

## GABA: ¿dualidad funcional? Transición durante el neurodesarrollo

Celso Cortes-Romero, Fabián Galindo, Salvador Galicia-Isasmendi, Amira Flores

**Introducción.** El ácido gamma-aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor de tipo inhibitorio y sus acciones son mediadas por receptores de tipo ionotrópico ( $GABA_A$ ) y metabotrópico ( $GABA_B$ ), ampliamente distribuidos en el tejido nervioso central.

**Objetivo.** Revisar la estructura de los receptores GABA y su implicación en procesos fisiológicos en el sistema nervioso central.

**Desarrollo.** Se aborda el estudio de la estructura y diversidad de los receptores GABA, especialmente durante el neurodesarrollo, y se hace referencia a la naturaleza excitatoria e inhibitoria de la transmisión gabérgica, donde la participación de los cotransportadores NKCC1 y KCC2 tiene un papel clave en dicha dualidad funcional en la transición de un estadio embrionario a uno posnatal. De igual forma, se plasma el interés por los receptores GABA como diana farmacológica de uso clínico, lo que se manifiesta por la presencia de sitios de modulación alostérica poco explorados en dicho complejo-receptor.

**Conclusiones.** El conocimiento fisiológico y farmacológico de la gran diversidad de subunidades que conforman un determinado subtipo de receptor GABA, así como la correcta expresión en tiempo y espacio para garantizar la viabilidad de un organismo, prometen ser la respuesta a trastornos graves y afecciones como la epilepsia o la drogadicción, y tan complejos como el neurodesarrollo.

**Palabras clave.** Alcohol. Benzodiazepinas. Cloro. KCC2. Neurodesarrollo. NKCC1. Nocicepción. Receptores GABA.

### Introducción

Es sabido que el aminoácido ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) es el mensajero químico de tipo inhibitorio más abundante en el sistema nervioso central, sugiriéndose que el 30 o 40% de las neuronas del cerebro utilizan GABA como neurotransmisor. Su existencia en el tejido nervioso garantiza el equilibrio entre excitación e inhibición neuronal, un requisito fundamental en la función sensitiva, cognitiva y motora. De lo anterior, es válido pensar que las alteraciones en la función gabérgica son el sustrato fisiológico para el desarrollo de diversos trastornos neurológicos y psiquiátricos, como ansiedad, depresión o drogadicción [1].

### Estructura y diversidad del receptor $GABA_A$

Los receptores  $GABA_A$  son el sitio de acción para el principal neurotransmisor inhibitorio del cerebro, además de que interactúan con numerosos fármacos de uso clínico con propiedades ansiolíticas, anticonvulsivantes, musculorrelajantes y sedativas. La estructura primaria del receptor  $GABA_A$  revela que es miembro de una superfamilia de canales iónicos activados por ligando, que incluye a los recep-

tores nicotínicos para acetilcolina, receptores ionotrópicos para glutamato, glicina y  $5HT_3$  [2,3].

Los receptores  $GABA_A$  están constituidos por cinco subunidades distintas, que, al ensamblarse, forman un poro o canal específico para  $Cl^-$  o  $HCO_3^-$ . Se conocen por lo menos 16 subunidades distintas para los receptores  $GABA_A$ :  $\alpha 1-6$ ,  $\beta 1-3$ ,  $\gamma 1-3$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\pi$  y  $\theta$ , siendo la subunidad  $\beta$  el sitio de reconocimiento para el agonista [2,4,5]. A esta clasificación se suman tres subunidades denominadas  $\rho$  (rho), que conforman un receptor denominado  $GABA_C$  con propiedades farmacológicas peculiares. Algunas especies, como las aves, expresan subunidades  $\beta 4$  y  $\gamma 4$ , pero, a su vez, carecen de subunidades  $\theta$  y  $\epsilon$  [6, 7]. Lo anterior proporciona la base de una diversidad estructural extraordinaria para los receptores  $GABA_A$ . Las isoformas para un tipo de subunidad en particular comparten un 70% de homología en su secuencia, mientras que la homología entre subunidades es del 20-30%. El estudio de receptores nativos  $GABA_A$  sugiere que las principales combinaciones entre subunidades son  $\alpha 1\beta 2/\gamma 2$ ,  $\alpha 3\beta 3\gamma 2$ ,  $\alpha 2\beta 3\gamma 2$  [2,5].

Cada subunidad consta de un extremo N-terminal extracelular, que forma parte del sitio de unión para agonistas y antagonistas, tres segmentos transmembrana (M1-3), una asa intracelular y un cuarto

Instituto de Fisiología (C. Cortes-Romero, F. Galindo, S. Galicia-Isasmendi, A. Flores); Facultad de Medicina (C. Cortes-Romero); Escuela de Biología (S. Galicia-Isasmendi); Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México.

#### Correspondencia:

Dra. Amira Flores Urbina. Laboratorio de Neurobiología. Instituto de Fisiología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Avda. 14 sur, 6301. Col. San Manuel. Apdo. Postal 406. 72001 Puebla, México.

#### E-mail:

amrayo@yahoo.com.mx

#### Aceptado tras revisión externa:

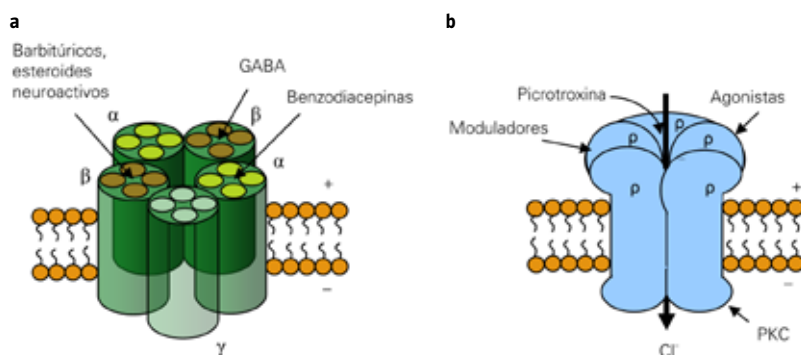
28.03.11.

#### Cómo citar este artículo:

Cortes-Romero C, Galindo F, Galicia-Isasmendi S, Flores A. GABA: ¿dualidad funcional? Transición durante el neurodesarrollo. Rev Neurol 2011; 52: 665-75.

© 2011 Revista de Neurología

**Figura 1.** Los receptores ionotrópicos GABA<sub>A</sub> (a) y GABA<sub>C</sub> (b) son complejos pentaméricos que, en su estructura, tienen acoplado un canal de cloro. La amplia variedad de subunidades que pueden conformar un receptor ionotrópico conlleva una diversidad farmacológica y fisiológica compleja. Su principal función es regular la excitabilidad del tejido nervioso.



dominio transmembrana (M4) con un extremo C-terminal extracelular. El arreglo de cada una de las subunidades determina que el segundo dominio transmembrana (M2) forme la pared del poro del canal, y la carga eléctrica del dominio determina si el canal conduce aniones o cationes. El asa intracelular citoplasmática entre los dominios tres y cuatro de la subunidad (M3-M4) es un posible sitio para la acción de proteincinasas, necesarias para la guía subcelular y el agrupamiento de receptores de membrana [8,9]. Existe la propuesta de que hay por lo menos 11 sitios estructuralmente distintos presentes en los receptores GABA<sub>A</sub>: para agonistas y antagonistas competitivos, para picrotoxina y pesticidas, para barbitúricos sedativos e hipnóticos, para esteroides neuroactivos, para benzodiazepinas, de reconocimiento para etanol, de reconocimiento para anestésicos inhalados, para furosemida, para iones Zn<sup>2+</sup>, para otros iones divalentes, y para La<sup>3+</sup>. Además, hay otros tres posibles sitios para la interacción con fosfolípidos, fosforilación a través de proteincinasas, y sitios de interacción entre receptores GABA<sub>A</sub> y microtúbulos que pueden anclar grupos de receptores en membranas postsinápticas [8].

### Receptores rho

Los receptores GABA<sub>C</sub> tienen un ensamble a partir de tres distintas subunidades conocidas como rho (ρ1-ρ3), que pueden formar receptores homooligoméricos o bien complejos heterooligoméricos. La identidad o similitud de las subunidades está alta-

mente conservada en ρ1 y muy poco en ρ3, lo que sugiere una divergencia filogenética. Principalmente, las subunidades ρ1 se expresan en la retina, pero, a diferencia de ésta, ρ2 y ρ3 pueden expresarse en otros sitios [10,11]. Cada una de las subunidades rho que conforman los receptores GABA<sub>C</sub> presenta un extremo N-terminal extracelular que forma parte del sitio de unión a agonistas y antagonistas, posterior a esta región, tres segmentos transmembrana (TM1, 2 y 3), un asa intracelular de longitud variable que continúa con el cuarto dominio transmembrana, y un extremo C-terminal extracelular. El arreglo de cada subunidad conlleva a que los segmentos M2 formen la pared del canal de cloro. Además, se cree que entre el segmento M3 y M4 existen los sitios de acción para las proteincinasas necesarias para la guía subcelular y el agrupamiento de receptores [8,10].

Las respuestas farmacológicas mediadas por los receptores rho parecen no ser un referente obligado para describir un subtipo específico de receptor (GABA<sub>C</sub>), ya que, en distintas regiones cerebrales que carecen de dichas subunidades, se describe un perfil farmacológico similar al del complejo GABA<sub>C</sub> [2].

Debido a la similitud estructural y funcional de los receptores rho con los GABA<sub>A</sub>, y a que dentro de la misma diversidad de receptores GABA<sub>A</sub> algunos muestran insensibilidad a moduladores positivos, como las benzodiazepinas, el Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Farmacología ha determinado clasificar a los receptores rho como miembros de la familia de receptores GABA<sub>A</sub> (Fig. 1) y ha recomendado, a su vez, no emplear el término GABA<sub>C</sub> [2].

### Farmacología de los receptores GABA<sub>A</sub>

Los receptores GABA<sub>A</sub> son bloqueados selectivamente y de manera competitiva por el alcaloide bicuculina, mientras que el fármaco convulsionante picrotoxina, también antagonista gabérgico, lo hace de manera no competitiva, bloqueando el poro del canal de cloro acoplado a los receptores GABA<sub>A</sub>. Por lo que respecta a los agonistas, muscimol, isoguvacina, 4,5,6,7-tetrahidroisoxazolo[5,4-c]pirindin-3-ol y ácido trans 4-aminocrotónico (TACA), son sustancias capaces de unirse al mismo sitio en el que GABA induce sus respuestas inhibitorias [11,12].

La molécula de GABA presenta una flexibilidad conformacional, debido a que sus enlaces internos son capaces de rotar libremente, por lo que distintos estados conformacionales de la molécula pueden activar distintos receptores GABA de manera diferencial. Esto es, un fármaco agonista que activa

receptores GABA<sub>A</sub> puede usarse como antagonista para los receptores GABA<sub>C</sub> [13].

En el mismo sentido, la sensibilidad de los receptores GABA<sub>A</sub> a diversos agentes moduladores varía con respecto a su composición estructural, por lo que los receptores GABA<sub>A</sub> exhiben una heterogeneidad en términos de propiedades del canal y modulación por fármacos. Por ejemplo, algunos receptores no presentan sitios de reconocimiento para benzodiazepinas, y otros son insensibles al etanol (Tabla I) [14,15].

### Benzodiazepinas

Las benzodiazepinas incrementan o disminuyen la activación de receptores GABA<sub>A</sub>. El sitio de unión de las benzodiazepinas radica en la interfaz entre las subunidades  $\alpha 1$ - $\gamma 2$  del receptor GABA, donde el aminoácido fenilalanina 77 participa de manera especial en el reconocimiento de dichos fármacos [16]. Ambas subunidades son requeridas para que los receptores GABA<sub>A</sub> exhiban una potenciación de su activación por parte de las benzodiazepinas.

Los efectos sedativos, amnésicos, miorelajantes, ansiolíticos y anticonvulsivos de las benzodiazepinas son producidos vía la activación de receptores GABA<sub>A</sub>. La presencia de estos compuestos no garantiza la apertura del canal iónico del receptor; sin embargo, de manera alostérica, son capaces de incrementar la afinidad del GABA por su receptor y la frecuencia con la que el canal de cloro se abre [1].

### Neuroesteroides

Los esteroides tienen sitios de acción distintos a los de las benzodiazepinas y barbitúricos. Asimismo, pueden abrir de manera directa el canal de cloro asociado al receptor GABA<sub>A</sub> e incrementar la frecuencia y duración de apertura del poro [17]. Los neuroesteroides hipnóticos, como el 3 $\alpha$ -hidroxi-5 $\alpha$  dihidroprogesterona y 3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ -tetrahydrodeoxicorticosterona están entre los esteroides moduladores más potentes de los receptores GABA<sub>A</sub> [8]. Los anestésicos esteroides, como pregnanolona, etanol, halotano, isoflurano y propofol, incrementan la función del canal de cloro del receptor GABA<sub>A</sub> [18].

### Barbitúricos

Las sinapsis gabérgicas son el blanco farmacológico de los efectos de los barbitúricos, y en ellas subyacen los mecanismos moleculares de su tolerancia y dependencia [19]. Los barbitúricos son fármacos depresores del sistema nervioso central con propie-

**Tabla I.** Fármacos agonistas, antagonistas y moduladores que interactúan con los receptores GABA (tomado de [2,8,11,12,24,41]).

	Subunidades	Agonistas	Antagonistas	Moduladores	Bloqueadores del canal de Cl <sup>-</sup>
GABA <sub>A</sub>	$\alpha 1$ -6, $\beta 1$ -3, $\gamma 1$ -3, $\delta$ , $\epsilon$ , $\theta$ , $\pi$	Isoguvacina Muscimol THIP TACA	Bicuculina SR 95531	Barbitúricos Benzodiazepinas Esteroides Etanol	Picrotoxina Zn <sup>2+</sup> TBPS
GABA <sub>B</sub>	GBR <sub>1a-b</sub> GBR <sub>2</sub>	Baclofeno SKF97541 CGP27492	Faclofeno Saclofeno CGP36742 3-APPA	CGP13501 CGP7930	
GABA <sub>C</sub>	$\rho 1$ -3	Muscimol TACA CACA TAMP CAMP	TPMPA THIP I4AA SR95531 SKF97541 3-APS ZAPA	Zn <sup>2+</sup> La <sup>3+</sup>	Picrotoxina TBPS

3-APPA: ácido 3-aminopropil fosfónico; 3-APS: 3-amino-1-ácido propanosulfónico; CACA: ácido 4-cis-aminocrotónico; CAMP: ( $\pm$ )-cis-2-ácido aminometilciclopropanocarboxílico; CGP13501: 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxi-a, a-dimetilbenzenepropanol; CGP27492: ácido 3-aminopropil fosfónico; CGP36742 ácido fosfónico 3-aminopropil-n-butyl; CGP7930: 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxib,b-dimetil benzenepropanol; GABA: ácido  $\gamma$ -aminobutírico; I4AA: ácido acético-4-imidazol; La<sup>3+</sup>: lantano; SKF97541: ácido 3-aminopropil(metil)fosfónico; SR95531: (3-carboxipropil)-3-amino-6 metoxifenil-piridazinium bromuro; TACA: trans 4-ácido aminocrotónico; TAMP: ( $\pm$ )-trans-2-ácido aminometilciclopropanocarboxílico; TBPS: t-butyl-biciclo-fosforotionato; THIP: 4,5,6,7-tetrahydroisoxazolo [5,4-c] piridin-3-ol; TPMPA: 1,2,5,6-ácido tetrahidropiridina-4-metilfosfónico; ZAPA: Z-3-[(aminoiminometil)tiol]propil-2-ácido enoico; Zn<sup>2+</sup>: zinc.

dades sedativas, hipnóticas y anestésicas. Los barbitúricos, como pentobarbital, fenobarbital o secobarbital, incrementan la respuesta a GABA, prolongando el tiempo que el canal de cloro permanece abierto, sin afectar su frecuencia de apertura [20]. Estudios electrofisiológicos y neuroquímicos han revelado que los anestésicos tienen, por lo menos, tres mecanismos de acción distintos:

- Potenciación de la respuesta a GABA [21].
- Activación directa de los receptores GABA<sub>A</sub> [22].
- En altas concentraciones, un bloqueo del canal de cloro [20].

### Farmacología de los receptores rho (GABA<sub>C</sub>)

Los receptores GABA<sub>C</sub> carecen de un efecto modulador por benzodiazepinas, barbitúricos o neuroesteroides [2]. Las conformaciones parcialmente plegadas de GABA y sus agonistas pueden activar receptores GABA<sub>C</sub>. Los agonistas más potentes de GABA<sub>C</sub> son TACA y muscimol. En este sentido, la activación de los receptores GABA<sub>C</sub> por agonistas presenta el siguiente orden: TACA > GABA > mus-

cimol > ácido acético-4-imidazol > ( $\pm$ )-trans-2-ácido aminometilciclopropanocarboxílico >> ( $\pm$ )-cis-2-ácido aminometilciclopropanocarboxílico  $\approx$  ácido 4-cis-aminocrotónico (CACA) > isoguvacina [13]. Cabe señalar que el agonista parcial CACA ha sido utilizado preferentemente para discernir entre receptores GABA<sub>C</sub> y GABA<sub>A</sub>. Sin embargo, en dosis elevadas, CACA puede activar receptores GABA<sub>A</sub> presentes en células bipolares de la retina ( $\geq 500 \mu\text{M}$ ) [23] y en células granulosas cerebelares ( $\geq 50 \mu\text{M}$ ) [24].

La acción antagonista de la picrotoxina sobre el complejo receptor GABA<sub>C</sub> se realiza de manera competitiva y es dependiente del uso, mientras que para los receptores GABA<sub>A</sub>, la picrotoxina actúa de manera no competitiva [25,26].

### GABA y alcohol

El etanol es una sustancia de uso y abuso en nuestra sociedad, con una acción depresora del sistema nervioso central. El etanol promueve una inhibición de la excitabilidad mediada por receptores NMDA y una potenciación de la transmisión inhibitoria de los receptores GABA<sub>A</sub> [27,28].

En concentraciones menores de 25 mM, el etanol es capaz de provocar euforia o desinhibición, mientras que en concentraciones sanguíneas por arriba de 100 mM puede causar fallo respiratorio y, en consecuencia, la muerte. La mayoría de los estudios sobre los efectos del alcohol encuentran que el etanol puede potenciar los receptores GABA<sub>A</sub> en concentraciones por encima de 60 mM [29]. Sin embargo, otros trabajos apuntan a la existencia de una subpoblación de receptores GABA<sub>A</sub> sensibles a etanol en muy baja concentración (< 30 mM) [30]. Dichos receptores son extrasinápticos, activados por una concentración muy baja de GABA, y median una inhibición tónica lejos del espacio sináptico [31]. De manera característica, la subunidad  $\delta$  se expresa en su estructura [32].

Por lo tanto, la explicación de que un receptor GABA<sub>A</sub> muestre una mayor o menor sensibilidad al alcohol reside en su composición estructural. Las subunidades  $\delta$  y  $\beta 3$  parecen ser imprescindibles para que un receptor GABA<sub>A</sub> presente una alta afinidad al etanol. Cuando dichas subunidades son intercambiadas por  $\gamma 2$  y  $\beta 2$ , respectivamente, la sensibilidad del receptor al alcohol disminuye considerablemente [32].

### Cognición

Recientemente se ha encontrado que los receptores

GABA<sub>A</sub> conformados con la subunidad  $\alpha 5$  son un sitio de acción para el agonista inverso RO4938581. La administración de dicho fármaco mejora la cognición, favoreciendo la consolidación de la memoria espacial y temporal [33]. Adicionalmente, la mutación de la subunidad  $\alpha 5$  (H105R) en receptores GABA<sub>A</sub> en el hipocampo resultó en una mejora del aprendizaje de asociación y en una resistencia neuronal para eliminar la respuesta condicionada de miedo [34]. Es conveniente pensar que, además de los receptores NMDA activados por glutamato, los receptores GABA, con su inhibición, también participan en el desarrollo de procesos cognitivos en el hipocampo [9].

### Epilepsia

El desajuste o fallo en la transmisión gabérgica genera hiperexcitabilidad, lo que, a su vez, desencadena el fenómeno epileptogénico [35]. Las regiones cerebrales mejor definidas como focos epilépticos son principalmente la neocorteza y el hipocampo. De igual forma, estudios experimentales han revelado que la estimulación eléctrica repetitiva, farmacológica y sensorial de la amígdala puede transformarla en una región cerebral epileptogénica [36].

Cabe señalar que la fisiopatología de la epilepsia tiene un fuerte determinante genético, puesto que las mutaciones puntuales, o bien delecciones cromosómicas capaces de alterar la expresión neuronal de alguna proteína de membrana que forme parte o sea ella misma una determinada subunidad para un canal iónico, provocarán anomalías funcionales del paso selectivo de un ion y, en consecuencia, alteraciones de la excitabilidad neuronal [36,37].

Hoy en día se sabe que el fallo en una correcta expresión de la subunidad  $\gamma 2$  del receptor GABA<sub>A</sub> es la disrupción estructural que da origen a la aparición de la epilepsia. Se han descrito dos mutaciones en dicha subunidad. La primera consiste en la sustitución de una metionina por una lisina en el asa extracelular corta entre TM2 y TM3, resultando en la disminución de la corriente iónica del receptor GABA<sub>A</sub> [36,38]. La segunda se produce cuando la glutamina se sustituye por la arginina en el dominio N-terminal extracelular de la subunidad  $\gamma 2$ . Esta última produce epilepsia idiopática familiar y, además, ocasiona insensibilidad del receptor a benzodiazepinas y diazepam [39]. Muchos de los cuadros idiopáticos se explican por la alteración de genes que codifican subunidades de canales de cloro, incluidas las alteraciones del receptor GABA [40,41].

## Receptores GABA<sub>B</sub>

La segunda principal categoría de los receptores GABA son los receptores metabotrópicos de siete dominios transmembrana acoplados a proteínas G, conocidos como GABA<sub>B</sub>, cuya localización en las sinapsis es pre y postsináptica [1].

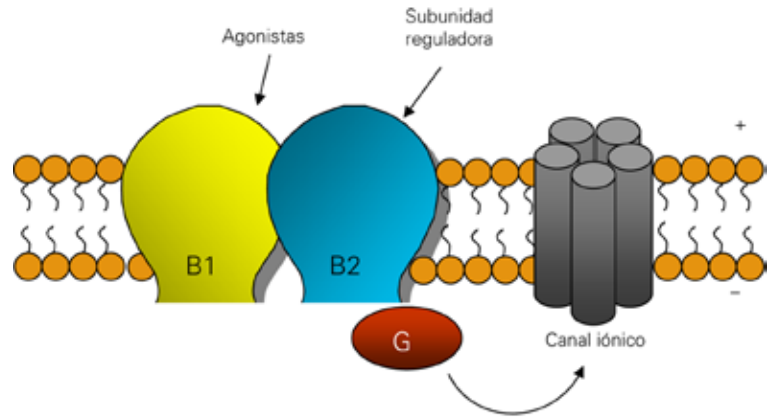
La regulación de la excitabilidad neuronal a través de los receptores GABA<sub>B</sub> puede ocurrir por tres distintos mecanismos:

- Los niveles de AMPc en la célula pueden ser regulados por la activación de los receptores GABA<sub>B</sub> a través de las proteínas G<sub>1</sub>α y G<sub>o</sub>α que inhiben a las isoformas I, III, V y VI de la adenilato ciclasa, o bien de manera positiva a través del complejo Gβγ que estimula a las isoformas II, IV y VII. Este último efecto depende de la presencia de la proteína G<sub>s</sub>α [42].
- En diversas preparaciones, los receptores GABA<sub>B</sub> tienen sus efectos presinápticos a través de una inhibición dependiente de voltaje de los canales de Ca<sup>2+</sup> tipo N (Ca<sub>v</sub>2.2) o tipo P/Q (Ca<sub>v</sub>2.1). La activación de estos canales promueve la liberación de neurotransmisores desde la presinapsis [43]. Los receptores GABA<sub>B</sub> inducen una corriente inhibitoria postsináptica a través de la activación de los canales de potasio rectificadores entrantes (GIRK o Kir3) [44], lo que resulta en una hiperpolarización.
- Los receptores GABA<sub>B</sub> se presentan como un heterodímero formado por subunidades designadas como GABA<sub>B1</sub> y GABA<sub>B2</sub> [45]. Ambas subunidades tienen un alto peso molecular (110 kDa), siete dominios transmembrana y una larga cadena extracelular en su N-terminal. La subunidad GABA<sub>B2</sub> no sólo permite que la subunidad GABA<sub>B1</sub> alcance la superficie celular, sino que parece ser el sitio de unión con la proteína G, mientras que la subunidad GABA<sub>B1</sub> es necesaria para la activación del receptor por el agonista, esto es, la unión de GABA u otros agonistas a GABA<sub>B1</sub> conlleva a la activación de la proteína G a través de GABA<sub>B2</sub>. Precisamente, las isoformas de los receptores GABA<sub>B</sub> más estudiadas, abundantes y altamente conservadas entre especies son GABA<sub>B1a</sub> y GABA<sub>B1b</sub> (Fig. 2) [43].

## Farmacología de los receptores GABA<sub>B</sub>

El baclofeno, un relajante muscular y antiespástico, es el agonista selectivo de los receptores GABA<sub>B</sub>, lo que, hasta hoy, lo coloca como la herramienta farmacológica de mayor utilidad para caracterizar a dichos receptores [46]. Los primeros antagonistas

**Figura 2.** Los receptores metabotrópicos GABA<sub>B</sub> son heterodímeros con localización pre y postsináptica, donde inhiben la liberación de neurotransmisor y provocan la hiperpolarización, respectivamente. Poseen importantes sitios de modulación alostérica potencialmente útiles para la clínica.



para los receptores GABA<sub>B</sub> con acciones centrales capaces de atravesar la barrera hematoencefálica fueron CGP35348 y CGP36742. Sin embargo, la creación de nuevos fármacos ha llevado al desarrollo de antagonistas con una afinidad hasta 10.000 veces más alta de la que presentan los primeros compuestos [47]. Otros dos antagonistas de utilidad farmacológica son el ácido fosfónico o faclofeno, y el ácido sulfónico o saclofeno, ambos análogos del baclofeno, pero que antagonizan de manera selectiva a los receptores GABA<sub>B</sub>. Actualmente, el empleo de moduladores alostéricos del receptor GABA<sub>B</sub> ha sido relevante en estudios dirigidos al tratamiento de trastornos neurológicos y psiquiátricos (Tabla I) [1].

## Nocicepción

La administración del agonista baclofeno causa efectos analgésicos en humanos; sin embargo, su uso ha quedado restringido, debido a la gran variedad de efectos secundarios y la rápida tolerancia tras su administración sistémica. La acción analgésica del baclofeno se debe, parcialmente, a que disminuye la liberación de neurotransmisores nociceptivos en las neuronas aferentes primarias en el asta dorsal de la médula espinal [1,48].

De cualquier forma, hay antecedentes claros de que la activación periférica y central de receptores GABA<sub>B</sub> modula la actividad neuronal ante los estímulos crónicos nocivos [49].

**Tabla II.** Clasificación y distribución de los cotransportadores catión-cloro (tomado de [54-56]).

Cotransportadores	Ubicación
NCC	Riñón
NKCC1	Sistema nervioso central y periférico, riñón
NKCC2	Riñón
KCC1	Ubicuidad
KCC2	Sistema nervioso central maduro
KCC3	Sistema nervioso central, músculo, riñón, pulmón
KCC4	Sistema nervioso central, músculo, páncreas

Algunos estudios indican que la ausencia de la expresión de las subunidades GABA<sub>B1</sub> y GABA<sub>B2</sub> se correlaciona fisiológicamente con el desarrollo de hiperalgesia en animales sometidos a pruebas de dolor. Si bien estos animales son viables, el fenómeno equivale a receptores GABA<sub>B</sub> no formados, lo que haría pensar que los receptores GABA<sub>B</sub> participan en el mantenimiento de un umbral al dolor [1,50].

### Abuso de drogas

Los estudios preclínicos demuestran que el uso del baclofeno puede ser una herramienta clínica clave para el tratamiento de los problemas de adicción a las drogas de abuso, como cocaína, heroína, alcohol y nicotina [51]. Sin embargo, los efectos secundarios tras la administración de baclofeno son el gran inconveniente para su uso terapéutico [1]. La alternativa en el tratamiento de la farmacodependencia parece ser el empleo de moduladores alostéricos, que, si bien no son capaces de tener acción de agonistas, pueden potenciar el efecto de GABA o baclofeno en los receptores GABA<sub>B</sub>. El empleo de los moduladores GS39783 y GS39783 para el receptor GABA<sub>B</sub> en ratas sugiere ser una estrategia farmacológica en el tratamiento de la ingesta desmedida de alcohol [1].

Actualmente, se sabe que las drogas de abuso provocan la liberación de dopamina hacia el espacio extracelular del núcleo *accumbens* [52], que es una región cerebral que participa en el proceso conductual de reforzamiento y recompensa. La administración de baclofeno disminuye el deseo y autoadministración de cocaína y nicotina en ratas, puesto que

decrementa el patrón de descarga de neuronas dopaminérgicas en el área ventral tegmental [53].

### Depresión y ansiedad

El uso de moduladores alostéricos positivos del receptor GABA<sub>B</sub> como alternativa farmacológica en el tratamiento de diversos trastornos, tanto físicos como psíquicos, aumenta. El empleo de GS39783 y CGP7930 ha mostrado tener efectos ansiolíticos en roedores que experimentan ansiedad [54].

Una de las evidencias contundentes acerca de los receptores GABA<sub>B</sub> como un blanco farmacológico clave en el tratamiento de la ansiedad y depresión queda demostrada con el trabajo de Mombeureau et al en 2004. El empleo de ratones GABA<sub>B(1)</sub> (-/-) sometidos a pruebas estresantes revela que dichos animales son más ansiosos o bien cursan con períodos de inmovilidad (conducta similar a la depresiva) [55]. La administración aguda o crónica de GS39783 disminuye la ansiedad de animales sometidos a pruebas de nado forzado y de laberinto, mientras que el empleo de CGP56433A, antagonista selectivo para el receptor GABA<sub>B</sub>, disminuye la inmovilidad en pruebas de nado forzado. Hay evidencias experimentales de que los antagonistas de GABA<sub>B</sub> contribuyen a mejorar la depresión, mientras que el empleo de agonistas y moduladores alostéricos para dicho receptor son de utilidad para la ansiedad [54,55].

### GABA y cotransportadores catión-cloro (CCC)

Los CCC son glucoproteínas con un peso molecular de 120-200 kDa. Estas proteínas poseen un NH<sub>2</sub> terminal intracelular relativamente pequeño, seguido de 12 segmentos transmembrana y de un largo COO<sup>-</sup> terminal también intracelular, que constituye cerca de la mitad de la proteína [56]. La familia de los CCC comprende nueve integrantes codificados por los genes *Slc12a1-9*, que funcionalmente son clasificados en tres grupos: un cotransportador Na<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> (NCC), dos cotransportadores Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> (NKCC1-2) y cuatro cotransportadores K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> (KCC1-4) [54,55]. Los dos restantes, CIP1 o Slc12a8 y CCC9 o Slc12a9 no tienen todavía una definición funcional. El movimiento de iones a través de los CCC no tiene un efecto directo sobre el potencial de membrana celular, ya que la estequiometría de transporte de los CCC es electroneutra [56]. Al mismo tiempo, los ciclos en el transporte iónico por medio de estas proteínas no requieren la hidrólisis directa de adenosín trifosfato (ATP), pues-

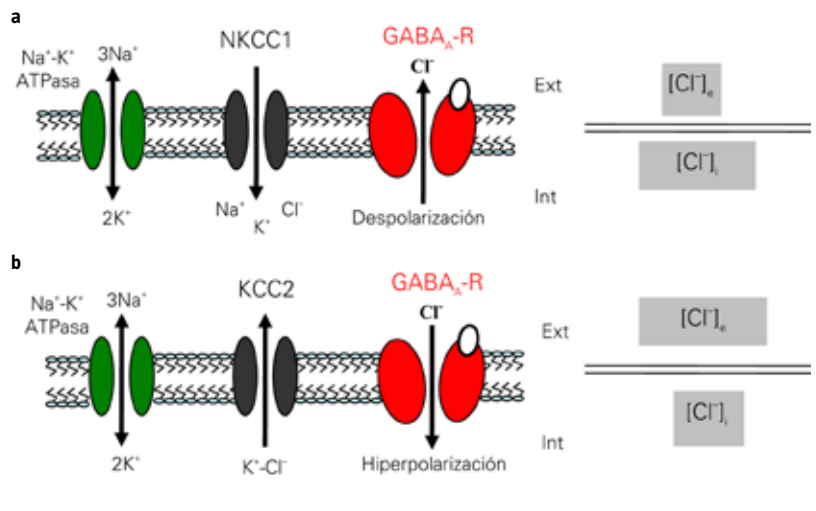
to que la energía para el transporte de iones se deriva de los gradientes de concentración catiónica previamente generados por la omnipresente  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPasa (Tabla II) [56-58]. Debido a que la acción de los CCC es regular la  $[\text{Cl}^-]_i$ , éstos se relacionan íntimamente con la neurotransmisión gabérgica en el sistema nervioso. Se sabe que el cotransportador KCC2 tiene una expresión específica y funcional en neuronas, y que su acción consiste en decrementar la  $[\text{Cl}^-]_i$ . Por su parte, el transportador NKCC1, también expresado en células nerviosas, cumple con la función opuesta a KCC2. Una consideración importante es la posible existencia de ambas proteínas en una misma célula, por lo que la consecuencia funcional de dicha coexpresión sería la generación de gradientes intracelulares de cloro en la neurona. Por lo tanto, una respuesta neuronal despolarizante o bien hiperpolarizante mediada por la activación de receptores  $\text{GABA}_A$  adyacentes a NKCC1 o bien a KCC2 podría estar determinada por estos últimos (Fig. 3).

Se sabe que la expresión de NKCC1 es alta durante el desarrollo embrionario y posnatal temprano, y que su decremento se correlaciona con un aumento simultáneo en la expresión de KCC2 [59], favoreciéndose, de este modo, un cambio en la neurotransmisión gabérgica, que va de despolarizante a hiperpolarizante [56]. Sin embargo, no siempre la sobreexpresión de KCC2 resulta ser funcional y, en consecuencia, el cambio en las acciones de GABA como neurotransmisor en los estadios perinatales podría verse retrasado [56,60]. Aunado a lo anterior, no es posible hacer la generalización acerca de que las respuestas despolarizantes o hiperpolarizantes por activación de receptores  $\text{GABA}_A$  sean consecuencia exclusiva de un particular CCC, esto es, una moderada despolarización por GABA podría ocasionar la inactivación de canales de sodio y la consecuente activación de canales de potasio que revirtieran con mayor fuerza el primer fenómeno, resultando, por último, en una inhibición [56], o bien la señalización gabérgica despolarizante podría tener una acción facilitadora sobre la neurotransmisión glutamatérgica excitatoria [61]. Asimismo, el gradiente electroquímico de la corriente de los receptores  $\text{GABA}_A$  podría verse modificado por variaciones continuas del potencial de membrana y presentar una dirección saliente [56].

### Receptores GABA y neurodesarrollo

Durante el período prenatal, se cree que GABA actúa como un factor trófico. La despolarización mediada

**Figura 3.** a) En neuronas inmaduras, NKCC1 mueve cloro al interior celular utilizando el gradiente de sodio establecido previamente por la bomba sodio-potasio ATPasa. Tras la activación del receptor GABA por su ligando, la salida del cloro a través del canal-receptor favorece la despolarización de la membrana; b) Durante la vida posnatal, la alta expresión de KCC2 sustituye a la de NKCC1; consecuentemente, la concentración de cloro extracelular es mayor con respecto al interior de la célula. Bajo estas condiciones, la transmisión gabérgica cambia de excitatoria a inhibitoria.



por GABA puede regular la neurogénesis, la sinaptogénesis y el número final de neuronas por medio de un sistema de segundos mensajeros [62-64].

La acción excitadora de GABA es transitoria a través de los receptores  $\text{GABA}_A$ , y parece ser una característica distintiva durante el desarrollo neuronal [63]. Las evidencias indican que GABA por sí mismo activa un *switch*, que produce una acción excitadora en un sistema inmaduro y una acción inhibitoria en un sistema maduro [65]. Por lo tanto, se cree que, durante el desarrollo, GABA ejerce principalmente un papel trófico a través de las despolarizaciones y un incremento en la concentración del calcio intracelular, ambas condiciones esenciales para el crecimiento y plasticidad neuronal [66].

Se ha argumentado que los receptores ionotrópicos  $\text{GABA}_A$ , NMDA y AMPA muestran una participación secuencial en la excitación neuronal durante el desarrollo de diversas estructuras cerebrales. GABA actúa como un neurotransmisor excitador, mientras que la transmisión glutamatérgica solamente produce la activación de receptores NMDA y hay una ausencia funcional de los receptores AMPA. Así, las sinapsis glutamatérgicas son silentes en el potencial de membrana en reposo, dado que el  $\text{Mg}^{2+}$  bloquea los receptores NMDA. Sin embargo, cuando las sinapsis gabérgica y glutamatérgica son ac-

tivadas simultáneamente, los receptores gabérgicos pueden facilitar la activación de los receptores NMDA, eliminando el bloqueo por  $Mg^{2+}$  a través de la despolarización que ellos producen, y toman la función perteneciente a los receptores AMPA activados más tarde en el desarrollo, tiempo en el cual GABA tomaría su papel de neurotransmisor inhibidor [67,68]. Sin embargo, este cambio en la acción de GABA en neuronas inmaduras, en comparación con neuronas maduras, no es generalmente aceptado, puesto que hay evidencias que indican que en las neuronas inmaduras de la médula espinal los receptores GABA<sub>A</sub> median respuestas tanto excitadoras como inhibitorias. Se ha sugerido que las respuestas excitadoras producidas por GABA pueden deberse a la participación de un mecanismo de transporte de cloro dependiente de  $Na^+$  y no a una transición en la respuesta gabérgica [69,70].

En este mismo contexto, se ha descrito que, previamente a la maduración de redes nerviosas, la actividad espontánea sincrónica, como la que se presenta en un hipocampo inmaduro de mamífero, es crucial para el correcto desarrollo de la conectividad neuronal. Dicha actividad, conocida como potenciales despolarizantes gigantes, involucra la acción cooperativa de receptores GABA<sub>A</sub>, NMDA y AMPA. Debido a esta heterogeneidad, podría pensarse en la participación de diferentes poblaciones celulares que subyacen a la actividad neuronal sincrónica. Los potenciales despolarizantes gigantes provocados o espontáneos son bloqueados por la administración de antagonistas gabérgicos, lo que sugiere una participación primaria de la neurotransmisión gabérgica. Una segunda propuesta es que los potenciales despolarizantes gigantes sean consecuencia directa de la transmisión glutamatérgica, y que GABA cumpla con un papel facilitador en su generación [71,72].

Respecto a los tipos de receptores GABA presentes en neuronas inmaduras, hay evidencias de que la expresión de ciertas subunidades del receptor GABA<sub>A</sub> están diferencialmente reguladas durante el desarrollo cerebral con respecto a la distribución regional y estadio del desarrollo. Por ejemplo, en el ratón, las subunidades que predominan durante el desarrollo embrionario son  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$  y  $\alpha 5$ , mientras que otras están mínimamente expresadas o ausentes en el cerebro adulto de este mismo animal [73,74]. La expresión de la subunidad  $\alpha 1$  es baja al nacimiento, pero su inmunorreactividad incrementa durante la primera semana de vida posnatal, mientras que la inmunorreactividad de la subunidad  $\alpha 2$  disminuye [74,75]. Adicionalmente, la subunidad  $\alpha 5$  se encuentra durante todo el desarrollo pre y posnatal, y apa-

rece en el ratón desde el día embrionario 17 hasta la madurez [75]. Esto indica que el receptor GABA<sub>A</sub> tiene características farmacológicas variables a lo largo del desarrollo, y continúa cambiando durante los primeros días de vida del animal.

El resultado de la expresión diferencial de las subunidades del receptor GABA<sub>A</sub> no está del todo caracterizado; sin embargo, parece ser que el cambio de estas proteínas es esencial para el desarrollo normal del cerebro [76].

Por lo que respecta a la participación de los receptores GABA<sub>B</sub>, a través de estudios de hibridación *in situ* e inmunohistoquímica se sabe que el ARN mensajero y la proteína como tal de las subunidades GABA<sub>B1</sub> y GABA<sub>B2</sub> están ampliamente distribuidos en el sistema nervioso, con un marcaje especialmente intenso en el cerebelo, hipocampo y tálamo [45]. En el cerebro adulto, las isoformas GABA<sub>B1a</sub> y GABA<sub>B1b</sub> tienen una amplia distribución, pero hay diferencias regionales en los niveles de expresión. Durante el desarrollo, los niveles de GABA<sub>B1a</sub> y GABA<sub>B1b</sub> cambian, predominando durante el nacimiento la isoforma GABA<sub>B1a</sub>, y posteriormente, y en el transcurso de las dos primeras semanas de vida posnatal, la expresión de esta subunidad tendrá un decaimiento. Por otro lado, la expresión de la isoforma GABA<sub>B1b</sub> es baja al nacimiento, incrementándose durante las dos primeras semanas de vida posnatales del ratón, de tal manera que, en la vida adulta, la expresión de esta subunidad será dos veces más abundante que la isoforma GABA<sub>B1a</sub> [77,78]. Aunque no hay estudios que confirmen la participación de receptores GABA<sub>B</sub> durante el desarrollo y en la vida posnatal temprana, su participación puede ser crucial en el cambio del fenotipo neuronal de inmaduro a maduro.

Respecto a los receptores GABA<sub>C</sub>, mediante estudios con reacción en cadena de la polimerasa y con la técnica de fijación de voltaje, se ha cuantificado la expresión de las subunidades rho y se han caracterizado corrientes mediadas por receptores GABA<sub>C</sub> en distintos estadios del desarrollo de la retina, y se ha encontrado que la expresión de la subunidad rho1 es detectable a partir del día seis de vida posnatal, incrementando sus niveles de expresión hasta alcanzar su pico en el día nueve posnatal, permaneciendo constante durante la vida adulta. Sin embargo, la subunidad rho2 no aparece sino hasta el día nueve posnatal, alcanzando su pico en el día quince posnatal. Durante el desarrollo y en la vida adulta, hay dos veces más expresión de rho1 que de rho2. Estos resultados señalan que, al inicio de la vida posnatal, los receptores GABA<sub>C</sub> están formados únicamente por subunidades rho1 [79].

Los receptores GABA<sub>C</sub> básicamente se han estudiado en la retina de animales en estadios adultos, por lo que son escasas las evidencias en cuanto a la expresión y función de estos receptores durante el desarrollo embrionario del sistema nervioso. Sin embargo, hay notificaciones de un posible coensamblaje de la subunidad rho1 perteneciente a los receptores GABA<sub>C</sub> con la subunidad  $\alpha$  de receptores GABA<sub>A</sub>, dando origen a un receptor heteromérico con capacidad de respuesta al agonista CACA y con posibilidad de ser bloqueado por bicuculina (antagonista GABA<sub>A</sub>) y por TPMPA, antagonista del receptor GABA<sub>C</sub> [80]. Esta propuesta, si bien no es concluyente, podría ayudar a explicar el comportamiento tan complejo y aún no esclarecido del GABA durante la vida embrionaria en diversos organismos vertebrados. Por otro lado, Shen et al, estudiando células amácrinas y ganglionares de la retina por medio de la técnica de fijación de voltaje, obtuvieron el registro de corrientes mediadas por un subtipo del receptor GABA<sub>A</sub>. Estas corrientes fueron bloqueadas por el antagonista competitivo bicuculina, pero fueron insensibles al antagonista no competitivo picrotoxina [81].

## Conclusiones

Si bien el estudio y conocimiento acerca de la gran familia de receptores activados por ligando ha tenido un gran avance en los últimos años, para muchos de sus miembros y, en especial, para GABA, la comprensión exacta de las respuestas farmacológicas mediadas por sus receptores es aún un área experimental con mucho potencial que promete tener una extraordinaria utilidad clínica. La presencia de sitios de modulación alostérica en los receptores GABA brinda la oportunidad para el desarrollo de drogas con gran afinidad y eficacia, lo que disminuiría los efectos secundarios indeseables en el tratamiento que involucra la administración de agonistas o antagonistas gabérgicos. A su vez, la amplia distribución en tejido nervioso del aminoácido GABA y de sus receptores durante la vida embrionaria y posnatal de diversas especies hace referencia a una trascendente participación del receptor y su agonista en procesos biológicos clave, como el neurodesarrollo o la consolidación de la memoria y el aprendizaje, o bien en condiciones patológicas, como la drogadicción, depresión y epilepsia. Aunado a lo anterior, la gran variedad de subunidades que pueden conformar un determinado subtipo de receptor GABA deberá ser correctamente expresada en tiempo y lugar para garantizar o no la viabilidad de un organismo.

## Bibliografía

1. Enna SJ, Möhler H. The GABA receptors. 3 ed. Totowa, NJ: Human Press; 2007.
2. Olsen RW, Sieghart W. International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of  $\gamma$ -aminobutyric acid A receptors: classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. Update Pharmacol Rev 2008; 60: 243-60.
3. Velázquez-Flores MA, Salceda R. Modulación de los receptores ionotrópicos de tipo cys-loop por proteincinasas A y C. Rev Neurol 2011; 52: 173-81.
4. Simeone TA. Molecular biology and ontogeny of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) receptors in the mammalian central nervous system. J Child Neurol 2003; 18: 39-48.
5. Whiting PJ. Drug GABA<sub>A</sub> receptor subtypes in the brain: a paradigm for CNS drug discovery? Drug Discov Today 2003; 8: 445-50.
6. Barnard EA, Skolnick P, Olsen RW, Möhler H, Sieghart W, Biggio G, et al. International Union of Pharmacology. XV. Subtypes of  $\gamma$ -aminobutyric acid A receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function. Pharmacol Rev 1998; 50: 291-313.
7. Simon, J, Wakimoto H, Fujita N, Lalande M, Barnard EA. Analysis of the set of GABA<sub>A</sub> receptor genes in the human genome. J Biol Chem 2004; 279: 41422-35.
8. Johnston GAR. GABA<sub>A</sub> receptor channel pharmacology. Curr Pharm Design 2005; 11: 1867-85.
9. Möhler H. GABA<sub>A</sub> receptor diversity and pharmacology. Cell Tissue Res 2006; 326: 505-16.
10. Johnston GAR. Medicinal chemistry and molecular pharmacology of GABA<sub>C</sub> receptors. Curr Top Med Chem 2002; 2: 903-13.
11. Sieghart W, Ernst M. Heterogeneity of GABA<sub>A</sub> receptors: revived interest in the development of subtype-selective drugs. Curr Med Chem Cent Nerv Syst 2005; 5: 217-42.
12. Johnston GA. GABA<sub>C</sub> receptors: relatively simple transmitter-gated ion channels? Trends Pharmacol Sci 1996; 17: 319-23.
13. Chebib M, Johnston GA. The 'ABC' of GABA receptors: a brief review. Clin Exp Pharmacol Physiol 1999; 26: 937-40.
14. Gallager DW, Tallman JF. Relationship of GABA<sub>A</sub> receptor heterogeneity to regional differences in drug response. Neurochem Res 1990; 15: 113-8.
15. Criswell HE, Simson PE, Duncan GE, McCown TJ, Hebert JS, Morrow AL, et al. Molecular basis for regionally specific action of ethanol on  $\gamma$ -aminobutyric acid A receptors: generalization to other ligand-gated ion channels. J Pharmacol Exp Ther 1993; 267: 522-37.
16. Baur R, Sigel E. On high and low-affinity agonist sites in GABA<sub>A</sub> receptors. J Neurochem 2003; 87: 325-32.
17. Sieghart W. Structure and pharmacology of GABA<sub>A</sub> receptor subtypes. Pharmacol Rev 1995; 47: 181-234.
18. Rudolph U, Crestani F, Möhler H. GABA<sub>A</sub> receptor subtypes: dissecting their pharmacological functions. Trends Pharmacol Sci 2001; 22: 188-94.
19. Ito T, Suzuki T, Wellman SE, Ing KH. Pharmacology of barbiturate tolerance/dependence: GABA<sub>A</sub> receptors and molecular aspects. Life Sci 1996; 59: 169-95.
20. Brandon CD, Fisher JL. Identification of structures within GABA<sub>A</sub> receptor  $\alpha$  subunits that regulate the agonist action of pentobarbital. J Pharmacol Exp Ther 2006; 318: 1094-101.
21. Lin LH, Chen LL, Zirrolli JA, Harris RA. General anesthetics potentiate gamma-aminobutyric acid actions on gamma-aminobutyric acid A receptors expressed by *Xenopus* oocytes: lack of involvement of intracellular calcium. J Pharmacol Exp Ther 1992; 263: 569-78.
22. Franks NP, Lieb WR. Molecular and cellular mechanisms of general anaesthesia. Nature 1994; 367: 607-14.
23. Pan ZH, Lipton SA. Multiple GABA receptor subtypes mediate inhibition of calcium influx at rat retinal bipolar cell terminals. J Neurosci 1995; 15: 2668-79.
24. Wall MJ. Cis-4-amino-crotonic acid activates  $\alpha 6$  subunit-containing GABA<sub>A</sub> but not GABA<sub>C</sub> receptors in granule

- cells of adult rat cerebellar slices. *Neurosci Lett* 2001; 316: 37-40.
25. Macdonald RL, Olsen RW. GABA<sub>A</sub> receptor channels. *Annu Rev Neurosci* 1994; 17: 569-602.
  26. Zhang D, Pan ZH, Awobuluyi M, Lipton SA. Structure and function of GABA<sub>C</sub> receptors: a comparison of native versus recombinant receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22: 121-32.
  27. Hoffman PL, Tabakoff B, Szabo G, Suzdak PD, Paul SM. Effect of an imidazobenzodiazepine, Ro15-4513, on the incoordination and hypothermia produced by ethanol and pentobarbital. *Life Sci* 1987; 41: 611-9.
  28. Mihic SJ, Harris RA. Inhibition of  $\rho 1$  receptor GABAergic currents by alcohols and volatile anesthetics. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 277: 411-6.
  29. Borghese CM, Sturustovu SI, Ebert B, Herd MB, Belelli D, Lambert JJ, et al. The  $\delta$  subunit of  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptors does not confer sensitivity to low concentrations of ethanol. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316: 1360-8.
  30. Wei W, Faria LC, Mody JJ. Low ethanol concentrations selectively augment the tonic inhibition mediated by delta subunit-containing GABA<sub>A</sub> receptors in hippocampal neurons. *Neurosci* 2004; 24: 8379-82.
  31. Nusser Z, Sieghart W, Somogyi P. Segregation of different GABA<sub>A</sub> receptors to synaptic and extrasynaptic membranes of cerebellar granule cells. *J Neurosci* 1998; 18: 1693-703.
  32. Wallner M, Hanchar HJ, Olsen RW. Ethanol enhances  $\alpha 4\beta 3\delta$  and  $\alpha 6\beta 3\delta$   $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptors at low concentrations known to affect humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 15218-23.
  33. Ballard TM, Knoflach F, Prinssen E, Borron E, Vivian JA, Basile J, et al. RO4938581, a novel cognitive enhancer acting at GABA<sub>A</sub>  $\alpha 5$  subunit-containing receptors. *Psychopharmacol* 2009; 202: 207-23.
  34. Yee BK, Hauser J, Dolgov VV, Keist R, Möhler H, Rudolph U, et al. GABA<sub>A</sub> receptors containing the  $\alpha 5$  subunit mediate the trace effect in aversive and appetitive conditioning and extinction of conditioned fear. *Eur J Neurosci* 2004; 20: 1928-36.
  35. Olsen RW, DeLorey TM, Gordey M, Kang MH. GABA receptor function and epilepsy. *Adv Neurol* 1999; 79: 499-510.
  36. Cabo de la Vega C, Villanueva-Hernández P, Prieto-Martín A. Neuroquímica de la epilepsia, neurotransmisión inhibitoria y modelos experimentales: nuevas perspectivas. *Rev Neurol* 2006; 42: 159-168.
  37. Mejía-Toiber J, Castillo CG, Giordano M. Terapia celular y terapia génica *ex vivo*: avances en el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central. *Rev Neurol* 2009; 49: 483-9.
  38. Baulac S, Huberfeld G, Gourfinkel-An I, Mitropoulou G, Beranger A, Prud'homme JF et al. First genetic evidence of GABA<sub>A</sub> receptor dysfunction in epilepsy: a mutation in the  $\gamma 2$ -subunit gene. *Nat Genet* 2001; 28: 46-8.
  39. Wallace RH, Marini C, Petrou S, Harkin LA, Bowser DN, Panchal RG, et al. Mutant GABA<sub>A</sub> receptor  $\gamma 2$ -subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures. *Nat Genet* 2001; 28: 49-52.
  40. Gutiérrez-Delgado E, Serratos JM. Genetics of the epilepsies. *Curr Opin Neurol* 2004; 17: 147-53.
  41. Lerche H, Weber YG, Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F. Ion channel defects in idiopathic epilepsies. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 2737-52.
  42. Simonds WF. G protein regulation of adenylate cyclase. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 20: 66-73.
  43. Bettler B, Kaupmann K, Mosbacher J, Gassmann M. Molecular structure and physiological functions of GABA<sub>B</sub> receptors. *Physiol Rev* 2004; 84: 835-67.
  44. Lüscher C, Jan LY, Stoffel M, Malenka RC, Nicoll RA. G protein-coupled inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels (GIRKs) mediate postsynaptic but not presynaptic transmitter actions in hippocampal neurons. *Neuron* 1997; 19: 687-95.
  45. Kaupmann K, Malitschek B, Schuler V, Heid J, Froestl W, Beck P, et al. GABA<sub>B</sub> receptor subtypes assemble into functional heteromeric complexes. *Nature* 1998; 396: 683-7.
  46. Enna SJ. GABA<sub>B</sub> receptor signaling pathways. In Möhler H, ed. *Pharmacology of GABA and Glycine neurotransmission*. Berlin: Springer; 2001. p. 329-42.
  47. Bowery NG, Enna SJ. Gamma-aminobutyric<sub>B</sub> receptors: first of the functional metabotropic heterodimers. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292: 2-7.
  48. Riley RC, Trafton JA, Chi SI, Basbaum AI. Presynaptic regulation of spinal cord tachykinin signaling via GABA<sub>B</sub> but not GABA<sub>A</sub> receptor activation. *Neuroscience* 2001; 103: 725-37.
  49. Potes CS, Neto FL, Castro-Lopes JM. Administration of baclofen, a GABA<sub>B</sub> agonist, in the thalamic ventrobasal complex attenuates allodynia in monoarthritic rats subjected to the ankle-bend test. *J Neurosci Res* 2006; 83: 515-23.
  50. Schuler V, Luscher C, Blanchet C, Klix N, Sansig C, Klebs K, et al. Epilepsy, hyperalgesia, impaired memory, and loss of pre- and post-synaptic GABA<sub>B</sub> responses in mice lacking GABA<sub>B1</sub>. *Neuron* 2001; 31: 47-58.
  51. Bowery NG. GABA<sub>B</sub> receptor: a site of therapeutic benefit. *Curr Opin Pharmacol* 2006; 6: 37-43.
  52. Roberts DC, Andrews MM, Vickers GJ. Baclofen attenuates the reinforcing effects of cocaine in rats. *Neuropsychopharmacol* 1996; 15: 417-23.
  53. Erhardt S, Mathe JM, Chergui K, Engberg G, Svensson TH. GABA<sub>B</sub> receptor-mediated modulation of the firing pattern of ventral tegmental area dopamine neurons in vivo. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2002; 365: 173-80.
  54. Jacobson LH, Cryan JF. Evaluation of the anxiolytic-like profile of the GABA<sub>B</sub> receptor positive modulator CGP7930 in rodents. *Neuropharmacology* 2008; 54: 854-62.
  55. Mombereau C, Kaupmann K, Froestl W, Sansig G, Putten H, Cryan JF. Genetic and pharmacological evidence of a role for GABA<sub>B</sub> receptors in the modulation of anxiety- and antidepressant-like behavior. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29: 1050-62.
  56. Blaesse P, Airaksinen MS, Rivera C, Kaila K. Cation-chloride cotransporters and neuronal function. *Neuron* 2009; 26: 820-38.
  57. Gamba G. Molecular physiology and pathophysiology of electroneutral cation-chloride cotransporters. *Physiol Rev* 2005; 85: 423-93.
  58. Kahle KT, Staley KJ, Nahed BV, Gamba G, Hebert SC, Lifton RP, et al. Roles of the cation-chloride cotransporters in neurological disease. *Nat Clin Pract Neurol* 2008; 4: 490-503.
  59. Lu J, Karadsheh M, Delpire E. Developmental regulation of the neuronal-specific isoform of K-Cl cotransporter KCC2 in postnatal rat brains. *J Neurobiol* 1999; 39: 558-68.
  60. Clarkson J, Herbison AE. Development of GABA and glutamate signaling at the GnRH neuron in relation to puberty. *Mol Cell Endocrinol* 2006; 254-5: 32-8.
  61. Gao XB, Chen G, Van den Pol AN. GABA-dependent firing of glutamate-evoked action potentials at AMPA/kainate receptors in developing hypothalamic neurons. *J Neurophysiol* 1998; 79: 716-26.
  62. LoTurco JJ, Owens DF, Health MJ. GABA and glutamate depolarize cortical progenitor cells and inhibit DNA synthesis. *Neuron* 1995; 15: 1287-98.
  63. Varju P, Katarova Z, Madarasz E, Szabo G. GABA signalling during development: new data and old questions. *Cell Tissue Res* 2001; 305: 239-46.
  64. Owens DF, Kriegstein AR. Is there more to GABA than synaptic inhibition? *Nat Rev Neurosci* 2002; 3: 715-27.
  65. Ganguly K, Schinder AF, Wong ST, Poo M. GABA itself promotes the developmental switch of neuronal GABAergic responses from excitation to inhibition. *Cell* 2001; 105: 521-32.
  66. Represa A, Ben-Ari Y. Trophic actions of GABA on neuronal development. *Trends Neurosci* 2005; 28: 278-83.
  67. Ben-Ari Y, Khazipov R, Leinekugel X, Caillard O, Giaarsa J. GABA<sub>A</sub>, NMDA and AMPA receptors: a developmentally regulated 'ménage à trois'. *Neurosci* 1997; 20: 523-9.
  68. Leinekugel X, Medina I, Khalilov I, Ben-Ari Y, Khazipov R. Ca<sup>2+</sup> oscillations mediated by the synergistic excitatory actions of GABA<sub>A</sub> and NMDA receptors in the neonatal hippocampus. *Neuron* 1997; 18: 243-55.
  69. Ballanyi K, Grafé P. An intracellular analysis of  $\gamma$ -aminobutyric

- acid-associated ion movements in rat sympathetic neurons. *J Physiol* 1985; 365: 41-58.
70. Rohrbough J, Spitzer NC. Regulation of intracellular Cl<sup>-</sup> levels by Na<sup>+</sup>-dependent Cl<sup>-</sup> cotransport distinguishes depolarizing from hyperpolarizing GABA<sub>A</sub> receptor-mediated responses in spinal neurons. *J Neurosci* 1996; 16: 82-91.
  71. Menéndez de la Prida L, Bolea S, Sánchez-Andrés JV. Origin of the synchronized network activity in the rabbit developing hippocampus. *Eur J Neurosci* 1998; 10: 899-906.
  72. Menéndez de la Prida L, Sánchez-Andrés JV. Heterogeneous populations of cells mediate spontaneous synchronous bursting in the developing hippocampus through a frequency-dependent mechanism. *Neuroscience* 2000; 97: 227-41.
  73. Laurie DJ, Wisden W, Seeburg PH. The distribution of thirteen GABA<sub>A</sub> receptor subunit mRNAs in the rat brain. III. Embryonic and postnatal development. *J Neurosci* 1992; 12: 4151-72.
  74. Luddens H, Korpi ER, Seeburg PH. GABA<sub>A</sub>/benzodiazepine receptor heterogeneity: neurophysiological implications. *Neuropharmacology* 1995; 34: 245-54.
  75. Killisch I, Dotti CG, Laurie DJ. Expression patterns of GABA<sub>A</sub> receptor subtypes in developing hippocampal neurons. *Neuron* 1991; 7: 927-36.
  76. Culiati CT, Stubbs LJ, Woychik RP. Phenotypic consequences of deletion of the  $\gamma 3$ ,  $\alpha 5$  or  $\beta 3$  subunit of the type A  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor causes cleft palate in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 2815-8.
  77. Benke D, Honer M, Michel C. Gamma-aminobutyric acid type B receptor splice variant proteins GBR1a and GBR1b are both associated with GBR2 in situ and display differential regional and subcellular distribution. *J Biol Chem* 1999; 274: 27323-30.
  78. Fritschy JM, Meskenaite V, Weinmann O. GABA<sub>B</sub>-receptor splice variants GB1a and GB1b in rat brain: developmental regulation, cellular distribution and extrasynaptic localization. *Eur J Neurosci* 1999; 11: 761-8.
  79. Greka A, Lipton SA, Zhang D. Expression of GABA<sub>C</sub> receptor rho1 and rho2 subunits during development of the mouse retina. *Eur J Neurosci* 2000; 12: 3575-82.
  80. Milligan CJ, Buckley NJ, Garret M, Deuchars J, Deuchars SA. Evidence for inhibition mediated by coassembly of GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>C</sub> receptor subunits in native central neurons. *J Neurosci* 2004; 33: 9241-50.
  81. Shen DW, Higgs MH, Salvay D, Olney JW, Lukasiewicz, PD, Romano C. Morphological and electrophysiological evidence for an ionotropic GABA receptor of novel pharmacology. *J Neurophysiol* 2002; 87: 250-6.

### GABA: a functional duality? Transition during neurodevelopment

**Introduction.** Gamma-aminobutyric acid (GABA) is the most important inhibitory-type neurotransmitter and its actions are mediated by ionotropic (GABA<sub>A</sub>) and metabotropic (GABA<sub>B</sub>) type receptors, which are widely distributed throughout the tissue of the central nervous system.

**Aim.** To review the structure of GABA receptors and their involvement in physiological processes in the central nervous system.

**Development.** The study addresses the structure and diversity of the GABA receptors, especially during neurodevelopment, and reference is made to the excitatory and inhibitory nature of GABAergic transmission, where the participation of the cotransporters NKCC1 and KCC2 plays a key role in this functional duality in the transition from an embryonic to a post-natal state. Likewise, the interest in GABA receptors as a pharmacological target for clinical use is also discussed. This is manifested by the presence of under-explored allosteric modulation sites in the aforementioned complex-receptor.

**Conclusions.** The physiological and pharmacological knowledge of the great diversity of subunits that make up a particular subtype of GABA receptor, as well as the correct expression in time and space in order to ensure the viability of the organism, promise to be the answer to long-time severe disorders like epilepsy or drug addiction, and such complex ones as neurodevelopment.

**Key words.** Alcohol. Benzodiazepines. Chlorine. GABA receptors. KCC2. Neurodevelopment. NKCC1. Nociception.