



NEUROLOGÍA

www.elsevier.es/neurologia



PERAMPANEL: APORTACIONES TERAPÉUTICAS EN EPILEPSIA 2 AÑOS
DESPUÉS DE SU APROBACIÓN EN ESPAÑA

Búsqueda de innovación: antagonistas selectivos del receptor AMPA

The search for innovation: selective AMPA receptor antagonists

A.G. Caicoya

Unidad de Epilepsia, Servicio de Neurología, Hospital Universitario Quirónsalud Madrid, Pozuelo de Alarcón, Madrid, España

El receptor AMPA

Estructura y localización

El receptor AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico) pertenece, junto a los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato), los receptores de kainato y los receptores huérfanos (cuya función aún está por determinar), a la familia de los receptores de glutamato ionotrópicos, es decir, que su activación permite el flujo de iones a través de un poro que se forma a través de la membrana neuronal¹. Estos receptores son en su mayor parte activados por glutamato, el neurotransmisor excitatorio más importante del cerebro. Sus nombres se deben a los agonistas que activan estos receptores, en el caso del receptor AMPA el ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico. Los receptores de glutamato ionotrópicos participan en la transmisión sináptica química rápida, y tienen un papel importante en la posibilidad de modificar la intensidad de la transmisión sináptica y con eso en el aprendizaje y la memoria².

Todos los receptores de glutamato ionotrópicos son polipéptidos glucolizados de una media de 900 aminoácidos que atraviesan la membrana¹. Los receptores AMPA están constituidos por diferentes subunidades, que a su vez consisten en los 3 segmentos alfa-helicoidales transmembrana M1, M3 y M4 alrededor del poro del canal. Los aminoácidos al final de estos segmentos determinan la permeabilidad del canal para diferentes iones. Un cambio de un único aminoácido

en la punta del segmento puede convertir un canal permeable para calcio en un canal impermeable para este ion. Los dominios extracelulares contienen los sitios de unión de los agonistas, mientras que los dominios intracelulares tienen sitios para unirse a diferentes proteínas que interfieren en el intercambio y la estabilización de los receptores. La parte del poro iónico tiene 2 estrecheces, la primera formada por la punta de los segmentos transmembrana y la segunda constituida por las partes superiores de los segmentos M1 y M3, que forman la boca del canal. Cuando se une el glutamato al sitio de unión, estas partes de las hélices se doblan y permiten la apertura de la boca del canal (fig. 1B)¹.

El receptor AMPA se localiza en todas las regiones corticales y está constituido por 4 subunidades (GluA1-GluA4)¹, que forman tetrámeros de diferente composición: los homotetrámeros contienen 4 subunidades iguales, mientras que en los heterotetrámeros pueden coincidir diferentes subunidades¹. Las subunidades pueden ser modificadas tras la transcripción a múltiples isoformas. Adicionalmente existen cambios durante el desarrollo cerebral debidos a un *splicing* alternativo o una modificación del ARN, lo cual permite la formación de receptores con diferentes características biofísicas debido a sus diferencias en el canal³. Cada subunidad del receptor AMPA viene codificada por un gen diferente, que tiene una expresión temporal y regional específica, lo que permite una regulación independiente de las diferentes isoformas durante el desarrollo cognitivo. De esta manera, inicialmente predomina la forma “*flip*” del receptor, que carece de la subunidad GluA2 y es permeable para potasio, sodio y calcio, y más tarde, en el desarrollo, predomina la forma “*flop*”, que contiene la subunidad GluA2, volviendo el receptor impermeable para calcio, lo

Correo electrónico: a_caicoya@yahoo.es

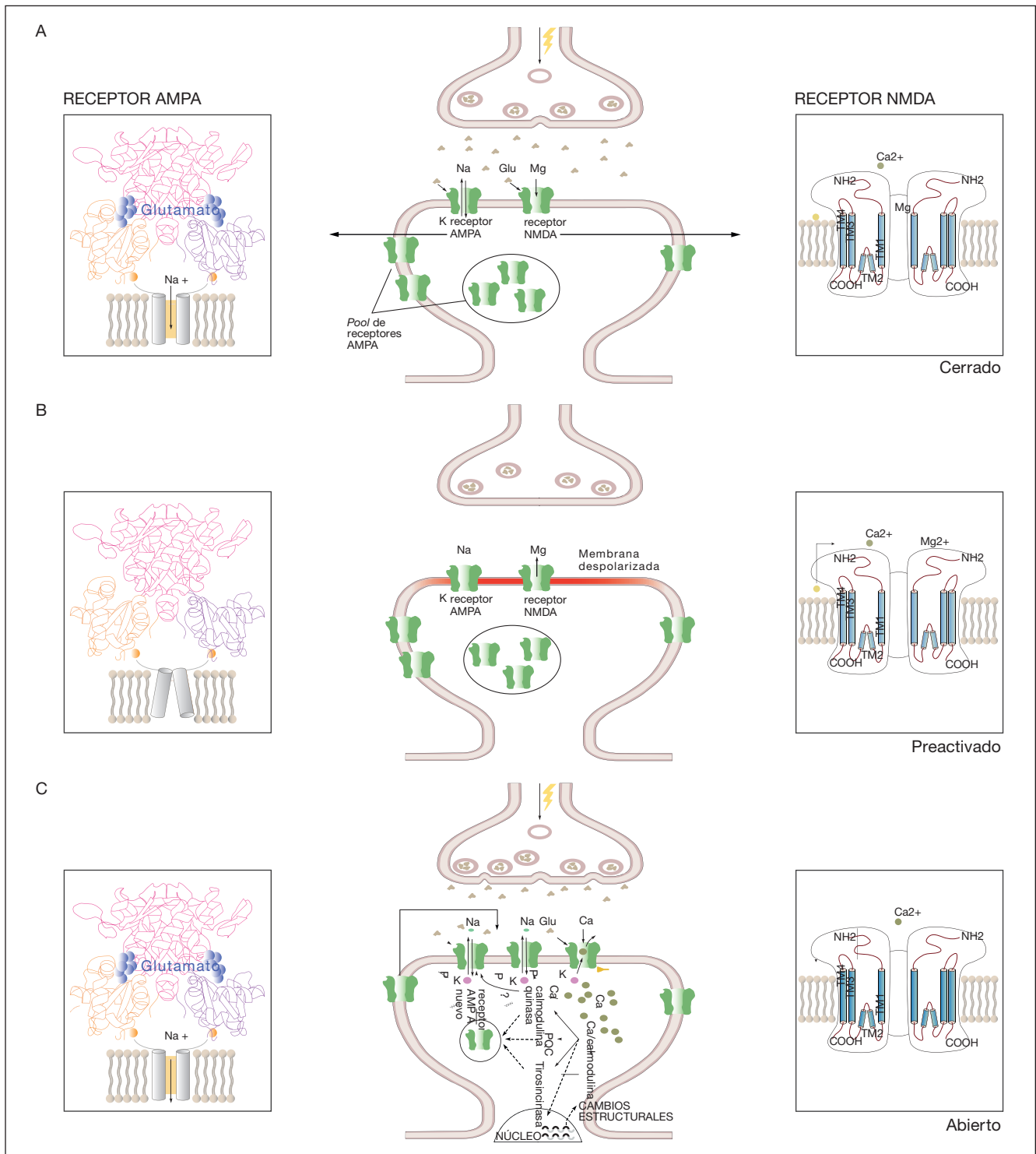


Fig. 1 Mecanismo de potenciación de la transmisión sináptica a través de los receptores AMPA y NMDA. A) Un estímulo llega por la neurona presináptica y se libera glutamato hacia la membrana postsináptica y se une a los receptores AMPA y NMDA. Los receptores AMPA se abren y dejan pasar sodio al interior de la célula. Los receptores NMDA no se abren, porque están bloqueados por un ion de magnesio en su interior. B) La membrana postsináptica está despolarizada por el flujo de sodio a través de los receptores AMPA. El magnesio sale del interior del receptor NMDA y ese receptor entra en un estado de preactivación. C) Un segundo estímulo llega en menos de un milisegundo por la neurona presináptica y se vuelve a liberar glutamato a la hendidura sináptica. Esta vez se abren tanto los receptores AMPA como los receptores NMDA que estaban preactivados. A través de los receptores NMDA pasa sobre todo calcio al interior de la célula postsináptica, donde induce mecanismos que llevan a una incorporación de nuevos receptores AMPA a la membrana postsináptica desde el interior de la célula y los laterales de la sinapsis, y se produce una mayor síntesis de proteínas en el núcleo para la formación de nuevos botones sinápticos.

que permite una desensibilización más rápida que produce una señal más precisa⁴.

Cada subunidad del receptor AMPA contiene un sitio de unión para un agonista como el glutamato. Cuando 2 o más sitios estén ocupados, el receptor se abre y permite el flujo de iones a través de la membrana neuronal.

El receptor está asociado a diferentes proteínas, como las proteínas transmembrana reguladoras del receptor AMPA (*transmembrane AMPA receptor regulatory proteins*, TARP) y otras proteínas que influyen en la forma de respuesta y la permeabilidad iónica de los receptores AMPA¹. Una característica del receptor AMPA reside en el tráfico entre diferentes depósitos de reserva y la membrana postsináptica (fig. 1), que permite la regulación de números de receptores AMPA que participan en la transmisión sináptica en función de la actividad excitatoria de cada sinapsis⁵.

En el cerebro adulto, la mayoría de los receptores AMPA son selectivos para sodio, aunque algunos receptores AMPA en interneuronas y motoneuronas pueden ser permeables tanto para sodio como para calcio. Los receptores AMPA se encuentran predominantemente en la membrana postsináptica y en la membrana de las dendritas.

Función en la transmisión sináptica

Los receptores AMPA permiten la transmisión sináptica química rápida entre neuronas del sistema nervioso central⁶. Junto con los receptores NMDA tienen importancia en procesos de modificación de la transmisión sináptica, como la potenciación a largo plazo (*long term potentiation*, LTP) y la depresión a largo plazo (*long term depression*, LTD), los dos mecanismos que se cree representan el correlato neurofisiológico del aprendizaje y de la memoria⁵. Estos fenómenos están descritos, sobre todo, en las sinapsis del hipocampo, pero también se encuentran en otras regiones cerebrales.

Para la LTP, los receptores NMDA tienen una función determinante⁷. Estos receptores están bloqueados en condiciones normales de transmisión sináptica por un ion de magnesio. Cuando llega un estímulo a la neurona presináptica (fig. 1A), la membrana presináptica se despolariza y se libera glutamato a la hendidura sináptica. Este glutamato se une a los receptores AMPA y NMDA, pero solo se abren los primeros para dejar pasar el sodio al interior de la célula postsináptica, mientras que los receptores NMDA están bloqueados por el magnesio. El magnesio se desplaza del receptor NMDA cuando la membrana postsináptica está despolarizada y el receptor entra en un estado de preactivación (fig. 1B), y si en este momento (con una diferencia de menos de 1 ms) llega un segundo estímulo por la neurona presináptica y se libera nuevamente glutamato hacia la membrana postsináptica, el receptor NMDA también se abre y deja pasar el calcio (fig. 1C). El calcio actúa en la neurona postsináptica como mensajero secundario que pone en marcha diferentes mecanismos, entre ellos una mayor incorporación de receptores AMPA en la membrana postsináptica y una mayor producción de receptores AMPA en la célula. Parte de estos nuevos receptores AMPA se localizaban previamente en los laterales de la sinapsis, donde participaban menos en la transmisión sináptica¹.

La forma de almacenaje y su incorporación en la membrana postsináptica dependen del tipo de receptor AMPA; es decir, que receptores formados por diferentes combinaciones de subunidades difieren también en sus funciones específicas dentro de la célula postsináptica⁵. Los mecanismos de la LTP adicionalmente ponen en marcha cambios estructurales que llevan a la formación de nuevos botones sinápticos. Todos estos mecanismos incrementan la intensidad de la transmisión sináptica entre la neurona pre y la neurona postsináptica, que se puede observar durante días y semanas.

En el proceso de la LTD, los cambios que ocurren en la sinapsis son contrarios y llevan a una menor transmisión sináptica⁷. Ambos procesos son importantes en el aprendizaje y la memoria, regulando un funcionamiento normal de la plasticidad neuronal.

Desarrollo cognitivo

Durante el desarrollo cerebral temprano hay pocas formas “*flop*” del receptor AMPA que contienen la subunidad GluA2 del receptor. El predominio de formas “*flip*” que permiten el paso de calcio, podría contribuir a la mayor susceptibilidad del cerebro inmaduro para tener crisis epilépticas, debido a la hiperexcitabilidad producida por receptores AMPA permeables para calcio y la pérdida consecutiva de interneuronas gabaérgicas por muerte neuronal excitotóxica⁸. En modelos animales de estatus epiléptico se observó un aumento de receptores AMPA permeables para calcio, lo cual contribuye a una hiperexcitabilidad neuronal a largo plazo y el subsecuente desarrollo de crisis epilépticas⁹.

El receptor AMPA en procesos de hiperexcitabilidad

Existen diferentes mecanismos que llevan a un aumento de la excitabilidad neuronal y a una sincronización anormal entre las neuronas que desencadenan finalmente las crisis epilépticas. Uno de estos mecanismos es el aumento de la transmisión sináptica excitatoria a través de los receptores AMPA y NMDA, lo cual lleva a la aparición de las descargas epileptiformes¹⁰. Los antagonistas del receptor NMDA pueden disminuir estas descargas en experimentos *in vitro*, pero no las suprimen. En cambio, los antagonistas del receptor AMPA sí suprimen las descargas epileptiformes, lo que sugiere que los receptores AMPA juegan un papel importante en la sincronización entre neuronas y con eso en la hiperexcitabilidad. Los receptores NMDA a su vez prolongan esta descarga sincronizada¹¹.

Aunque no se ha encontrado todavía ninguna alteración genética que afecte a los receptores AMPA y produzca epilepsia en el ser humano, las mutaciones en las proteínas TARP que participan en los procesos de tráfico intracelular de los receptores AMPA sí pueden causar epilepsia¹¹.

El descubrimiento de que los receptores AMPA son determinantes para la generación de actividad epileptiforme ha llevado a la búsqueda de antagonistas del receptor AMPA como tratamiento antiepileptico.

Como los receptores AMPA son también importantes para los procesos neurofisiológicos que permiten adquirir y alma-

cenar información nueva en el cerebro, había la preocupación de que los antagonistas del receptor AMPA pudieran afectar al aprendizaje y a la memoria. Sin embargo, aunque el bloqueo de los receptores NMDA puede suprimir la aparición de LTP, el bloqueo de los receptores AMPA in vitro no afecta a la inducción de LTP, a pesar de alterar la transmisión sináptica excitatoria¹¹. Este fenómeno se debe probablemente a diferencias entre las descargas repetitivas epileptiformes y los estímulos repetitivos que inducen la LTP.

Búsqueda de los antagonistas del receptor AMPA

La mayoría de los fármacos antiepilépticos que se usan hoy en día se han encontrado gracias a pruebas de *screening* en modelos animales de epilepsia, como por ejemplo el test de máximo electroshock o el test de pentilinetetrazol; ambos modelos, mediante estímulos eléctricos o fármacos, inducen crisis agudas y sirven más para medir la eficacia de un fármaco en crisis agudas que en la epilepsia crónica⁶. Este tipo de test favorece encontrar fármacos que actúen sobre los canales de sodio dependientes del voltaje, ya que son los que suelen mostrar eficacia en este tipo de modelos. Cuando se empezó a comprender la importancia de la inhibición en la patofisiología de la epilepsia, se empezó a investigar fármacos que actuaran sobre el receptor de GABA y se desarrollaron fármacos como la vigabatrina y la tiagabina como primeros antiepilépticos buscados a través de una estrategia racional⁶. Otras posibles estructuras cerebrales implicadas en el desarrollo de hiperexcitabilidad podrían ayudar a identificar candidatos a nuevos fármacos con diferentes mecanismos de acción. De esta forma se investigarían los mecanismos de acción de compuestos convulsivógenos, buscando nuevas dianas como otros canales iónicos, proteínas asociadas a estos canales o a la transmisión sináptica que forman parte en procesos de hiperexcitabilidad. Últimamente se están investigando también los productos de genes conocidos por estar implicados en la epilepsia⁶.

Desde hace más de 20 años se están buscando compuestos que podrían actuar sobre el receptor AMPA no solo para el tratamiento de la epilepsia, sino también para patologías neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson y la esclerosis lateral amiotrófica¹. Se han identificado diferentes candidatos como antagonistas del receptor AMPA; el primer antagonista competitivo que se descubrió en 1990 fue un derivado de un relajante muscular. A partir de entonces se fueron desarrollando diferentes prototipos, como el 2,3-dihidroxi-6-nitro-7-sulfamiloil-benzo[f]quinoxalino (NBQX), pero este compuesto tiene poca capacidad de penetrar la barrera hematoencefálica y además es poco soluble, ya que precipita en concentraciones eficaces en los riñones⁶. Las modificaciones de este compuesto aumentaron la solubilidad pero empeoraron la penetración al cerebro, por lo que se siguió desarrollando otros antagonistas no competitivos del receptor AMPA, como los del tipo 2,3-benzodiazepinas. Inicialmente parecían de menor eficacia in vitro, pero mostraron una mejor biodisponibilidad y eficacia in vivo. Se estudió en fase clínica uno de estos compuestos para el ictus isquémico agudo, pero mostró efectos adversos sedativos importantes. Otro compuesto, el talampanel,

llegó a estudios clínicos para epilepsia, tumores cerebrales y esclerosis lateral amiotrófica, pero aunque parecía eficaz para crisis epilépticas, el desarrollo se abandonó debido a su corta vida media (3 h), por lo que requería múltiples dosis diarias¹².

Entonces se buscó un nuevo antagonista del receptor AMPA mediante un test neuroprotector frente a la muerte celular por AMPA en neuronas corticales de ratas, y se identificó el 2,4-difenil-4H-[1,3,4]oxadiazin-5-uno, que luego se modificó para obtener una mayor estabilidad metabólica y mayor eficacia, una estrategia que finalmente resultó en el descubrimiento de perampanel¹³.

Estudios preclínicos de inhibidores del receptor AMPA

Los inhibidores del receptor AMPA, como el perampanel, se unen a una parte diferente del sitio de unión del glutamato; por lo tanto, se trata de antagonistas no competitivos. Su unión al receptor produce un bloqueo del cambio de conformación del receptor inducido por glutamato, por lo que no se abre el poro a través de la membrana y no entran iones en la célula postsináptica¹⁴.

Perampanel radioactivamente marcado no se dejó desplazar de la membrana de neuronas corticales de ratas añadiendo los antagonistas competitivos del receptor AMPA (glutamato, AMPA y NBQX), pero sí se redujo al añadir antagonistas no competitivos, lo que demostró su mecanismo de acción como antagonista no competitivo del receptor AMPA¹³.

Se mostró la eficacia de perampanel como inhibidor del incremento de calcio intracelular inducido por AMPA y NMDA en neuronas corticales de ratas y se observó una inhibición dependiente de la dosis. En cambio, perampanel no inhibió la transmisión sináptica a través de los receptores NMDA y de kainato en neuronas de hipocampo¹⁵, lo cual hizo asumir que perampanel no tendría los efectos secundarios cognitivos de los antagonistas del receptor NMDA¹⁶.

Estudios en modelos animales mostraron que el tratamiento con perampanel protegía a los ratones de tener/sufrir crisis generalizadas tónico-clónicas en el test de crisis inducidas por un estímulo eléctrico máximo o audiogénico. También fue un tratamiento protector en el modelo de ausencias o mioclonías inducidas por pentilinetetrazol, siendo las dosis necesarias más bajas en comparación con otros antiepilépticos como el valproato o la carbamazepina¹⁷.

Además, perampanel ha mostrado su utilidad en el test de crisis inducidas por estímulos eléctricos a 6 Hz y en ratas sometidas a *kindling* amigdalár, ya que disminuyen las crisis y la duración de las posdescargas. El único modelo en el cual perampanel no mostró eficacia fue el test en ratas de Estrasburgo con ausencias genéticas¹³.

Talampanel mostró eficacia en un ensayo clínico en 49 pacientes con epilepsia focal resistente a los fármacos, pero su corta vida media hizo concentrarse en perampanel, que había mostrado una vida media más larga en animales y una mayor resistencia a microsomas hepáticos humanos, lo cual hizo pensar que iba a mostrar una vida media aún más larga en humanos que en animales¹³.

Los antagonistas AMPA parecen bloquear sobre todo la propagación de las crisis, ya que en algunos experimentos

en animales se ha visto que persisten las posdescargas en la transmisión sináptica aumentada; sin embargo, desaparecen las crisis epilépticas clínicas en estos modelos¹⁶.

Tomando en cuenta todos los estudios preclínicos, perampanel parece presentar un amplio espectro de acción, tanto en crisis focales como en crisis generalizadas, con una buena eficacia.

Conflicto de intereses

La autora declara haber recibido retribuciones por ponencias científicas por parte de Eisai y Bial.

Bibliografía

1. Traynelis SF, Wollmuth LP, McBain CJ, Menniti FS, Vance KM, Ogden KK, et al. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. *Pharmacol Rev*. 2010;62:405-96.
2. Mayer ML, Armstrong N. Structure and function of glutamate receptor ion channels. *Annu Rev Physiol*. 2004;66:161-81.
3. Lilliu V, Pernas-Alonso R, Trelles RD, Di Porzio U, Zuddas A, Perrone-Capano C. Ontogeny of AMPA receptor gene expression in the developing rat midbrain and striatum. *Brain Res Mol Brain Res*. 2001;96:133-41.
4. Hsu C-I, Wang T-C, Hou S-YT, Chin T-Y, Chang Y-C. Quantitative study of the developmental changes in calcium-permeable AMPA receptor-expressing neurons in the rat somatosensory cortex. *J Comp Neurol*. 2010;518:75-91.
5. Collingridge GL, Isaac JTR, Wang YT. Receptor trafficking and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci*. 2004;5:952-62.
6. Meldrum BS, Meldrum BS, Rogawski MA, Rogawski MA. Molecular targets for antiepileptic drug development. *Neurotherapeutics*. 2007;4:18-61.
7. Kessels HW, Malinow R. Synaptic AMPA receptor plasticity and behavior. *Neuron*. 2009;61:340-50.
8. Moshé SL, Albala BJ, Ackermann RF, Engel J. Increased seizure susceptibility of the immature brain. *Brain Res*. 1983;283:81-5.
9. Szczurowska E, Mareš P. NMDA and AMPA receptors: development and status epilepticus. *Physiol Res*. 2013;62 Suppl 1:S21-38.
10. Scharfman HE. The neurobiology of epilepsy. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2007;7:348-54.
11. Rogawski MA. AMPA receptors as a molecular target in epilepsy therapy. *Acta Neurol Scand, Suppl*. 2013;(197):9-18.
12. Howes JF, Bell C. Talampanel. *Neurotherapeutics*. 2007;4:126-9.
13. Hanada T. The discovery and development of perampanel for the treatment of epilepsy. *Expert Opin Drug Discov*. 2014;9:449-58.
14. Balannik V, Menniti FS, Paternain AV, Lerma J, Stern-Bach Y. Molecular mechanism of AMPA receptor noncompetitive antagonism. *Neuron*. 2005;48:279-88.
15. Ceolin L, Bortolotto ZA, Bannister N, Collingridge GL, Lodge D, Volianskis A. A novel anti-epileptic agent, perampanel, selectively inhibits AMPA receptor-mediated synaptic transmission in the hippocampus. *Neurochem Int*. 2012;61:517-22.
16. Hanada T, Hanada T, Hashizume Y, et al. Perampanel: a novel, orally active, noncompetitive AMPA-receptor antagonist that reduces seizure activity in rodent models of epilepsy. *Epilepsia*. 2011;52:1331-40.
17. Rogawski MA, Hanada T. Preclinical pharmacology of perampanel, a selective non-competitive AMPA receptor antagonist. *Acta Neurol Scand Suppl*. 2013;(197):19-24.