



Receptores Nicotínicos Neuronales

Jaime E. Castellanos, Docente Adscrito, Unidad de Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina Universidad Nacional de Colombia, Investigador. Miguel A. Benito, René Ramírez, Asistentes de investigación, Laboratorio de Neurociencias. Instituto Nacional de Salud, (jcastellanos@hemagogus.ins.gov.co)

ABSTRACT

The strong behavioural and cognitive effects of nicotine have been known for centuries. Actually, the ligand-gated ion channel superfamily, specially which nicotinic acetylcholine receptor, are extensively studied. The understanding of their pharmacology and physiology may help to understand some relevant brain processes (neurotransmitter regulation and nociception) and many diseases where these channels have been involved (myasthenia gravis, Parkinson, Alzheimer, schizophrenia). This review summarize some broad information on structure, classification and function of nicotinic receptors to understand their participation in some nervous system process and the therapeutic possibilities of these molecules.

RESUMEN

Desde hace varios siglos se conoce el potente efecto de la nicotina sobre los procesos cognitivos y el comportamiento. En la actualidad, la familia de los canales iónicos activados por ligandos y particularmente los receptores nicotínicos de acetilcolina son extensamente estudiados, pues la comprensión de su farmacología y fisiología puede ayudar a decifrar la clave de muchos procesos del cerebro (regulación de neurotransmisores y nocicepción) y también de varias enfermedades en las que se han demostrado su participación (miastenia gravis, Parkinson, Alzheimer, esquizofrenia). En este artículo,

se hace una primera aproximación a la estructura, clasificación y funcionamiento de los receptores nicotínicos neuronales, con el objeto de sistematizar la muy extensa información existente sobre el tema y permitir una mejor comprensión sobre su participación en diferentes eventos que ocurren en el sistema nervioso y las posibilidades terapéuticas actuales.

La transmisión sináptica química es el proceso funcional mediante el cual se desarrolla la comunicación entre células excitables (neurona-neurona o neurona-músculo). El proceso de la neurotransmisión química se inicia en la célula presináptica mediante eventos de despolarización que activan los canales iónicos en la membrana del terminal axónico y permiten que los iones adecuados penetren. El aumento intracelular de los iones inicia la exocitosis de las vesículas presentes en la terminal sináptica, que contienen los neurotransmisores, así estos son vertidos en la hendidura sináptica y luego difunden hasta la célula postsináptica, en donde se unen a sus receptores específicos localizados en la membrana celular, generando la respuesta de la célula postsináptica (1,2).

El tipo de respuesta de la neurona al neurotransmisor está determinada por el receptor o receptores hacia los cuales va dirigido. En algunas ocasiones el receptor al ser estimulado por el neurotransmisor desencadena

el desarrollo de ciertas acciones enzimáticas como por ejemplo la modulación de la concentración de metabolitos intracelulares, estos receptores son los llamados metabotrópicos. Otra clase de receptores presenta en su estructura un canal iónico y la llegada del neurotransmisor induce una serie de cambios conformacionales muy rápidos, que abren el canal y permiten el flujo de iones de acuerdo con su gradiente electroquímico, estos receptores se denominan ionotrópicos (3).

Los Receptores Nicotínicos de Acetilcolina (RNACH) son miembros de una superfamilia de receptores ionotrópicos activados por ligandos, a la cual también pertenecen los receptores para ácido γ -aminobutírico (GABA), los receptores para glicina y los receptores para 5-hidroxitriptamina-3 (una subclase de receptores de serotonina) y que excluye a los receptores para glutamato (4-6).

El neurotransmisor Acetilcolina (ACh) actúa en dos diferentes clases de receptores: los Nicotínicos y los Muscarínicos, estos últimos son receptores metabotrópicos y pertenecen a una familia diferente, en cambio los RNACH están directamente relacionados con canales iónicos. Los receptores nicotínicos se pueden a su vez clasificar en tres grupos, los de tipo muscular, los de tipo neuronal que no unen α -bungarotoxina (α -BGT) y los

de tipo neuronal que si unen α -BGT (7).

Estructura y nomenclatura de las subunidades

Tanto los RNACH musculares como neuronales están compuestos de cinco subunidades homólogas, con un alto grado de similitud en su estructura primaria, secundaria y terciaria. Cada una de las subunidades tiene a su vez cinco segmentos: un extremo N-terminal (aproximadamente de 200 aminoácidos) que se encuentra ubicado extracelularmente; el segmento siguiente, consiste en tres regiones de aminoácidos hidrofóbicos (presuntamente regiones transmembranales, M1, M2 y M3), unidos por pequeños segmentos hidrofílicos; luego una larga zona citoplasmática (entre 100 y 200 aminoácidos) seguida de un cuarto segmento transmembranal (M4) y finalmente el extremo C-terminal hidrofílico extracelular (Figura 1) (8-10). En la gran región N-terminal (principalmente entre los aminoácidos 180-200) se encuentran ubicados los sitios de unión a agonistas y antagonistas. La estructura tridimensional de esta zona es altamente compleja, estabilizada por un puente disulfuro entre las Cys128 y Cys142 y siempre glicosilada en la Asn141. Estos patrones de hidrofobicidad y topología transmembranal, son característicos de la superfamilia de receptores ionotrópicos activados por ligandos. (6,11-13).

La conductancia, la selectividad iónica y los tiempos de apertura y cierre del canal pueden ser explicados en términos de la naturaleza y distribución de los aminoácidos que forman el canal, residuos que son aportados principalmente por el segmento M2 de cada una de las cinco subunidades del receptor (Figura 2A). Mutaciones en los residuos del segmento M2, alteran la conductancia del poro, la selectividad o la unión a bloqueadores de canal (13). Se conocen cinco tipos de subunidades (α , β , ϵ , γ y δ) que pueden formar

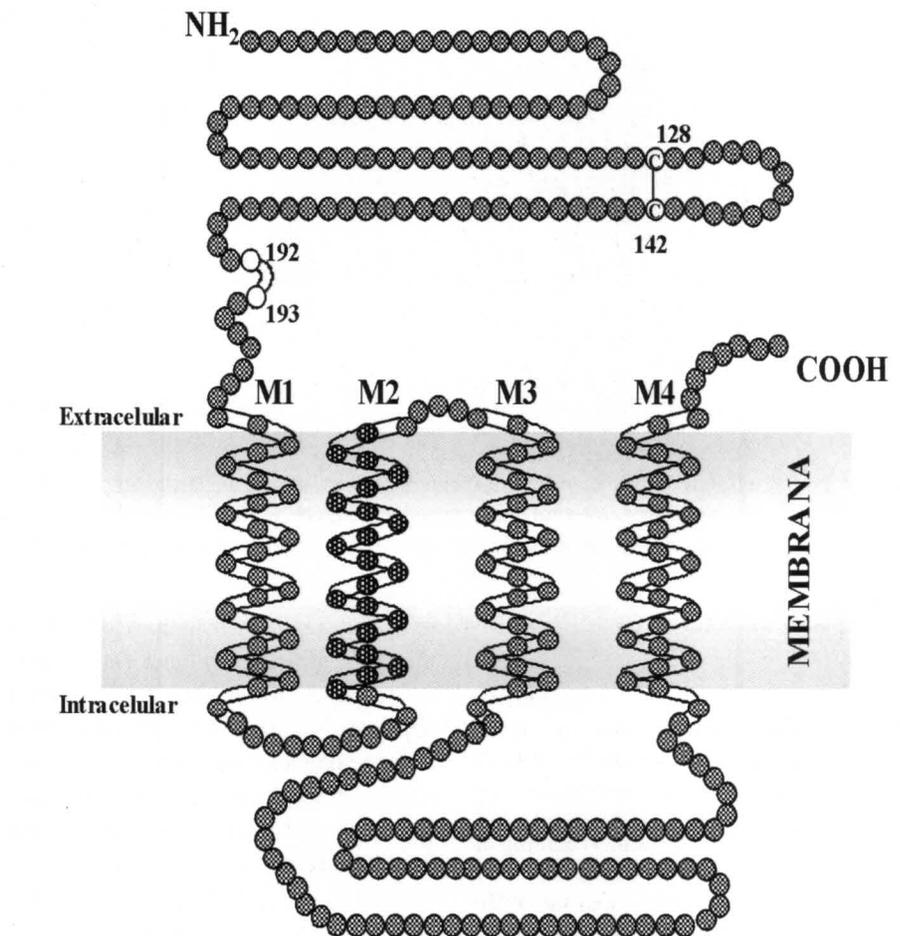


Figura 1. Esquema de la orientación transmembranal típica de una subunidad de receptor nicotínico. Los segmentos M1, M2, M3 y M4 se encuentran inmersos en la bicapa lipídica. Se esquematiza una subunidad de tipo α , pues contiene dos cisteínas vecinas en las posiciones 192-193. Pero la organización es semejante también para las subunidades β e incluye el puente disulfuro entre las cisteínas 128-142.

RNACH. De la subunidad α se conocen nueve clases ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\alpha 7$, $\alpha 8$ y $\alpha 9$) y de la subunidad β , cuatro clases ($\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$). Los receptores de tipo muscular están formados por la combinación de $\alpha 1$, $\beta 1$, ϵ , γ y δ . A su vez los receptores de tipo neuronal están formados por la combinación de las otras subunidades. Las subunidades α presentes en las neuronas tienen una alta homología con la subunidad $\alpha 1$ del receptor muscular, que incluye siempre la presencia de las Cys192-Cys193 y además la Tyr190, que participan en la unión a los diferentes ligandos. No sucede lo mismo con las subunidades neuronales no- α (llamadas hoy subunidades β), que no comparten

las secuencias con la subunidad $\beta 1$ muscular y su principal característica es la ausencia de cisteínas en las posiciones 192-193, sin que esto signifique que estas subunidades no participen en la unión de los agonistas y antagonistas (14).

La funcionalidad del receptor requiere de la formación de canales pentaméricos formados por cuatro diferentes subunidades en el músculo y por lo menos de uno o dos tipos de subunidades en las neuronas. Las subunidades $\alpha 7$, $\alpha 8$ y $\alpha 9$, pueden formar homopentámeros funcionales con características particulares, como alta permeabilidad al calcio y unión del antagonista α -BGT (15). La gran cantidad

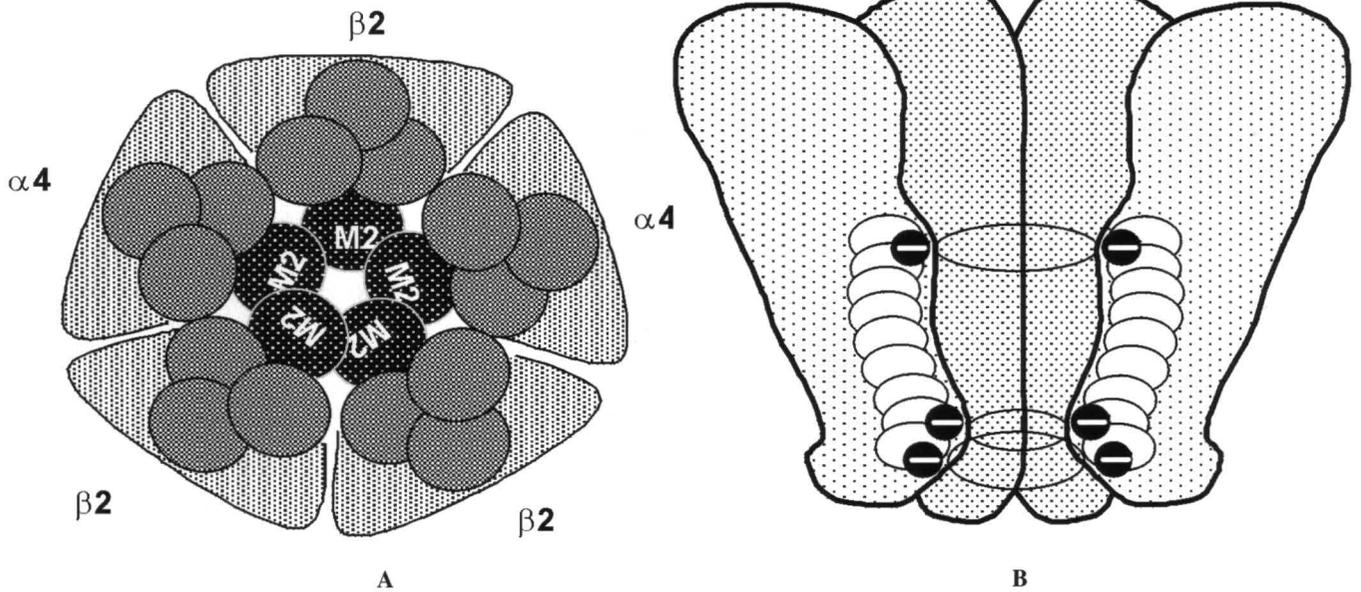


Figura 2. A. Esquema de una vista superior de la estructura cuaternaria pentamérica de los receptores nicotínicos. Las α -hélices correspondientes a los segmentos M2 de cada una de las cinco subunidades forman el canal. B. Esquema de una sección a través de un receptor nicotínico. Note la participación de las α -hélices M2 y los anillos de aminoácidos aniónicos (círculos negros), en la formación del canal.

de posibilidades de organización cuaternaria pentamérica, ha exigido la unificación de la nomenclatura, que debe expresar en lo posible, tanto las subunidades presentes en un receptor como su estequiometría. Así se denomina al receptor muscular $(\alpha 1)_2\text{-}\beta 1\text{-}\gamma\text{-}\delta$ y a los receptores neuronales por ejemplo $(\alpha 4)_2\text{-}(\beta 2)_3$, $(\alpha 2)_2\text{-}(\beta 2)_3$ o $(\alpha 7)_5$. Aun no ha sido aclarado si la relación $\alpha:\beta$ es por ejemplo 2:3, 3:2, 4:1, por lo tanto la mayoría de las veces se obvia esta información, a menos que sea conocida.

Funcionamiento del receptor nicotínico de acetilcolina y selectividad iónica

Como ya se ha dicho, los sitios de unión para los ligandos están localizados en el lado extracelular, en la interfase entre las subunidades α y las subunidades vecinas. Si ambos sitios están ocupados por el ligando (es decir la ACh o un agonista como la nicotina o el carbacol), el canal tendrá una elevada probabilidad de estar abierto y permitir el paso de los cationes. Residuos de ácido glutámico (carga aniónica) de los segmentos M2 de cada una de las subunidades del

receptor, se encuentran alineados formando tres anillos (uno externo, uno medio y uno interno) (Figura 2B). Después de que el ligando se ha unido a sus sitios respectivos en el receptor se sucede una rotación de las α -hélices M2 y las cadenas laterales de estos residuos, que normalmente se dirigen hacia el centro acuoso del canal, se desplazan, ocasionando un relajamiento de los anillos aniónicos; a su vez ocurre también una reorientación de los residuos de Ser y Thr (que hacen parte también de M2), de tal manera que el canal queda permeable para el paso de los cationes a favor de su gradiente electroquímico, por un tiempo determinado que depende del subtipo de receptor (4, 9,12).

La conductancia, la selectividad por cationes y los tiempos de apertura y cierre de los RNACH, se pueden explicar por la naturaleza eléctrica y el orden de los residuos que conforman el canal, que pertenecen a cada una de las subunidades que lo forman (principalmente los dominios M2). Tanto los RNACH musculares como los neuronales permiten el paso de sodio y calcio (5). El diámetro del poro se ha observado en estudios cristalográficos,

estimándose en 6.5 Å (9-10 Å, abierto), lo que concuerda con los radios de los cationes hidratados, es decir, las dimensiones del poro también contribuyen a la selectividad de los iones que pasan. Los residuos de ácido glutámico que componen los tres anillos aniónicos del canal, parecen proveer una selectividad adicional a los catiónes, pues los aniones son fuertemente rechazados debido a las cargas de repulsión (4). Como se verá mas adelante, cada uno de los tres grupos existentes de receptores nicotínicos (musculares, neuronales que no unen α -BGT y neuronales que si unen α -BGT), tienen características especiales frente a la selectividad de los cationes que pasan a través de ellos.

RNACH musculares

El descubrimiento de poderosos ligandos para los receptores nicotínicos como los venenos tubocurarina y α -toxinas de serpiente, brindaron las condiciones necesarias para iniciar la separación de proteínas del receptor muscular y más tarde para la clonación del gen RNACH de la electroplaca del pez Torpedo. Ambos están compuestos por cuatro distintas subunidades

protéicas α , β , ϵ y δ (δ y γ) que se ensamblan formando la proteína pentamérica transmembranal característica (15,16).

La estructura formada por las cinco subunidades se encuentra orientada alrededor del canal iónico. El orden de estas subunidades alrededor del canal en la forma adulta es $\alpha 1-\epsilon-\alpha 1-\delta-\beta 1$, pero en la forma fetal la subunidad ϵ es reemplazada por una subunidad γ . Como se dijo anteriormente, por cada pentámero receptor existen por lo menos dos sitios de unión para ACh, en este caso, uno está ubicado en la interfase $\alpha 1/\epsilon$ (o $\alpha 1/\gamma$) y otro en la interfase $\alpha 1/\delta$ (17). De igual manera, los sitios de unión a la mayoría de antagonistas (p. ej. α -BGT) se ubican en sitios cercanos.

Por la facilidad para su purificación, los RNACH musculares, se han utilizado para hacer una gran cantidad de estudios y para determinar los aminoácidos del receptor que participan en la unión de los agonistas o antagonistas. La metodología más usada es la del marcaje usando moléculas agonistas foto sensibles, que al ser activadas por luz, se unen covalentemente a los residuos cercanos, y después se identifican por secuenciación y cromatografía. Así se ha podido establecer que las Cys192 y Cys193 de las subunidades α participan en la unión de casi todos los agonistas y antagonistas, pero además también se han identificado otros residuos (generalmente aromáticos) y residuos con carga negativa de las subunidades α y β (18). La función principal del RNACH en las uniones neuromusculares es amplificar suficientemente las pequeñas corrientes del potencial de acción, que han recorrido grandes distancias a lo largo del axón del nervio motor y así permitir la despolarización y posterior contracción de las fibras musculares (6). Estos canales son cinco veces más permeables al Na^+ que al Ca^{++} (relación permeabilidad $P_{\text{Ca}}/P_{\text{Na}}$, 0,2), así que se

considera que la despolarización en el músculo es iniciada por el ingreso masivo de Na^+ en la placa neuromuscular (19). Adicionalmente es muy bien conocida la capacidad de estos receptores para unir tubocurarina y α -BGT de manera casi irreversible.

RNACH neuronales que no unen α -BGT

A diferencia de los receptores musculares, los RNACH neuronales constan de solo dos tipos de subunidades las α y las β . Pero de la misma forma que en los RNACH musculares, su disposición es pentamérica y las subunidades α poseen las características cisteínas en las posiciones 192 y 193 (5-20). La caracterización de los receptores neuronales se ha hecho principalmente con base en estudios de expresión heteróloga en oocitos de *Xenopus laevis*, pues este sistema permite la coexpresión de las diferentes subunidades, para luego hacer las evaluaciones electrofisiológicas correspondientes (21, 22). A través de este sistema, se ha establecido que las subunidades $\alpha 2$, $\alpha 3$ y $\alpha 4$ forman diferentes canales funcionales cuando se expresan conjuntamente con subunidades $\beta 2$ o $\beta 4$, pero no cuando se expresan con $\alpha 5$, $\alpha 6$ y $\beta 3$. La principal característica de este subgrupo de receptores es que el reconocido antagonista nicotínico α -BGT no se une al receptor, ni produce bloqueo en los canales $\alpha 2\beta 2$, $\alpha 3\beta 2$, $\alpha 3\beta 4$ y $\alpha 4\beta 2$ (23).

La subunidad $\alpha 3$ (seguramente asociada a subunidades $\beta 4$ y $\beta 2$) es la que se encuentra más frecuentemente en las neuronas postsinápticas de los ganglios autonómicos y en la retina (24), pero en el cerebro de los mamíferos adultos (corteza, núcleos basales e hipocampo) el subtipo de receptor mayoritario es el $\alpha 4\beta 2$ (aproximadamente 90%), el cual es el principal responsable de la unión de alta afinidad por la nicotina en los estudios de distribución (25-27). Se ha encontrado que una pequeña parte de los receptores $\alpha 4\beta 2$, incluyen también a la

subunidad $\alpha 5$, un hallazgo que amplía aún más las posibilidades de combinaciones entre subunidades y sus respectivas propiedades farmacológicas, al demostrar la participación de más de dos tipos de subunidades en cada receptor (28).

La expresión de los receptores en oocitos, ha permitido aportar una fuerte evidencia sobre la verdadera participación de cada una de las subunidades en la modificación de las propiedades funcionales del receptor, como la afinidad para agonistas y antagonistas, la sensibilidad a toxinas de serpiente y las propiedades cinéticas de los receptores (duración de la apertura y tiempo de la desensibilización) (20, 29).

Las conductancias iónicas para estos receptores (combinaciones α/β), están en un rango entre 15-30 pS (picoSiemens) (7) y son un poco más permeables al Ca^{++} que al Na^+ ($P_{\text{Ca}}/P_{\text{Na}}$, 1,5) (19). Adicionalmente, existen diferencias entre los perfiles farmacológicos (sensibilidad a agonistas y antagonistas) de cada una de las combinaciones α/β . Por ejemplo la citisina es un potente agonista para todos los subtipos de receptores que contienen la subunidad $\beta 4$, pero es el más débil de los agonistas en los receptores que contienen $\beta 2$, incluso convirtiéndose en antagonista de la ACh (29). De manera similar, los receptores $\alpha 3\beta 4$ son diez veces más sensibles a la ACh que los receptores $\alpha 3\beta 2$ (30).

RNACH neuronales que unen α -BGT

Proteínas que unen con altísima afinidad la α -BGT se aislaron del cerebro mediante cromatografía y a partir de una pequeña secuencia de aminoácidos se diseñó una sonda para identificar los respectivos clones de una biblioteca génica. De esta manera se identificó la subunidad $\alpha 7$; posteriormente se usó la misma sonda para identificar una secuencia similar ($\alpha 8$). Estudios paralelos de inmunoprecipitación con anticuerpos monoclonales identificaron después, que el 75% de los receptores del cerebro que unen α -BGT

contienen $\alpha 7$ y otro pequeño porcentaje contiene tanto $\alpha 7$ como $\alpha 8$ (31). Hasta ahora se ha demostrado que estos subtipos de receptor, no contienen ninguna otra subunidad, es decir forman homopentámeros $\alpha 7$, $\alpha 8$ o una combinación de ambos ($\alpha 7\alpha 8$) cuando son expresados en oocitos (32). La subunidad $\alpha 9$ ha sido puesta en evidencia, por medio de técnicas moleculares y electrofisiológicas únicamente en las células vellosas de la cóclea de rata, demostrando características semejantes a las de los receptores que incluyen $\alpha 7$ y $\alpha 8$ (33).

La dificultad mayor para el estudio de estos receptores, ha sido su rápida pérdida de sensibilidad a la acetilcolina y/o nicotina (desensibilización), posiblemente debida a la presencia de cinco probables sitios de unión al agonista. Las mediciones electrofisiológicas de este tipo de canales han requerido poner a punto un sistema de perfusión con el agonista y un registro muy rápido, pues de otra manera no se pueden evaluar las corrientes generadas. Se ha identificado que esta clase de receptores (que unen α -BGT) tiene una altísima permeabilidad para Ca^{++} , 20 veces mayor que para el Na^+ ($P_{\text{Ca}}/P_{\text{Na}^+}$, 20). La nicotina y la citisina son los agonistas más potentes para este tipo de receptores y se dejan bloquear (además de la α -BGT) por la metilcaconitina, un antagonista recientemente descrito (34).

La expresión heteróloga de estos receptores en oocitos, no reproduce exactamente las características electrofisiológicas encontradas en experimentos *ex vivo* o *in vitro*, así que se sospecha que existen otras subunidades que participan en la formación de canales funcionales y que aún no se conocen. Esto es particularmente cierto para los canales con $\alpha 8$, pues el 78% de los sitios que contienen esta subunidad tienen una constante de disociación para la nicotina de 0,012 μM , mientras que es de 11 μM para el restante 22% (35).

Este tipo de canales generan grandes

conductancias (45 pS aproximadamente) y el ingreso del catión es suficiente para desencadenar cascadas de segundos mensajeros activadas por calcio que lleven por ejemplo a una modificación del crecimiento de neuritas (36), liberación de neurotransmisores, inducción de la expresión génica, síntesis de neurotrofinas o modificaciones del citoesqueleto (37).

¿Porque esta diversidad de receptores en el sistema nervioso?

La amplia diversidad encontrada en los receptores, por la composición de subunidades, los patrones de expresión en determinadas zonas y hasta la localización celular (soma o dendritas) sumada a las diferencias de conductancia, cinética, selectividad iónica y afinidad por los ligandos, hacen difícil la comprensión de todos los fenómenos regulados por los RNACH en el Sistema Nervioso Central (SNC) y Periférico (SNP). La mayor parte de la información disponible (anatómica y bioquímica) ha ayudado a definir que el principal papel de los RNACH en el SNC es modificar la liberación de otros neurotransmisores, por su ubicación en estructuras presinápticas. Además ha sido propuesto que la diversidad de los receptores, parece estar relacionada con el tipo de neurotransmisor que es regulado.

Se conoce muy bien el hecho de que los RNACH presentes en dendritas presinápticas modulan la liberación de algunos neurotransmisores en las áreas del estriado, la substancia nigra, el hipocampo y los núcleos de la vía habénulo-interpeduncular (38). El medio por el cual se trabaja, es haciendo la lesión selectiva de una vía específica, así se puede calcular el porcentaje de RNACH que desaparecen luego de la lesión (aunque a veces no se puede excluir que los receptores postsinápticos presentes, necesiten de una correcta comunicación con el sitio lesionado). Por ejemplo, la lesión de las neuronas nigro-estriatales (usando la toxina 6OH-

dopamina) disminuye en un 30% los sitios de unión a nicotina en el estriado (39). De igual manera, sinaptosomas aislados de estas regiones específicas (estructuras presinápticas), liberan dopamina o serotonina cuando son estimulados por la nicotina, confirmando el papel regulador de este tipo de RNACH. En el hipocampo, hay evidencia sobre la regulación de la liberación de GABA y norepinefrina por agonistas nicotínicos (40) y también liberación de glutamato, que es el principal neurotransmisor excitatorio de esta región (41). Aunque no hay evidencia experimental sobre esto, se plantea que la heterogeneidad bioquímica y funcional de los RNACH presinápticos tiene como función, modular de manera muy estricta la liberación de diferentes neurotransmisores en diferentes poblaciones neuronales del SNC.

De otra parte, existen marcadas diferencias en los subtipos de receptor expresados durante el desarrollo en el embrión y en el adulto, por lo tanto se cree que estos cambios tienen gran importancia en la definición de caminos y destinos de grupos neuronales durante el desarrollo (42). Durante el desarrollo, se pueden observar cambios en las conductancias, cinética y farmacología en ciertas zonas, por ejemplo, en el momento del establecimiento de la inervación en los ganglios autonómicos, se dispara en éstos, un incremento en la expresión de los genes de varias subunidades de RNACH modificándose por supuesto la sensibilidad de estas neuronas a la ACh (43).

Además de los clásicos receptores en la placa neuromuscular, se han encontrado también RNACH de tipo postsináptico (en los somas neuronales) en neuronas del hipocampo, la corteza, el tálamo, el giro dentado y el cerebelo. No es muy clara ni la composición (subunidades) ni la función de estas sinápsis colinérgicas, pues la mayoría de los trabajos reportados se han centrado en los receptores presinápticos.

Los RNACH postsinápticos de las

neuronas periféricas (simpáticas y parasimpáticas) han sido extensamente caracterizados, tanto *in vivo* como *in vitro*. Receptores no sensibles a α -BGT (combinaciones α/β) son en su mayoría los responsables de la transmisión sináptica en el ganglio ciliar (parasimpático) (44). Otros tipos de corrientes (minoritarias), se pueden bloquear por α -BGT y comparten las características encontradas para los homopentámeros $\alpha 7$ expresados en oocitos (45). De manera similar, en el ganglio cervical superior (simpático) se encuentran también los dos tipos de receptores (sensibles y no a α -BGT), aunque la transmisión sináptica se hace principalmente por receptores insensibles a la toxina. Estos receptores postsinápticos en la periferia son los mejor caracterizados hasta el momento y son una herramienta valiosa para probar diferentes fármacos *in vitro*. En los ganglios de la raíz dorsal, que contienen neuronas exclusivamente sensitivas de tipo bipolar o pseudomonopolar, se han encontrado sitios de unión a α -BGT, se ha detectado de igual manera el RNA y las proteínas correspondientes a RNACH (46). Estas proteínas funcionan

correctamente como canales, pues también existe evidencia sobre la actividad electrofisiológica generada por ACh en estas neuronas sensoriales, aunque no se tiene una idea clara de cual sería su función en unas neuronas que no reciben sinapsis en sus somas (47).

Al parecer, todas las posibilidades bioquímicas y farmacológicas de los RNACH no están aclaradas, se sospecha que existen genes de algunas subunidades que no han sido descubiertos. Sin embargo los receptores nicotínicos siguen siendo la familia de receptores más estudiada, por su importancia en el funcionamiento cerebral, pero también por su importancia en la Salud Pública, al ser el blanco de los efectos de la nicotina del cigarrillo y en parte del alcohol. La amplia distribución de los RNACH explica el potente efecto de la nicotina en el comportamiento y hoy se conocen algunos hechos sobre la adicción que han permitido plantear alternativas en su tratamiento.

Por sus efectos estimuladores sobre ciertas zonas del cerebro, la nicotina y sus análogos, se han comenzado a investigar como fármacos neuroprotectores en enfermedades degenerativas como Alzheimer y Parkinson, mostrando excelentes resultados en los modelos animales (48). El papel de los RNACH en la nocicepción ha sido puesto en evidencia usando ratones knock-out y se ha descrito también el efecto analgésico de ciertos agonistas nicotínicos, uno de ellos 100 veces más potente que la morfina (49).

De otra parte, hay evidencia bioquímica y farmacológica sobre la participación de los RNACH en los primeros pasos de la infección por el virus de la rabia (50-51), explicando de alguna forma el alto tropismo neuronal del virus y abriendo alternativas de terapias antivirales "antirreceptor". Aunque es mucho lo que se ha dilucidado sobre todos estos tópicos, el área de investigación sigue vigente tanto en el terreno de la neurobiología básica como en la terapéutica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Bertrand D, Changeux J.** Nicotinic receptor: a prototype of allosteric ligand-gated ion channels and its possible implications in epilepsy. *Adv Neurol.* 1999; 79: 171-188
2. **Lloyd K, Williams M.** Neuronal nicotinic acetylcholine receptors as novel drug targets. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000; 292: 461-467.
3. **Clementi F, Fornasari D, Gotti C.** Neuronal nicotinic acetylcholine receptors: from structure to therapeutics. *Trends Pharmacol Sci.* 2000; 21: 35-37.
4. **Waxham NI.** Neurotransmitter Receptors. En: Zigmond M, Bloom F. *Fundamental Neuroscience.* United States: Academic Press; 1999: 35-264.
5. **Sargent P.** The diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Ann Rev Neurosci.* 1993; 16: 403-443.
6. **Lindstrom J, Anand R, Peng X, Gerzanich V, Wang F, Li Y.** Neuronal Nicotinic receptor subtypes. *Ann NY Acad Sci.* 1995; 757: 100-116.
7. **Karlin A.** Structure of nicotinic acetylcholine receptors. *Curr Opin Neurobiol.* 1993; 3: 299-309.
8. **Hucho F, Tsetlin V, Machold J.** The emerging three dimensional structure of a receptor: the nicotinic acetylcholine receptor. *Eur J Biochem.* 1996; 239: 539-557.
9. **Sansom M, Adock C, Smith G.** Modelling and simulation of ion channels: applications to the nicotinic acetylcholine receptor. *J Struct Biol.* 1998; 121: 246-262.
10. **Corringer P, Le Novere N, Changeux J.** Nicotinic receptors at the amino acid level. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2000; 40: 431-458.
11. **Siegel N, Lukas R.** Nicotinic agonists regulate α -bungarotoxin binding sites of TE671 Human medulloblastoma cells. *J Neurochem.* 1988; 50: 1272-1278.
12. **Dani J, Mayer M.** Structure and function of glutamate and nicotinic acetylcholine receptors. *Curr Opin Neurobiol.* 1995; 5: 310-317.
13. **Zhang H, Karlin A.** Identification of acetylcholine receptor channel-lining residues in the M1 segment of the β -subunit. *Biochemistry.* 1997; 36: 15856-15864.
14. **Lindstrom J.** Purification and cloning of nicotinic acetylcholine receptors. En: *Americ S, Brioni J. Neuronal Nicotinic Receptors, pharmacology and therapeutic opportunities.* New York. Eds. John Wiley and Sons, Inc. 1999 : 3-24.
15. **McGehee D.** Molecular diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Ann NY Acad Sci.* 1999; 868: 565-577.
16. **Ladinsky H.** Acetylcholine receptors: drugs and molecular genetics. *Prog Brain Res.* 1993; 98: 103-111.
17. **Wang F, Gerzanich V, Wells G.** Assembly of human neuronal nicotinic receptor $\alpha 5$ subunits with $\alpha 3$, $\beta 2$, and $\beta 4$ subunits. *J Biol Chem.* 1996; 271: 17656-17665.

18. **Asher O, Jensen B, Lupu-Meir M.** The mongoose acetylcholine receptor α -subunit: analysis of glycosylation and α -bungarotoxin binding. *FEBS Lett.* 1998; 426: 212-216.
19. **Costa A, Patrick J, Dani J.** Improved technique for studying ion channels expressed in *Xenopus* oocytes, including fast superfusion. *Biophys J.* 1994; 67: 1-7.
20. **Rust G, Burgunder J, Lauterburg T, Cachelin A.** Expression of neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit genes in the rat autonomic nervous system. *Eur J Neurosci.* 1994; 6: 478-485.
21. **Deneris E, Connolly J, Rogers S.** Pharmacological and functional diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 1991; 12: 34-40.
22. **Role W, Lorna M, Berg D.** Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapses. *Neuron.* 1996; 6: 1077-1085.
23. **McGehee D, Role L.** Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons. *Ann Rev Physiol.* 1995; 57: 521-546.
24. **Vernalis A, Conroy W, Berg D.** Neurons assemble acetylcholine receptors with as many as three kinds of subunits while maintaining subunit segregation among receptor subtypes. *Neuron.* 1993; 10: 451-464.
25. **Whitin P, Schoepfer R, Conroy W, Gore M, Keyser K, Shimasaki S et al.** Differential expression of nicotinic acetylcholine receptor subtypes in brain and retina. *Mol Brain Res.* 1991; 10: 61-70.
26. **Le Novere, Changeux J.** Molecular evolution of the nicotinic acetylcholine receptor: and example of multigene family in excitable cells. *J Mol Evol.* 1995; 40: 155-172.
27. **Stauderman K, Mahaffy S, Akong M, Velicelebi G, Chavez-Noriega L, Crona J, et al.** Characterization of human recombinant neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit combinations $\alpha 2\beta 4$, $\alpha 3\beta 4$ and $\alpha 4\beta 4$ stably expressed in HEK293 cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998; 284: 777-789.
28. **Conroy W, Vernalis A, Berg D.** The $\alpha 5$ gene product assembles with a multiple acetylcholine receptor subunits to form distinctive receptor subtypes in brain. *Neuron.* 1992; 9: 1-20.
29. **Papke R, Heinemann S.** Partial agonist properties of cytosine on neuronal nicotinic receptors containing the $\beta 2$ subunit. *Mol Pharmacol.* 1993; 45: 142-149.
30. **Luetje C, Patrick J.** Both α and β subunits contribute to the agonist sensitivity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurosci.* 1991; 11: 837-845.
31. **Schoepfer R, Conroy W, Whiting M, Gore M, Lindstrom J.** Brain α -BGT binding proteins cDNAs and mAbs reveal subtypes of this branch of the ligand-gated ion channel superfamily. *Neuron.* 1990; 5: 35-48.
32. **Couturier S, Bertrand D, Matter J, Hernandez M, Bertrand S, Millar N, et al.** A neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit $\alpha 7$ is developmentally regulated and forms a homo-oligomeric channel blocked by α -BGT. *Neuron.* 1990; 5: 847-856.
33. **Elgoyhen A, Johnson D, Boulter J, Vetter D, Heinemann S.** Alpha 9: an acetylcholine receptor with novel pharmacological properties expressed in rat cochlear hair cells. *Cell.* 1994; 79: 705-715.
34. **Gerzanich V, Anand R, Lindstrom J.** Homomers of $\alpha 7$ and $\alpha 8$ subunits of nicotinic receptors exhibit similar channel but contrasting binding sites properties. *Mol Pharmacol.* 1994; 45: 212-220.
35. **Anand R, Peng X, Ballesta J, Lindstrom J.** Pharmacological characterization of alpha-bungarotoxin-sensitive acetylcholine receptors immunisolated from chick retina: contrasting properties of $\alpha 7$ and $\alpha 8$ subunit-containing subtypes. *Mol Pharmacol.* 1993; 44: 1046-1050.
36. **Lipton S, Frosh M, Phillips M, Tauck D, Aizenman E.** Nicotinic antagonists enhance process outgrowth by rat retinal ganglion cells in culture. *Science.* 1988; 239: 1293-1296.
37. **Alkondon M, Pereira E.** Mapping the location of functional nicotinic and γ -aminobutyric acid receptors on hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996; 279: 1491-1506.
38. **Hamill G, Clarke P, Perr A, Jacobowitz D.** 3H-nicotine and 125I-BGT labelled nicotinic receptors in the interpeduncular nucleus of rats. *J Comp Neurol.* 1986; 251: 398-406.
39. **Schwartz R, Lehmann J, Kellar K.** Presynaptic nicotinic cholinergic receptors labelled by 3H-acetylcholine on catecholamine and serotonin axons in brain. *J Neurochem.* 1984; 42: 1495-1498.
40. **Rapier C, Wonnacott S, Lunt G, Albuquerque E.** The neurotoxin histrionicotoxin interacts with the putative ion channel of the nicotinic acetylcholine receptors in the central nervous system. *FEBS Lett.* 1987; 212: 292-296.
41. **Radcliffe K, Dani J.** Nicotinic stimulation produces multiple forms of increased glutamatergic synaptic transmission. *J Neurosci.* 1998; 18: 7075-7083.
42. **Brussard A, Yang X, Doyle J, Huck S, Role L.** Developmental regulation of multiple nicotinic AChR channel subtypes in embryonic chick habenula neurons: contribution of both the $\alpha 2$ and $\alpha 4$ subunit genes. *Pflugers Arch.* 1994; 429: 27-43.
43. **Levey M, Brumwell S, Dryer S, Jacob M.** Innervation and target tissue interactions differentially regulate acetylcholine receptor subunit transcript levels in developing neurons in situ. *Neuron.* 1995; 14: 153-162.
44. **Loring R, Chiappinelli V, Zigmund R, Cohen J.** Characterization of a snake venom neurotoxin which blocks nicotinic transmission in the avian ciliary ganglion. *Neuroscience.* 1984; 11: 989-999.
45. **Zhang Z, Vijayaraghavan S, Berg D.** Neuronal acetylcholine receptors that bind α -BGT with high affinity functions as ligand gated ion channels. *Neuron.* 1994; 12: 167-177.
46. **Ninkovic M, Hunt S.** Alpha-bungarotoxin binding sites on sensory neurones and their axonal transport in sensory afferents. *Brain Res.* 1983; 272: 57-69.
47. **Sucher N, Cheng T, Lipton S.** Neural nicotinic acetylcholine responses in sensory neurons from postnatal rat. *Brain Res.* 1990; 533: 248-254.
48. **Schneider J, Van Velson M, Menzaghi F, Lloyd G.** Effects of the nicotinic acetylcholine receptor agonist SYB-1508Y on object retrieval performance in MPTP-treated monkeys: Comparison with levodopa treatment. *Ann Neurol.* 1998; 43: 311-317.
49. **Bannon A, Decker M, Holladay M, Curzon P, Donnelly-Roberts D, Puttfarcken P, et al.** Broad spectrum, non-opioid analgesic activity by selective modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Science.* 1998; 289: 77-81.
50. **Lentz T.** Structure-function relationships of curare-mimetics neurotoxins loop 2 and of a structurally similar segment of rabies virus glycoprotein in their interaction with nicotinic ACh-R. *Biochemistry.* 1991; 30: 10949-10957.
51. **Castellanos J, Castañeda D, Velandia A, Hurtado H.** Partial inhibition of the in vitro infection of adult mouse dorsal root ganglion neurons by rabies virus using nicotinic antagonists. *Neurosci Letters.* 1997; 216: 198-200.