ARNm) y dos subunidades GluN2 (GluN2A-GluN2D) ó bien una combinación de GluN2 y GluN3 (GluN3A-B). La combinación de subunidades determinará las propiedades del receptor. Las subunidades GluN1 y GluN3 poseen lugares de unión a glicina, mientras que las subunidades GluN2 únen glutamato. Ello determina una característica diferencial de receptores NMDA: su activación requiere la unión simultánea de ambos ligandos, si bien la concentración fisiológica de glicina parece suficiente para mantener sus lugares de unión permanentemente ocupados. Los receptores NMDA tienen además la particularidad de ser dependientes de ligando y voltaje. Normalmente el poro del canal está bloqueado por un ión magnesio (Mg^{2+}) que se libera solamente cuando la membrana postsináptica es despolarizada, permitiendo el flujo de Na^+ , K^+ y Ca^{2+} . Los receptores NMDA integrados por subunidades NR1 y NR2 tienen alta permeabilidad al calcio, mientras que la presencia de la subunidad GluN3A confiere una reducción en la

permeabilidad al Ca^{2+} y una menor sensibilidad al bloqueo del canal por Mg^{2+} . Por ello, esta subunidad considerada atípica actúa como un dominante negativo de la función del receptor. Este comportamiento es crucial durante el desarrollo para establecer una correcta conectividad sináptica, y permite el establecimiento y consolidación de circuitos neuronales adecuados.

El bloqueo por Mg^{2+} dependiente de voltaje convierte a los receptores de tipo NMDA en sensores de actividad coincidente entre los elementos pre- y postsinápticos. La activación de un gran número de aferencias, ó la estimulación repetitiva de la neurona presináptica, libera una cantidad de glutamato suficiente para provocar una despolarización prolongada de la membrana postsináptica como consecuencia de la activación de receptores AMPA, y permite la activación de receptores NMDA. El incremento resultante en la concentración de Ca^{2+} dentro del compartimento postsináptico activa cascadas de señalización intracelular que promueven la inserción de nuevos receptores AMPA, reforzando así la transmisión sináptica. Permite además una reorganización del citoesqueleto de actina que garantiza la permanencia de estos cambios. Este fenómeno, conocido como LTP, induce un cambio persistente en la eficacia sináptica y constituye la base molecular del almacenamiento de información en la sinapsis (**Figura 3**).

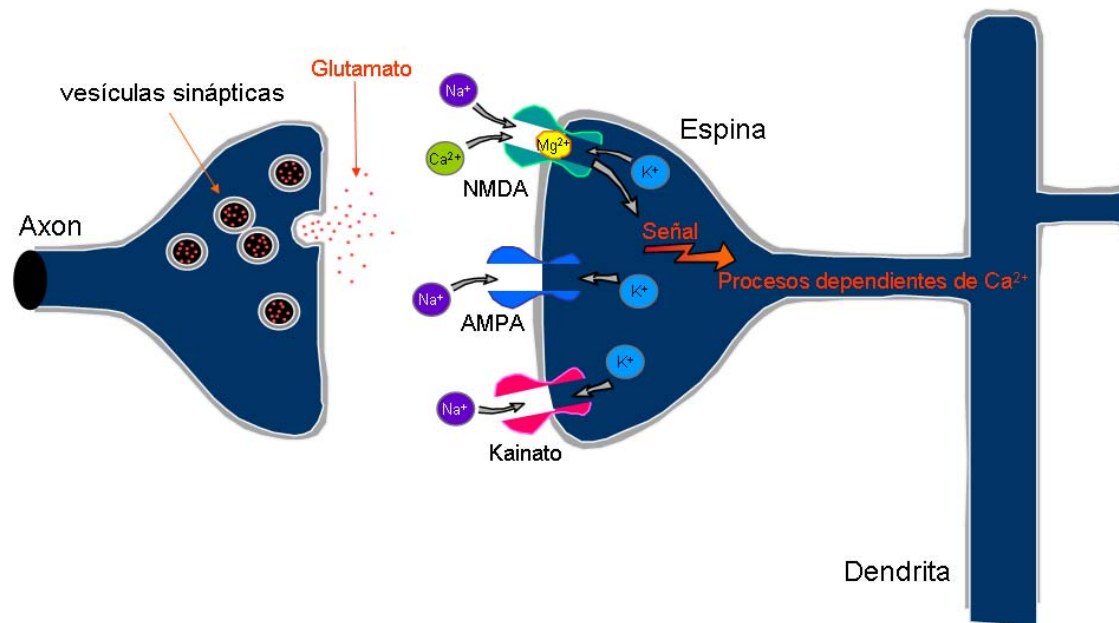


Figura 3. Señalización de receptores ionotrópicos del glutamato

Los receptores metabotrópicos de glutamato

Los receptores mGlu son proteínas integrales de membrana formadas por una única cadena polipeptídica. Presentan un gran extremo amino terminal que se extiende en el espacio extracelular, una porción central constituida por siete segmentos transmembrana con estructura α -helicoidal y un extremo carboxilo terminal localizado a nivel intracelular. Existen ocho subtipos (mGlu₁₋₈) de receptores mGlu, que se clasifican en tres grandes grupos atendiendo a la homología de su secuencia de aminoácidos, a los mecanismos de transducción de señales y a sus propiedades farmacológicas. El grupo I, constituido por mGlu₁ y mGlu₅, estimula la hidrólisis de inosítoles fosfato y la liberación de Ca²⁺ intracelular, y son selectivamente activados por (S)-3,5-dihidroxifenilglicina [(S)-3,5-DHPG]. El grupo II, constituido por mGlu₂ y mGlu₃, está acoplado de forma negativa a la formación de AMPc. El grupo III, constituido por mGlu₄, mGlu₆, mGlu₇ y mGlu₈, inhibe igualmente la formación de AMPc y son selectivamente activados por L-(+)-2-amino-4-fosfobutirato [L-AP4].

Las acciones fisiológicas de los receptores mGlu se llevan a cabo por medio de la movilización de segundos mensajeros intracelulares a través de proteínas G. La activación de los receptores mGlu regula la acción de varias enzimas, entre las que destacan la fosfolipasa C, la proteincinasa C, la fosfolipasa D, la fosfolipasa A2, la adenilato ciclasa, proteincinasa A y la guanilato ciclasa. Asimismo, la activación de los receptores mGlu regula la acción de varios canales iónicos, entre los que destacan los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, los canales de K^+ dependientes de voltaje, los canales de K^+ activados por proteínas G (Kir3) y los canales catiónicos no selectivos.

La activación de los receptores mGlu induce una amplia variedad de cambios en la fisiología neuronal. Existen evidencias que sugieren la participación de los mGlu del grupo I en el incremento de la excitabilidad neuronal en varias áreas del SNC. Esto se debe a la modulación de la actividad de varios canales iónicos dependientes e independientes de voltaje, dando como resultado una despolarización de la membrana, un incremento de la resistencia o una reducción en la frecuencia de disparo.

Los receptores mGlu también están implicados en la reducción de la neurotransmisión en las sinapsis glutamatérgicas. Este efecto está mediado por receptores presinápticos que actúan como autorreceptores reduciendo la liberación de glutamato. Aún no se conoce con detalle el mecanismo por el cual la activación de los receptores mGlu reduce la liberación de glutamato de los terminales presinápticos, es probable que ello se deba a una inhibición de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje.

Uno de los efectos fisiológicos mejor caracterizados de los receptores mGlu es la regulación de la eficacia sináptica. Por ejemplo, la inducción de LTP

en el hipocampo requiere la coactivación de receptores NMDA y mGlu del grupo I. En este caso, la activación de los receptores mGlu modula las respuestas mediadas por los receptores NMDA, potencia la respuesta de los receptores AMPA y reorganiza su localización en la sinapsis.

Aspectos clínicos de los receptores del glutamato

La concentración del glutamato en el espacio extracelular no debe sobrepasar ciertos límites y, por ello, la homeostasis del sistema glutamatérgico (incluyendo su metabolismo, mecanismos de liberación, y abundancia de receptores y transportadores) está altamente regulada. Cuando estos sistemas fallan, se produce una liberación excesiva de glutamato que induce la sobreactivación de receptores de glutamato y ha sido implicada en enfermedades cerebrales graves como la epilepsia o a la muerte neuronal por sobreexcitación en situaciones de hipoxia.

Excitotoxicidad es un término acuñado para describir una activación masiva de receptores de glutamato, en particular del tipo NMDA, que causa muerte neuronal tanto en procesos agudos como isquemia o traumatismos como en procesos crónicos típicos de enfermedades neurodegenerativas, como las enfermedades de Parkinson, de Huntington o de Alzheimer. En la enfermedad de Parkinson, la degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra provoca una sobreactivación de proyecciones glutamatérgicas corticales en el cuerpo estriado, región cerebral implicada en el control del movimiento, al desaparecer la función moduladora inhibitoria de la dopamina. La corea de Huntington es una enfermedad neurodegenerativa causada por la mutación en una proteína llamada huntingtina que promueve,

por un mecanismo todavía desconocido, la degeneración de neuronas del núcleo estriado. En ambos casos, existe un aumento en la excitotoxicidad causada por sobreactivación de receptores NMDA. En la enfermedad de Alzheimer se cree que se produce una liberación patológica de glutamato en cantidad suficiente como para desplazar el ión de Mg^{2+} del canal iónico del receptor NMDA y permitir una entrada de Ca^{2+} constante que eleva los niveles intracelulares basales. Esto provoca una disminución en el cociente señal/ruido y provoca déficits en el aprendizaje y memoria. Los estados hiperalgésicos típicos del dolor neuropático se han también atribuido a alteraciones en la plasticidad de vías neuronales a nivel de la médula espinal.

Toda esta evidencia implicando la excitotoxicidad ó alteraciones en la plasticidad mediada por receptores NMDA en enfermedades cerebrales graves ha dirigido el interés hacia la síntesis de antagonistas de dichos receptores como posibles agentes neuroprotectores. Estudios prometedores en modelos animales de isquemia focal han demostrado una reducción del área afectada por la lesión y una mejora a nivel de comportamiento tras administración de fármacos que bloquean el canal iónico de receptores NMDA

Sin embargo, la inhibición de los receptores NMDA puede alterar la función cognitiva e incluso afectar la función cardiovascular, por lo que los antagonistas de estos receptores presentan numerosos efectos secundarios. Ello ha obligado a suspender estudios clínicos por cuestiones de seguridad. Una notable excepción es la memantina, un antagonista no competitivo que muestra baja afinidad y que ha sido aprobado por la FDA ("Food and Drug Administration") para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Este fármaco se comporta de modo similar al Mg^{2+} , bloqueando la apertura del poro

pero permitiendo la función fisiológica del receptor cuando el nivel de actividad neuronal es suficientemente elevado para desplazar la molécula del canal iónico. Se cree que bloquea preferentemente receptores NMDA localizados extrasinápticamente y que activan cascadas de señalización de toxicidad neuronal.

Como alternativa para evitar la citotoxicidad derivada de la activación excesiva de receptores NMDA se han testado antagonistas de los receptores de tipo AMPA, que han demostrado efectos beneficiosos en el daño a la sustancia blanca que recubre los axones de las neuronas. Su eficacia en modelos preclínicos de infarto cerebral es mayor que algunos antagonistas de receptores NMDA, pero algunos compuestos muestran problemas de solubilidad o presentan efectos adversos, básicamente al inhibir la transmisión sináptica excitadora rápida. Pese a su amplia distribución dentro del SNC, se conoce muy poco de la función fisiológica de los receptores de tipo kainato, debido a las escasas herramientas farmacológicas disponibles. Sin embargo, los inhibidores de los receptores que contienen la subunidad GluK1 podrían tener actividad terapéutica para el tratamiento del dolor, epilepsia y alteraciones psiquiátricas. La inhibición del receptor GluK2 podría evitar la aparición de convulsiones epilépticas y la muerte neuronal asociada a éstas.

Los receptores mGlu constituyen una diana alternativa que podría carecer de estas limitaciones, dado que median la transmisión sináptica excitadora bajo circunstancias particulares y regulan la actividad de canales de Ca^{2+} y de algunos de los procesos intracelulares que permiten la progresión del daño excitotóxico.

Uno de los efectos beneficiosos más claros de los agonistas y antagonistas de los receptores mGlu es la reducción del daño neuronal excitotóxico tras un accidente cerebrovascular o en ciertos trastornos neurodegenerativos como la corea de Huntington, la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Alzheimer. Así, cabría pensar que antagonistas selectivos de los receptores mGlu (grupo I) implicados en potenciar la activación de los receptores iGlu podrían ser una medida efectiva para reducir la excitotoxicidad, como también podrían hacerlo los agonistas del grupo II y III.

La excitotoxicidad también participa en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. Además, la proteína β -amiloide que se acumula en dicha enfermedad puede potenciar la degeneración excitotóxica. En este sentido, los agonistas de los receptores mGlu del grupo II y III ejercen un efecto protector frente a la excitotoxicidad inducida por la proteína β -amiloide, como también lo hacen los agonistas del grupo I, incrementando el fraccionamiento de la proteína precursora amiloide. Estos datos apuntan a que los agonistas de los distintos subtipos de receptores mGlu disminuyen los daños progresivos que se producen en la enfermedad de Alzheimer.

Evidencias clínicas y experimentales sugieren la implicación de los receptores mGlu en la etiología de trastornos psiquiátricos como la esquizofrenia, las alteraciones del humor, la ansiedad o la depresión. En relación a su posible papel en la esquizofrenia, la aplicación de agonistas de los receptores del grupo II revierte las alteraciones de comportamiento en modelos esquizofrénicos. La mayoría de los ansiolíticos y antidepresivos actúan sobre los sistemas serotoninérgicos, adrenérgicos y dopaminérgicos.

Sin embargo, recientemente se ha demostrado el papel de los receptores mGlu en la etiología de dichos trastornos psiquiátricos.

Las investigaciones llegadas a cabo en estos últimos años indican el potencial papel de los receptores mGlu en los mecanismos de adicción a las drogas. Los datos existentes han mostrado que mGlu5 desempeña un papel central en los efectos comportamentales tras el consumo de cocaína. El otro receptor del grupo I, mGlu1, podría desempeñar un papel en las propiedades de recompensa que se producen tras el consumo de drogas. Por su parte, los receptores mGlu del grupo II parecen implicarse en las adaptaciones sinápticas que tienen lugar en respuesta al consumo crónico de drogas y contribuyen a los estados afectivos observados durante la abstinencia.

En definitiva, son muchos los datos existentes en la actualidad que demuestran la neuroprotección ejercida por los receptores mGlu, especialmente los antagonistas del grupo I y los agonistas del grupo II y III. Por tanto, los receptores mGlu cumplen todos los requisitos para considerarse como nuevas dianas terapéuticas con un potencial impacto en el tratamiento de diversas patologías del SNC. No obstante, un mejor conocimiento de la compleja modulación de receptores ionotrópicos, especialmente del tipo NMDA, puede abrir nuevas perspectivas de manipulación farmacológica que ofrezcan un claro beneficio terapéutico, como es el caso de la memantina. Una asignatura pendiente es el desarrollo de antagonistas específicos que bloqueen subtipos del receptor sin eliminar totalmente la transmisión y plasticidad.