

EFFECTOS DE MEMANTINA Y MK801 SOBRE LAS SUBUNIDADES 2B Y 2A DE CONMUTACIÓN DE RECEPTORES NMDA EN CULTIVOS CELULARES DE HIPOCAMPO

Uribe Ezequiel^{1,2} | Sanchez-Mendoza Eduardo¹

1. Centro de Biofísica y Neurociencia de la Universidad de Carabobo, Carabobo, Venezuela

2. Departamento de Neurofisiología, Universidad de Carabobo, Carabobo, Venezuela

Contact

Ezequiel Uribe
Apartado postal 3798, El trigal,
Valencia, Venezuela.

✉ euribe@uc.edu.ve

Resumen

Antecedentes: La esquizofrenia (SC) es un trastorno grave y crónico del neurodesarrollo que aparece en la adolescencia o en los primeros años de la edad adulta. No obstante, la disfunción cerebral se produce antes de la aparición de la enfermedad e implica un cambio en la composición de la subunidad del receptor NMDA de GluN2B a GluN2A en el periodo neonatal temprano. Recientemente hemos postulado la memantina (MEM) como un tratamiento experimental eficaz, debido a su efecto modulador del cambio o turnover de subunidades del receptor NMDA durante el periodo postnatal, ya que previene la hipofunción glutamatérgica en el modelo de privación materna de la SC. **Métodos:** Evaluamos el recambio de componentes sinápticos glutamatérgicos pre y postsinápticos utilizando neuronas hipocámpales primarias de ratón durante el periodo de formación sináptica. **Resultados:** La estimulación con MK801 previno el cambio molecular de GluN2B a GluN2A a los 11 días *in vitro* (DIV). El transportador vesicular de glutamato 2 (VGLUT2) también se redujo en este punto temporal. El tratamiento con MEM revirtió estos efectos normalizando GluN2B, y GluN2A, y volviendo a mostrar la expresión de VGLUT2. **Conclusiones:** Nuestros datos apoyan un mecanismo molecular por el cual la SC puede prevenirse con el tratamiento con MEM a través de la regulación de la composición molecular sináptica glutamatérgica.

Palabras clave: Esquizofrenia, sinapsis, SNARE, glutamato, desarrollo, receptor NMDA.

Introducción

La esquizofrenia (SC) se considera un trastorno del neurodesarrollo,¹ que se inicia en la adolescencia o a principios de la edad adulta en el 80% de los casos, sin mostrar signos claros de disfunción conductual durante la infancia.² El sistema glutamatérgico ha sido ampliamente asociado con la enfermedad,³ específicamente, el Receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDAR), que sufre cambios de subunidad a lo largo de la vida del cerebro de los mamíferos. El más importante de estos cambios se produce en el periodo posparto, cuando tiene lugar el intercambio de subunidades GluN2B por GluN2A,⁴ generando una concentración muy baja de GluN2B en el tejido del hipocampo durante la edad adulta temprana.⁵ Este cambio de subunidades produce variaciones significativas en las conexiones sinápticas entre el hipocampo y el córtex prefrontal, causando un alto riesgo de desarrollar trastornos neuropsiquiátricos durante la edad adulta.⁶ Además, la inversión de la relación normal entre GluN2A/GluN2B en el hipocampo provoca una metaplasticidad sináptica deficiente, alterando la depresión y la potenciación a largo plazo,⁷ una

de las principales causas de la hipofunción del receptor NMDA en pacientes esquizofrénicos.^{8,9} Hemos propuesto que esto, a su vez, podría causar patrones alterados de comunicación hipocámpal-cortical,¹⁰ que pueden producir los síntomas clínicos de la enfermedad en la vida adulta temprana, durante la maduración del córtex prefrontal.¹¹

La transcripción de las subunidades GluN2A es un paso clave en el cerebro neonatal y se ve favorecida por la presencia del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), así como por la correcta activación de las subunidades GluN2B durante el cambio.¹² La memantina (MEM) es un antagonista no competitivo dependiente de voltaje y de baja afinidad del NMDAR, que tiene preferencia por las subunidades GluN2B y es capaz de inducir la regulación al alza del BDNF a través de la modulación de la señalización glutamatérgica.¹³ Trabajos anteriores de nuestro laboratorio demostraron que el tratamiento con MEM en el periodo postnatal temprano previene la atrofia cerebral y las anomalías electrofisiológicas y conductuales inducidas por el modelo de privación materna de la SC.^{14,15} Para profundizar en los mecanismos moleculares



que operan potencialmente en el desarrollo de las sinapsis del hipocampo, lo que resulta difícil con el modelo de privación materna *in vivo*, hemos modelado la hipofunción glutamatérgica estimulando las neuronas del hipocampo *in vitro* con el antagonista no competitivo de NMDAR MK-801. Los antagonistas NMDAR se utilizan comúnmente para modelar SC ya que producen anomalías moleculares agudas consistentes con las observadas en la enfermedad. Demostramos que los receptores GluN2B se regulan a la baja con una disminución paralela de la expresión de VGLUT2, que se evita mediante la coestimulación con MEM.

Métodos

2.1 Cultivo de células del hipocampo

Los cerebros obtenidos de embriones de ratón E15 (*Mus musculus*) se diseccionaron en tampón de solución salina equilibrada de Hank (HBBS) enfriado con hielo. Se retiraron las meninges y se cortaron los cerebros por la línea media para exponer los hipocampos, que se extrajeron con unas pinzas finas y se incubaron en HBSS que contenía 0,25% de tripsina (15090-046; Gibco, Schwerte, Alemania) y 60 U/mL de DNase-I (D5025; Sigma) durante 25 min a 37 °C. La tripsinización se detuvo añadiendo un 5% de suero fetal bovino (FBS; Invitrogen, Waltham, MA, EE.UU.) diluido en un medio Neurobasal. El tejido se disoció mecánicamente mediante pipeteo repetido. Las células se sembraron a una densidad de $7,5 \times 10^4$ células/mL en cubreobjetos recubiertos con 50 $\mu\text{g/mL}$ de poliornitina (P4957; Sigma) y 20 $\mu\text{g/mL}$ de laminina-entactina (Corning, Nueva York, NY, EE.UU.). Las neuronas se incubaron en un medio Neurobasal que contenía un 2% de B27 (Invitrogen), glutamina (20 mM; Invitrogen) y una mezcla de antibióticos PenStrep (Invitrogen).

2.2 Administración de fármacos

El MK801 se aplicó en la 8ª DIV, momento en el que las conexiones sinápticas son visibles al microscopio. Una dosis $\geq 40 \mu\text{M}$ de MK801 es citotóxica *in vitro*, y entre 10 - 20 μM asegura la hipofunción NMDAR sin citotoxicidad.¹⁶ El medio se lavó 24 horas después. En la 10ª DIV, se aplicó MEM, un neuroprotector (5 μM).¹⁷ Tanto el MK801 como el MEM son antagonistas no competitivos, pero actúan en diferentes lugares del NMDAR con diversos propósitos, por ejemplo, el MEM interactúa con dos lugares, en el sitio del magnesio y con menor afinidad, el vestíbulo extracelular del canal, modulando el influjo de calcio.¹⁸ Además, MK801 se une dentro del vestíbulo del canal iónico, promoviendo el cierre de la puerta del canal iónico y bloqueando físicamente la permeación de iones.¹³

DIV 8	DIV 9	DIV 10	DIV 11
X	Wash	X	End
X	Wash	MEM (5 μM)	End
Mk801 (10 μM)	Wash	X	End
Mk801 (10 μM)	Wash	MEM (5 μM)	End
Mk801 (20 μM)	Wash	X	End
Mk801 (20 μM)	Wash	MEM (5 μM)	End

Figura 1. Cronología y grupos experimentales.

El estudio se diseñó con seis grupos: grupo de control (CONTROL), grupo de memantina (MEM), grupo de tratamiento con MK801 a 10 μM (MK801 (10 μM)); MK801 a 10 μM y tratamiento posterior con MEM (MK801 (10 μM) + MEM); grupo de tratamiento con MK801 a 20 μM (MK801 (20 μM)); MK801 a 20 μM y tratamiento posterior con MEM (MK801 (20 μM) + MEM) (Figura 1). Además, se registró el curso temporal de las subunidades GluN2A y GluN2B sin fármacos de intervención desde DIV 8 a DIV 11 (Figura 2).

2.3 Extracción de proteínas y Western Blot

Se prepararon lisados de células enteras en un tampón que contenía 50 mM Tris HCL pH 7,4, 150 mM NaCl, 0,1% SDS, 1% NP-40, 0,5% desoxicolato sódico e inhibidores de proteinasas y fosfatasa. Las muestras (20 μg) se corrieron en un gel SDS-PAGE al 10%, se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa, se bloquearon con leche al 5% en TBS y se incubaron durante la noche a 4°C con anticuerpos primarios contra GluN2A (1:500, Life technologies, A-6473), GluN2B (1:500, Life technologies, A-6474), PSD95 (1:10.000, Abcam, ab18258), VGLUT1 (1:2000; Synapticssystem, ab227805), y VGLUT2 (1:1000, Synapticssystem, ab216463);

se utilizó syntaxina-1 (Abcam, ab272736) a 1:20.000, así como B-actina (1:1000, Santa Cruz Biotechnology H-63, EE.UU.) como control de carga. Las membranas se lavaron en TBS, se incubaron con un anticuerpo secundario conjugado con HRP (1:5000; Santa Cruz Biotechnology) durante 1 hora a TA (RT Room Temperature por sus siglas en inglés, temperatura ambiente en español TA), se lavaron y se incubaron con solución ECL (Perkin Elmer) durante 1 min. Los blots se revelaron con el reactivo Amersham ECL Prime Western Blotting Detection Reagent (Life Sciences, Waltham, MA, EE.UU.) y se escanearon con un dispositivo digital de detección de quimioluminiscencia mejorada (ECL) (Thermo Fisher).

2.4 Tratamiento estadístico

Todos los datos se presentan a continuación como medias $\pm$ DE. Los valores de grupos múltiples se compararon con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (KW) y la prueba post hoc de Dunn. Para comparar los dos grupos se utilizó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Para las correlaciones no paramétricas se calcularon los coeficientes de Spearman. El porcentaje WB fue la señal de la banda de la proteína diana normalizada con respecto al control de carga (Ratio del control en la etiqueta del eje Y). Se realizaron cuatro (8) WB (N=8).

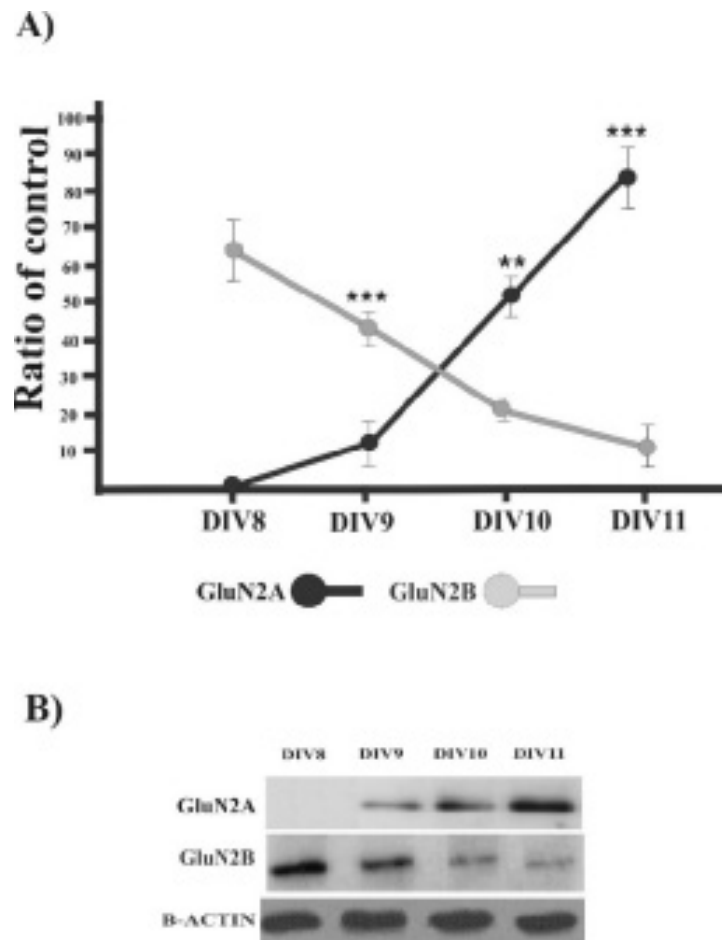


Figura 2. Evolución temporal de las subunidades GluN2A y GluN2B

Las subunidades NMDAR se intercambian *in vitro* durante las primeras fases de la maduración neuronal. A) Evaluación del curso temporal de la expresión de GluN2A y GluN2B. Las subunidades GluN2A (negro) presentaron un aumento progresivo mientras que las subunidades GluN2B (gris) mostraron una disminución progresiva durante el periodo de incubación. Se identificaron diferencias significativas con respecto a la condición de evaluación inicial de 9 a 11 DIV para ambas subunidades NMDAR. B) Western blots representativos. N=5 experimentos analizados por triplicado. Los valores son la media $\pm$ DE y se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Mann Whitney. **P<0,01 y ***P<0,005 para las diferencias entre pares de grupos.

Resultados

3.1. Se observa un cambio de receptor NMDA entre 8 y 10 DIV

Identificamos un intercambio de subunidades GluN2B y GluN2A entre 8 y 11 DIV (Figura 2A). Los niveles de subunidades del receptor GluN2A eran indetectables a los 8 DIV. La expresión de GluN2A aumentó progresivamente (9 DIV: $P=0,0003$; 10 DIV: $P=0,006$) hasta el final del período de incubación en 11 DIV ($P=0,0008$). Curiosamente, las subunidades del receptor GluN2B presentaron un nivel máximo de expresión a las 8 DIV que fue disminuyendo progresivamente hasta las 11 DIV.

3.2 MEM y MK801 tienen efectos opuestos sobre la expresión de subunidades NMDAR *in vitro*

A continuación, se evaluó la composición de subunidades

NMDAR a los 11 DIV tras la incubación con MK-801 con o sin MEM. El MK-801 no mostró ningún efecto dosis-dependiente sobre la expresión de GluN2A. El MEM aumentó significativamente la expresión de GluN2A, aunque este efecto se redujo de forma dosis-dependiente con la co-estimulación con MK-801 (Figura 3A). Por el contrario, el MK-801 indujo un aumento significativo de la expresión de GluN2B a los 11 DIV, que fue bloqueado por la coestimulación con MEM (Figura 3B). Esto sugiere un efecto antagonista de MK-801 y MEM sobre la expresión de GluN2A y GluN2B.

3.2.1 GluN2A

MEM aumentó la expresión de GluN2A (+34,2%) con respecto al control ($P=0,0021$). Por otro lado, no se encontraron diferencias en la expresión de GluN2A tras la aplicación de MK801 a 10 μM con respecto al control ($P=0,072$); posteriormente, el tratamiento con MEM la aumentó (+28,9%) ($P=0,0042$). No se encontraron diferencias tras la aplicación

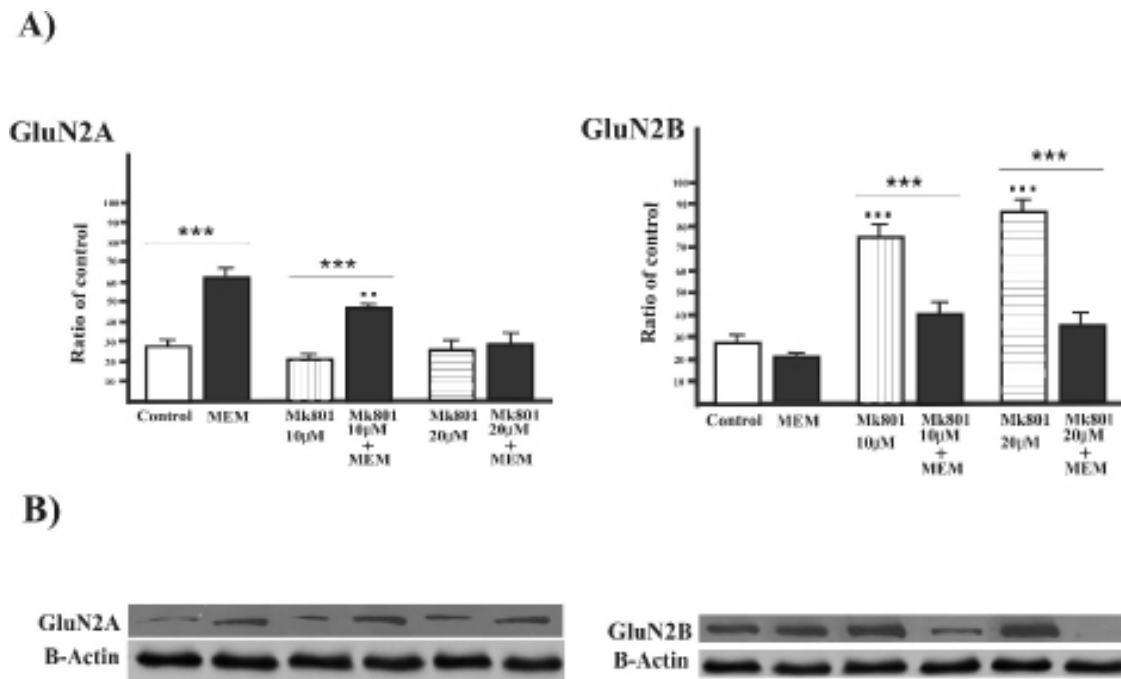


Figura 3. MK-801 y MEM tienen efectos opuestos sobre la expresión de subunidades NMDAR *in vitro*.

A) El MEM indujo un aumento de la expresión de la subunidad GluN2A que fue invertido de forma dosis-dependiente por el MK-801. El MK801 aumentó la subunidad GluN2B que fue invertido por el MEM. El MK801 incrementó la subunidad GluN2B, lo que fue revertido por el MEM. B) Western blots representativos. N=3 experimentos. Los datos son valores medios $\pm$ DE. *** $P<0,001$ entre condiciones. (dos cuadrados) $P<0,01$ y (tres cuadrados) $P<0,001$ para la condición frente al control no tratado (prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis seguida de la prueba post-hoc de Dunn).

de MK801 a 20 μM con respecto al control ($P=0,068$) ni con la administración posterior de MEM ($P=0,091$). Además, no se encontraron diferencias en la expresión de GluN2A tras la aplicación de MK801 a 10 ($P=0,071$) y 20 μM ($P=0,089$) (Figura 3A).

3.2.2 GluN2B

No se encontraron diferencias tras la administración de MEM respecto al control ($P=0,27$). El MK801 a 10 μM aumentó la expresión de GluN2B (+47,1%) con respecto al control ($P=0,0003$), y la administración posterior de MEM la redujo (-37,3%) significativamente ($P=0,0011$). El MK801 a 20 μM indujo un aumento aún mayor (+59,6%) con respecto al control ($P=0,0001$); la administración de MEM también lo redujo (-52,9%) ($P=0,0026$). Se encontraron diferencias significativas en la expresión de GluN2B tras la aplicación de MK801 a 10 y 20 μM ($P=0,003$) (Figura 3A).

3.3 MEM promueve la expresión de componentes presinápticos glutamatérgicos alterados por MK801 en 11 DIV

Nuestra hipótesis es que el intercambio de subunidades NMDAR puede ir acompañado de alteraciones en otros elementos de la maquinaria sináptica. Por ello, evaluamos las proteínas presinápticas VGLUT1 y VGLUT2, dos miembros del complejo

SNARE, la sinaptotagmina y la syntaxina-1, y el componente PSD95 que interactúa con NMDAR. VGLUT1 y PSD95 no se vieron afectados por los distintos tratamientos (Figura 4).

Sin embargo, el MEM provocó una reducción significativa de VGLUT2 ($P=0,02$). La MEM no tuvo ningún efecto sobre la expresión de VGLUT2 cuando se coincubó con MK-801 10 μM ($P=0,5$). Además, mientras que MK801 20 μM redujo significativamente la expresión de VGLUT2 en comparación con el control no tratado, la coincubación con ambos estímulos indujo un notable aumento de la expresión de VGLUT2 en comparación con las condiciones de MK-801 ($P=0,0003$) y control no tratado ($P=0,0006$) (Figura 4). Además, esta proteína tenía una correlación inversa con GluN2A en el grupo MEM ($P= -0,031$), y una correlación positiva con GluN2A en el grupo MK801 20 μM ($P= 0,039$) (Tabla 1). Es importante destacar que la syntaxina-1 se incrementó sólo con MK801 20 μM ($P=0,04$), mientras que la coincubación con MEM evitó este efecto ($P=0,45$) (Figura 4). La sinaptotagmina aumentó significativamente con MEM sólo cuando se coincubó con MK-801 20 μM ($P=0,03$) (Figura 4), y tuvo una correlación positiva con GluN2B en el grupo de control ($P= -0,029$) (Tabla 1). PSD95 tuvo una correlación positiva con GluN2A en el grupo MEM ($P=0,048$); Synaptotagmin tuvo una correlación inversa con GluN2B en el grupo de control ($P= -0,029$) (Tabla 1).

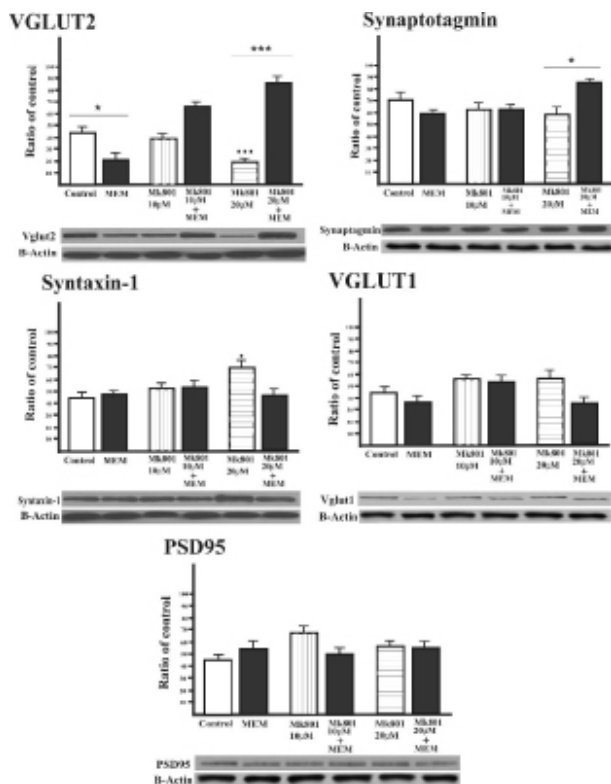


Figura 4. El tratamiento con MK-801 altera los componentes presinápticos de la sinapsis glutamatérgica

VGLUT1 y PSD95 no se vieron afectados por los diferentes tratamientos. La expresión de VGLUT2 se redujo significativamente en comparación con el control no tratado mediante MK-801 20 μM . El MEM redujo la expresión de VGLUT2 en comparación con el control no tratado, pero invirtió el efecto del MK-801 20 μM . La syntaxina 1 aumentó significativamente sólo cuando se aplicó MK-801. La sinaptotagmina aumentó significativamente sólo bajo coincubación de MK-801 y MEM. * $P<0,05$, *** $P<0,005$ para las diferencias entre grupos; un punto negro $P<0,05$, tres puntos negros $P<0,005$ para las diferencias con el grupo Control (prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis seguida de la prueba post-hoc de Dunn).

Tabla 1. Matriz de correlaciones entre NR2A y 2B y la proteína sináptica

	NR2A	NR2B
CONTROL		
VGlut1	0,811	0,712
VGlut2	0,192	0,112
PSD95	0,329	0,711
Sintaxina-1	0,772	0,621
Sinaptotagmina	0,45	-0,029
MEM		
VGlut1	0,992	0,081
VGlut2	-0,031	0,062
PSD95	0,048	0,099
Sintaxina-1	0,221	0,361
Sinaptotagmina	0,401	0,078
MK801 (10MM)		
VGlut1	0,609	0,063
VGlut2	0,701	0,093
PSD95	0,06	0,129
Syntaxin-1	0,218	0,067
Sinaptotagmina	0,072	0,213
MK801(10MM) + MEM		
VGlut1	0,228	0,91
VGlut2	0,054	0,188
PSD95	0,251	0,108
Sintaxina-1	0,061	0,083
Sinaptotagmina	0,199	0,309
MK801(20MM)		
VGlut1	0,092	0,054
VGlut2	0,039	0,199
PSD95	0,991	0,081
Sintaxina-1	0,872	0,013
Sinaptotagmina	0,901	0,072
MK801(20MM) + MEM		
VGlut1	0,085	0,791
VGlut2	0,681	0,078
PSD95	0,141	0,212
Sintaxina-1	0,091	0,064
Sinaptotagmina	0,199	0,931

Las correlaciones significativas ($P < 0,05$) se expresan con el coeficiente de correlación R de Spearman subrayado. Las correlaciones inversas se indican con signo negativo. Grupo de control (CONTROL), grupo de memantina (MEM), grupo de tratamiento con MK801 a $10\mu\text{M}$ (MK801 ($10\mu\text{M}$)); MK801 a $10\mu\text{M}$ y tratamiento posterior con MEM (MK801 ($10\mu\text{M}$) + MEM); grupo de tratamiento con MK801 a $20\mu\text{M}$ (MK801 ($20\mu\text{M}$)); MK801 a $20\mu\text{M}$ y tratamiento posterior con MEM (MK801 ($20\mu\text{M}$) + MEM).

Discusión

El cambio de subunidad NMDAR GluN2B y GluN2A es un evento clave en la formación de sinapsis maduras, que se ha propuesto que se interrumpe en la SC.¹⁹ La hipofunción glutamatérgica puede ser la causa de eventos de larga duración que afectan a la conectividad cortical, dando lugar a un comportamiento similar a la SC en roedores.¹⁰ La alteración del cambio normal de subunidades causa anomalías en la metaplasticidad sináptica, incluyendo depresión y potenciación a largo plazo,⁷ que también se han identificado en el cerebro esquizofrénico.²⁰ Aquí hemos utilizado la estimulación *in vitro* con MK-801 para modelar la hipofunción glutamatérgica, que se supone que es la etapa premórbida de la SC.¹⁰ Nuestros resultados mostraron que a los 11 DIV la hipofunción glutamatérgica causó un incremento en la expresión de la subunidad GluN2B junto con una reducción del marcador presináptico VGLUT2 y una regulación al alza de la Sintaxina-1. Estos efectos inducidos por el MK-801 fueron revertidos por el MEM, junto con una leve regulación al alza de la sinaptotagmina.

Ya se ha demostrado que el MK-801 modula la expresión de las subunidades NMDAR en la corteza cerebral.²¹ Tanto el MK801 como el MEM tienen afinidad por los NMDAR que contienen subunidades GluN2B, que se expresan en gran medida durante la fase inicial del desarrollo cerebral.^{4,22} No hubo alteración en los niveles absolutos de GluN2A y PSD-95 por incubación con MK-801, cuya interacción ha demostrado ser deficiente en el cerebro esquizofrénico.²³ Es importante destacar que el aumento de las subunidades GluN2B se produjo en paralelo al aumento de VGLUT2, mientras que VGLUT1 permaneció inalterado. La relevancia de este hallazgo se ve corroborada por la observación de la regulación al alza de VGLUT2, pero la estabilidad de los niveles de VGLUT1, observada en muestras post-mortem de pacientes esquizofrénicos no tratados con fármacos.²⁴ Por otra parte, los déficits de fosforilación de la sintaxina 1 también se han asociado a la esquizofrenia²⁵. Las alteraciones del VGLUT y del receptor de ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) se correlacionan con una arborización neuronal hipocampal anormal *in vivo*, que ha demostrado ser activamente dependiente *in vitro*.²⁶ Por lo tanto, se podría especular que la atrofia cerebral y la actividad electrofisiológica anormal previamente reportadas en el modelo de privación materna¹⁵ estarán acompañadas por una disminución de GluN2A, un aumento de la expresión de GluN2B, y efectos compensatorios en los niveles de VGLUT2 y Sintaxina 1, causando anomalías en la liberación de

glutamato, todo lo cual podría generar más anormalidades estructurales dentro de las regiones corticales e hipocampales. Los mecanismos por los que el MK-801 y el MEM interactúan e influyen en estos acontecimientos pre y postsinápticos no están claros. La activación NMDAR requiere la unión de glutamato y glicina junto con la liberación dependiente de voltaje del bloqueo de magnesio, lo que resulta en la despolarización de la membrana y la afluencia de calcio, que son críticos en la transmisión sináptica y la plasticidad, así como en los mecanismos celulares para el aprendizaje y la memoria, elementos afectados en la esquizofrenia.²⁷ Tanto el MK801 como el MEM tienen afinidad por los NMDAR que contienen subunidades GluN2B.^{5,22} MK801 se une en el interior del vestíbulo del canal iónico del receptor, impidiendo el flujo de calcio y otros iones, y bloqueando el poro en dos posturas relacionadas con la simetría; MEM, en cambio, parece bloquear el poro principalmente en una única posición.¹³ Es importante destacar que en las ratas esquizofrénicas hay niveles reducidos de BDNF, GluN2A y subunidades GluN2B en el hipocampo y el córtex prefrontal.^{28,29} En cambio, se demostró que el MEM aumenta el ARNm del BDNF en macacos infectados por el VIS³⁰ y también invierte la pérdida de ARNm del BDNF y TrkB en el córtex prefrontal.³¹ En consecuencia, las deficiencias de la señalización BDNF/TrkB coincidieron con una menor arborización de las neuronas del hipocampo y una expresión anormal de VGLUT, lo que reduce la neuroplasticidad hipocampal.²⁶

Conclusión

Nuestros datos sugieren que el MEM, recientemente aprobado para el tratamiento de la demencia,³³ podría prevenir la aparición de anomalías moleculares de la SC, regulando los elementos pre y postsinápticos de la sinapsis glutamatérgica. La comprensión de las distintas etapas moleculares del desarrollo cerebral permitirá prevenir la aparición de trastornos neuropsiquiátricos en personas con predisposición genética mediante un tratamiento adecuado.

Por otra parte, el presente estudio tiene varias limitaciones. Un simple cultivo de células del hipocampo excluye las interacciones de este grupo de neuronas con la corteza frontal, una región cerebral muy implicada en el desarrollo de la SC. El uso de MK801 como modelo preclínico de esquizofrenia ha sido cuestionado,³³ sin embargo, actualmente se considera útil para reproducir síntomas y alteraciones cerebrales características de la esquizofrenia *in vivo*.³⁴ En este estudio, se utilizó como modelo *in vitro* para reproducir la hipofunción NMDAR en el hipocampo del cerebro esquizofrénico, y

posteriormente, se utilizó MEM para revertir este estado. Dado que ambos fármacos actúan sobre el mismo receptor, este efecto podría interpretarse como una simple consecuencia farmacocinética en el NMDAR, más que como una solución al problema molecular. Futuras investigaciones deberían incluir el bloqueo de la subunidad NMDAR para evaluar los efectos de MEM.

Referencias

1. Rapoport JL, Addington AM, Frangou S, Psych MR. El modelo de neurodesarrollo de la esquizofrenia: actualización 2005. *Mol Psychiatry*. 2005;10(5):434-49. doi: [10.1038/sj.mp.4001642](https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001642)
2. Lehman AF, Lieberman JA, Dixon LB, McGlashan TH, Miller AL, Perkins DO, et al. Guía práctica para el tratamiento de pacientes con esquizofrenia, segunda edición. *Am J Psychiatry*. 2005;161(2 Suppl):1-56.
3. Steullet P, Cabungcal JH, Monin A, Dwir D, O'Donnell P, Cuenod M, et al. Redox dysregulation, neuroinflammation, and NMDA receptor hypofunction: ¿Un "eje central" en la fisiopatología de la esquizofrenia? *Schizophr Res*. 2016;176(1):41-51. doi: [10.1016/j.schres.2014.06.021](https://doi.org/10.1016/j.schres.2014.06.021)
4. Liu XB, Murray KD, Jones EG. Switching of NMDA receptor 2A and 2B subunits at thalamic and cortical synapses during early postnatal development. *J Neurosci*. 2004;24(40):8885-95. doi: [10.1523/JNEUROSCI.2476-04.2004](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2476-04.2004)
5. Liu H, Li Y, Wang Y, Wang X, An X, Wang S, et al. The distinct role of NR2B subunit in the enhancement of visual plasticity in adulthood. *Mol Brain*. 2015;8:49. doi: [10.1186/s13041-015-0141-y](https://doi.org/10.1186/s13041-015-0141-y)
6. Monaco SA, Gulchina Y, Gao WJ. Subunidad NR2B en la corteza prefrontal: Un arma de doble filo para la función de la memoria de trabajo y los trastornos psiquiátricos. *Neurosci Biobehav Rev*. 2015;56:127-38. doi: [10.1016/j.neubiorev.2015.06.022](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.06.022)
7. Philpot BD, Cho KK, Bear MF. Obligatory role of NR2A for metaplasticity in visual cortex. *Neuron*. 2007; 53(4):495-502. doi: [10.1016/j.neuron.2007.01.027](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.01.027)
8. González-Burgos G, Lewis DA. NMDA receptor hypofunction, parvalbumin-positive neurons, and cortical gamma oscillations in schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2012; 38(5):950-7. doi: [10.1093/schbul/sbs010](https://doi.org/10.1093/schbul/sbs010)
9. Marballi KK, Gallitano AL. Immediate early genes anchor a biological pathway of proteins required for memory formation, long-term depression and risk for schizophrenia. *Front Behav Neurosci*. 2018;12:23. doi: [10.3389/fnbeh.2018.00023](https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00023)
10. Uribe E, Fernández L. Efectos de la administración neonatal de memantina sobre la asimetría hipocampal y la alteración de la memoria de trabajo inducida por privación materna precoz en ratas. *Neurofisiología*. 2019;51:97-106. doi: [10.1007/s11062-019-09799-4](https://doi.org/10.1007/s11062-019-09799-4)
11. Behrendt RP. Disregulación de la "transmisión" sensorial talámica en la esquizofrenia: vulnerabilidad neuroquímica a las alucinaciones. *J Psychopharmacol (Oxford)*. 2006; 20(3):356-72. doi: [10.1177/0269881105057696](https://doi.org/10.1177/0269881105057696)
12. Hoffmann H, Gremme T, Hatt H, Gottmann K. Synaptic activity-dependent developmental regulation of NMDA receptor subunit expression in cultured neocortical neurons. *J Neurochem*. 2000;75(4):1590-9. doi: [10.1046/j.1471-4159.2000.0751590.x](https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0751590.x)
13. Song X, Jensen MØ, Jogini V, Stein RA, Lee CH, Mchaourab HS, et al. Mechanism of NMDA receptor channel block by MK-801 and memantine. *Nature*. 2018; 556(7702):515-9. doi: [10.1038/s41586-018-0039-9](https://doi.org/10.1038/s41586-018-0039-9)

14. Uribe E, Sánchez-Mendoza E, Nieves N, Merchor G. Neonatal administration of memantine enhances social cognition in adult rats subjected to early maternal deprivation. *Exp neurobiol*. 2016;25(6):328-32. doi: [10.5607/en.2016.25.6.328](https://doi.org/10.5607/en.2016.25.6.328)
15. Uribe E, Fernández L, Pacheco D, Fernandez L, Nayadoleni N, Eblen-Zajjur A. Administration of memantine reverses behavioral, histological, and electrophysiological abnormalities in rats subjected to early maternal deprivation. *J Neural Transm (Vienna)*. 2019;126(6):759-70. doi: [10.1007/s00702-019-02007-x](https://doi.org/10.1007/s00702-019-02007-x)
16. Hirayama M, Kuriyama M. MK-801 is cytotoxic to microglia in vitro and its cytotoxicity is attenuated by glutamate, other excitotoxic agents and atropine. Posible presencia de receptor de glutamato y receptor muscarínico en la microglia. *Brain Res*. 2001; 897(1-2):204-206. doi: [10.1016/S0006-8993\(01\)02114-X](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)02114-X)
17. Emmett CM, Eisenman LN, Taylor AM, Izumi Y, Zorumski CF, Mennerick S. Indistinguishable synaptic pharmacodynamics of the N-methyl-D-aspartate receptor channel blockers memantine and ketamine. *Mol Pharmacol*. 2013;84(6):935-47. doi: [10.1124/mol.113.089334](https://doi.org/10.1124/mol.113.089334)
18. Chen HS, Lipton SA. Pharmacological implications of two distinct mechanisms of interaction of memantine with N-methyl-D-aspartate-gated channels. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005;314(3):961-71. doi: [10.1124/jpet.105.085142](https://doi.org/10.1124/jpet.105.085142)
19. Sans N, Petralia RS, Wang YX, Blahos J 2nd, Hell JW, Wenthold RJ. A developmental change in NMDA receptor-associated proteins at hippocampal synapses. *J Neurosci*. 2000;20(3):1260-71. doi: [10.1523/JNEUROSCI.20-03-01260.2000](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-03-01260.2000)
20. Frantseva MV, Fitzgerald PB, Chen R, Möller B, Daigle M, Daskalakis ZJ. Evidence for impaired long-term potentiation in schizophrenia and its relationship to motor skill learning. *Cereb Cortex*. 2008;18(5):990-6. doi: [10.1093/cercor/bhm151](https://doi.org/10.1093/cercor/bhm151)
21. Xi D, Zhang W, Wang HX, Stradtman GG, Gao WJ. Dizocilpine (MK-801) induces distinct changes of N-methyl-D-aspartic acid receptor subunits in parvalbumin-containing interneurons in young adult rat prefrontal cortex. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2009;12(10):1395-1408. doi: [10.1017/S146114570900042X](https://doi.org/10.1017/S146114570900042X)
22. Ewald RC, Van Keuren-Jensen KR, Aizenman CD, Cline HT. Roles of NR2A and NR2B in the development of dendritic arbor morphology *in vivo*. *J Neurosci*. 2008;28(4):850-61. doi: [10.1523/JNEUROSCI.5078-07.2008](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5078-07.2008)
23. Ganguly P, Holland FH, Brenhouse HC. Functional uncoupling NMDAR NR2A subunit from PSD-95 in the prefrontal cortex: effects on behavioral dysfunction and parvalbumin loss after early-life stress [la corrección publicada aparece en *Neuropsychopharmacology*. 2016; 41(4):1188]. *Neuropsychopharmacología*. 2015; 40(12):2666-75. doi: [10.1038/npp.2015.134](https://doi.org/10.1038/npp.2015.134)
24. Schoonover KE, McCollum LA, Roberts RC. Protein markers of neurotransmitter synthesis and release in postmortem schizophrenia substantia nigra. *Neuropsychopharmacología*. 2017;42(2):540-50. doi: [10.1038/npp.2016.164](https://doi.org/10.1038/npp.2016.164)
25. Castillo MA, Ghose S, Tamminga CA, Ulevy-Reynolds PG. Deficits in syntaxin 1 phosphorylation in schizophrenia prefrontal cortex. *Biol Psychiatry*. 2010;67(3):208-16. doi: [10.1016/j.biopsych.2009.07.029](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.07.029)
26. Sanchez EH, Camblor S, Martins L, Dzyubenko E, Fleischer M, Carvalho T, et al. Compromised hippocampal neuroplasticity in the interferon- α and toll-like receptor-3 activation-induced mouse depression model. *Mol Neurobiol*. 2020;57(7):3171-82. doi: [10.1007/s12035-020-01927-0](https://doi.org/10.1007/s12035-020-01927-0)
27. Bagasrawala I, Memi F, V Radonjic N, Zecevic N. N-methyl d-aspartate receptor expression patterns in the human fetal cerebral cortex. *Cereb Cortex*. 2017;27(11):5041-53. doi: [10.1093/cercor/bhw289](https://doi.org/10.1093/cercor/bhw289)
28. Roceri M, Hendriks W, Racagni G, Ellenbroek BA, Riva MA. Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus. *Mol Psychiatry*. 2002;7(6):609-16. doi: [10.1038/sj.mp.4001036](https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001036)
29. Yu W, Zhu M, Fang H, Zhou J, Ye L, Bian W, et al. Risperidone reverses the downregulation of BDNF in hippocampal neurons and MK801-induced cognitive impairment in rats. *Front Behav Neurosci*. 2019;13:163. doi: [10.3389/fnbeh.2019.00163](https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00163)
30. Meisner F, Scheller C, Kneitz S, Sopper S, Neuen-Jacob E, Riederer P, et al. Memantine upregulates BDNF and prevents dopamine deficits in SIV-infected macaques: a novel pharmacological action of memantine. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33(9):2228-36. doi: [10.1038/sj.npp.1301615](https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301615)
31. Amidfar M, Kim YK, Wiborg O. Eficacia de la memantina sobre el comportamiento similar a la depresión, los déficits de memoria y los niveles cerebrales de ARNm de BDNF y TrkB en ratas sometidas a estrés impredecible repetido. *Pharmacol Rep*. 2018;70(3):600-6. doi: [10.1016/j.pharep.2017.12.007](https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.12.007)
32. Folch J, Busquets O, Ettcheto M, Sánchez-López E, Castro-Torres RD, Verdaguer E, et al. Memantine for the treatment of dementia: a review on its current and future applications. *J Alzheimers Dis*. 2018;62(3):1223-40. doi: [10.3233/JAD-170672](https://doi.org/10.3233/JAD-170672)
33. Eyjolfsson EM, Brenner E, Kondziella D, Sonnewald U. Inyección repetida de MK801: ¿un modelo animal de esquizofrenia? *Neurochem Int*. 2006;48(6-7):541-6. doi: [10.1016/j.neuint.2005.11.019](https://doi.org/10.1016/j.neuint.2005.11.019)
34. Daya RP, Bhandari JK, Hui PA, Tian Y, Farncombe T, Mishra RK. Effects of MK-801 treatment across several pre-clinical analyses including a novel assessment of brain metabolic function utilizing PET and CT fused imaging in live rats. *Neuropharmacology*. 2014;77:325-33. doi: [10.1016/j.neuropharm.2013.10.001](https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.10.001)

© Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
Manuel Velasco Suárez