



---

## ESTUDIO PRELIMINAR DE LOS POLIMORFISMOS DEL GEN GRIN-1 DEL RECEPTOR NMDA EN UNA POBLACIÓN SANA COLOMBIANA

V. Villegas<sup>1</sup>, I. Zarante<sup>2</sup>, L. Lareo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias, Departamento de Nutrición y Bioquímica

<sup>2</sup> Facultad de Medicina, Instituto de Genética Humana

Pontificia Universidad Javeriana, Cra. 7 No. 40-62, Bogotá, Colombia

llareo@javeriana.edu.co

### RESUMEN

Se ha encontrado que el gen GRIN-1 juega un papel fundamental en muchas funciones cerebrales y se le ha asociado con numerosas enfermedades razón por la cual ha despertado un gran interés científico el conocimiento del polimorfismo de este gen entre la población normal y enferma. Hasta el momento no han sido identificados polimorfismos que lleven a un cambio de aminoácido en la proteína y los estudios poblacionales hechos hasta la fecha sólo incluyen caucásicos, africanos americanos y asiáticos. En este trabajo se estudiaron los polimorfismos genéticos del gen GRIN-1 ubicados en la región 5'-UTR y en los exones 3, 6 y 16. Se encontró que la población estudiada se diferencia significativamente de caucásicos y no difiere significativamente de otros grupos étnicos.

**Palabras clave:** NMDA, polimorfismos, receptores, variabilidad genética

### ABSTRACT

It is well known that the gene GRIN-1 plays a fundamental role in many cerebral functions and it has been associated with numerous diseases. For this reason it has awakened a great scientific interest in understanding how the polymorphisms of this gene are distributed among normal and diseased populations. Up to now the polymorphisms that lead to an amino acid change in the protein have not been identified, and the population studies done so far only include Caucasians, African Americans and Asians. In this project the genetic polymorphisms located in gene GRIN-1's 5'-UTR region and in exons 3, 6 and 16 were studied. It was found that the population studied differs significantly from the Caucasians and but doesn't differ significantly from the other ethnic groups.

**Key words:** genetic variability, NMDA, polymorphism, receptors.

---

### INTRODUCCIÓN

El receptor ionotrópico de glutamato activado por N-Metil-D-Aspartato (iGluR-NMDA) se ha identificado, en las últimas dos décadas, en la molécula central de todos los procesos que ocurren en células

excitables y aún en otro tipo de células como osteoblastos. El hecho se debe a que los receptores de glutamato cumplen un rol importante en la neurotransmisión mediada por el glutamato y además de ser un receptor constituye un canal de calcio, el cual es un mineral fundamental en todos los pro-

cesos de señalización. El iGluR-NMDA es un complejo constituido por tres tipos de subunidades denominadas NR1, codificada por un solo gen que presenta por "splicing" alternativo, ocho isoformas (Gorter *et al.*, 1997), en rata, de las cuales tres han sido identificadas en el humano. El tipo NR2 que tiene cuatro formas, de la A a la D, codificados por cuatro diferentes genes (Conti *et al.*, 1999) y el tipo NR3 con dos formas la A y la B (Andersson *et al.*, 2001).

Funcionalmente este complejo es de esencial importancia en todos los procesos fisiológicos como memoria y aprendizaje (Bear, 1996), patológicos como dolor crónico (Parson, 2001), epilepsia (Clark *et al.*, 1994), depresión (Murphy *et al.*, 2000), enfermedad de Alzheimer (Sze *et al.*, 2001), enfermedad de Huntington (Davis y Ramsden, 2001), enfermedad de Parkinson (Meldrum y Chapman, 1994), síndrome de Rett (Genic *et al.*, 1993), esclerosis lateral amiotrófica (Andreassen *et al.*, 2001), entre otros. Participa también en procesos farmacológicos como dependencia del alcohol (Costa *et al.*, 2000), drogas alucinógenas (Hyytia *et al.*, 1999), interacción con toxinas de diversos orígenes (Parks *et al.*, 1991) y otros procesos como el de desarrollo o migración neuronal del sistema nervioso central en los organismos superiores (Garthwaite, 1994).

Además de ser uno de los más receptores más abundantes del glutamato, el más abundante neurotransmisor. En su forma activada es un canal (Farrant *et al.*, 1994) por el que difunden el calcio, el sodio y el potasio lo cual lo hace esencial para sistemas de señalización diferencial (Vianna *et al.*, 2000) integrados que, dependiendo de su actividad llevan a la memoria y el aprendizaje, por procesos denominados de potenciación a largo plazo (Sakimura *et al.*, 1995) o a la muerte celular por procesos de excitotoxicidad (Lynch, 2002).

Con la expectativa del aumento de la esperanza de vida en el mundo, a corto y mediano plazo, la incidencia de las enfermedades neurodegenerativas será cada vez más significativa y esto ha despertado en el mundo la apertura de un nuevo campo de investigación en estos aspectos desde muchos puntos de partida. Uno de los más significativos ha sido la identificación del papel fundamental del iGluR-NMDA en patologías como enfermedad de Alzheimer, Parkinson, Huntington (Sze *et al.*, 2001; Dunah *et al.*, 2000; McMurray, 2001) síndrome de Retts (Wenk y Hauss-Wegrzyniak, 1999), entre las más notables enfermedades neurodegenerativas.

De otro lado las disfunciones asociadas al glutamato son una de las más conocidas hipótesis para explicar la patología de la esquizofrenia. Las observaciones originales provienen de la década de los sesenta cuando se observó que la intoxicación con fenciclidina (PCP) producía síntomas y signos muy similares a la esquizofrenia (Luby *et al.*, 1959). Posteriormente se identificó que dicha droga interactúa específicamente con el iGluR-NMDA como un antagonista no competitivo (Javitt y Zukin, 1991). La ketamina y el MK-801, otros dos antagonistas no competitivos del iGluR-NMDA producen, también, síntomas de la esquizofrenia y exacerban los síntomas en los pacientes que tienen la enfermedad (Abi-Saab *et al.*, 1998).

Sin embargo, hasta el momento existen pocos estudios extensos y sistemáticos para conocer la variación o polimorfismos existentes en los genes que codifican para las proteínas que constituyen, el receptor en una población sana. Este se torna entonces en el punto central para avanzar en el entendimiento y planteamiento de posibles terapias centradas en esta molécula. No existe ningún estudio reportado en poblaciones latinoamericanas y menos colombianas.

Este trabajo que se enmarcó dentro del “Proyecto Ubaté-Carupa: estudio de cohortes para evaluar los determinantes de morbi-mortalidad en dos poblaciones colombianas”, establecido en estas poblaciones por el Instituto de Genética de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana. Se estudió una población de recién nacidos sanos, durante el período marzo-abril de 2003, para identificar los polimorfismos de las zonas 5'-UTR, exón 3, exón 6, exón 16 y los intrones 7, 10 y 12 del gen GRIN1 que codifica para la subunidad NR1 del receptor.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Población de estudio

Fueron 91 recién nacidos en el Hospital de Ubaté con consentimiento informado de sus madres. Los niños seleccionados para el estudio nacieron de un embarazo normal, controlado periódicamente en el Hospital de Ubaté, sin antecedentes de patologías congénitas. Al momento del nacimiento no presentaron ninguna evidencia de anomalías heredadas.

### Nomenclatura utilizada

Para la numeración e identificación correspondiente de los nucleótidos que forman

parte del gen como su estructura, se trabajó con las secuencias contenidas en el GenBank, la accesión identificada como Z32772 incluye la región 5' UTR, los exones 1 y 2, el intrón 1 y la porción 5' del intrón 2. La accesión Z32773 incluye la porción 3' del intrón 2, los exones 3, 4 y 5, y la porción 5' del intrón 5. Finalmente la accesión Z32774 incluye la porción 3' del intrón 5, los exones 6 al 22 y la porción 3' UTR (figura 1).

### Extracción y cuantificación de DNA

Se utilizó sangre de cordón umbilical con recuperación de glóbulos blancos y posterior extracción con el “kit” comercial DNA 2000 de Corpogen, luego se observó su calidad en geles de agarosa al 1% en buffer TBE 1X.

### Amplificación de los segmentos seleccionados

Con base en la literatura se seleccionaron los segmentos con potencialidad de presentar polimorfismos (Tani *et al.*, 2002, Rice *et al.*, 2001, Hung, 2001) y la posibilidad de ser identificados a partir de una digestión con enzimas de restricción comerciales. Los segmentos seleccionados fueron: un segmento de la región 5'-UTR, los exones 3, 6, y 16.

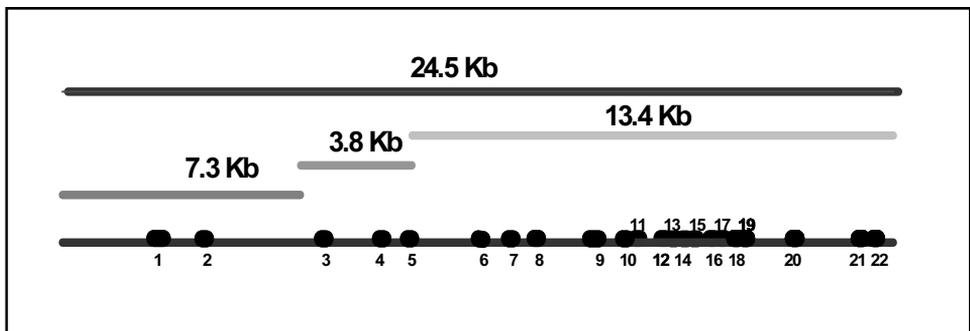


Figura 1. Estructura del gen GRIN-1. Dibujo a escala a partir de los datos obtenidos en el GenBank para las tres accesiones que comprenden el gen

**Tabla 1**  
**“Primers” para amplificar el segmento correspondiente a la región 5'-UTR y al exón 6 según Matucci *et al.*, 2003**

Nombre del primer	Secuencia 5' ⇌ 3'	Temperatura de Alineamiento
5'-UTR-F	GATTCCTGGTGTCCGACCT	61.5 °C
5'-UTR-R	GTCACCCACAGTCAGCGATA	
Exón 6F	GGACGATGCTGCCACTGTAT	60 °C
Exón 6R	CGGTGATGTTCTCCTTCTCG	

Amplificación de la región 5'UTR que contiene el polimorfismo G1001C y del segmento correspondiente al exón 6 con el polimorfismo A1970G

Para la amplificación de estos segmentos se utilizaron los oligonucleótidos descritos por Matucci *et al.*, 2003, (tabla 1), y los generados con los programas web primer (REF) y Primer 3 (REF)(tabla 2), en una mezcla que incluyeron 100ng de DNA, 2%

de BSA, 50 pmol de “primers”, 0.4 mM de dNTP's, una unidad de Taq polimerasa y agua para llevar a un volumen de 25 µl. El programa de PCR consistió en una denaturación inicial a 95°C seguida por 35 ciclos a 95°C por 30 segundos, 61.5 (5'UTR) y 60°C (Exón 6) por 20 segundos y 72°C por 30 segundos y una extensión final a 72°C por cinco minutos, esto en un termociclador Touchene.

**Tabla 2**  
**“Primers” diseñados para la amplificación de los exones 3 y 16**

Nombre del primer	Secuencia 5' - 3'	Temperatura de Alineamiento
Exón 3A	CAGAGCATCCACCTGAGCTT	58°C
Exón 3B	TCACCTTGGACTCACGCTCCT	
Exón 16A	GAACCCCTCGGACAAGTTTA	62°C
Exón 16B	GCGCCTCACTTGTCTCTCAC	

### Corte con enzimas de restricción

Los productos de PCR obtenidos fueron digeridos con las enzimas de restricción escogidas para cada fragmento, esto se hizo tomando 15  $\mu$ l del producto amplificado adicionando de 5 a 10 unidades de la endonucleasa de restricción y se dejó a 37°C durante toda la noche. Posteriormente los productos se visualizaron en geles de poliacrilamida al 12% y de agarosa al 3% dependiendo del tamaño del fragmento.

### Análisis estadístico

Se hizo una prueba de chi cuadrado ( $\chi^2$ ) para la región 5' UTR y para el exón 6 que fueron los únicos que mostraron polimorfismos con el fin de establecer si se encontraban en equilibrio Hardy-Weinberg y el programa STATISTIX 7 para medir la significancia de los resultados obtenidos en comparación con otras poblaciones.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Polimorfismo G1001C correspondiente a la región 5'-UTR

La región promotora del gen GRIN1 aún no ha sido definida, ni se conoce muy bien su estructura pese al número de hipótesis que asocian la disfunción del receptor de glutamato con numerosas patologías. Esta región parece tener características en común con otros receptores de glutamato como por ejemplo GluR1, GluR2, NR2B, NR2C incluyendo la falta de cajas TATA y CAAT, de ahí surge el interés de analizar los polimorfismos existentes alrededor de la región 5'-UTR y su posible asociación con factores de transcripción que puedan explicar las alteraciones en la funcionalidad del gen.

Análisis hechos con software específicos muestran que la transversión G - C altera el primer nucleótido de la secuencia consenso GGGG para la subunidad p50 del factor de transcripción NF-6 (Begni *et al.*, 2003; Tani *et al.*, 2001; Quandt *et al.*, 1995).

En la figura 2, se muestra el dibujo, a escala, del gen y resaltado el segmento identificado en el GenBank con el número de accesión Z32772 que cubre la región 5'-

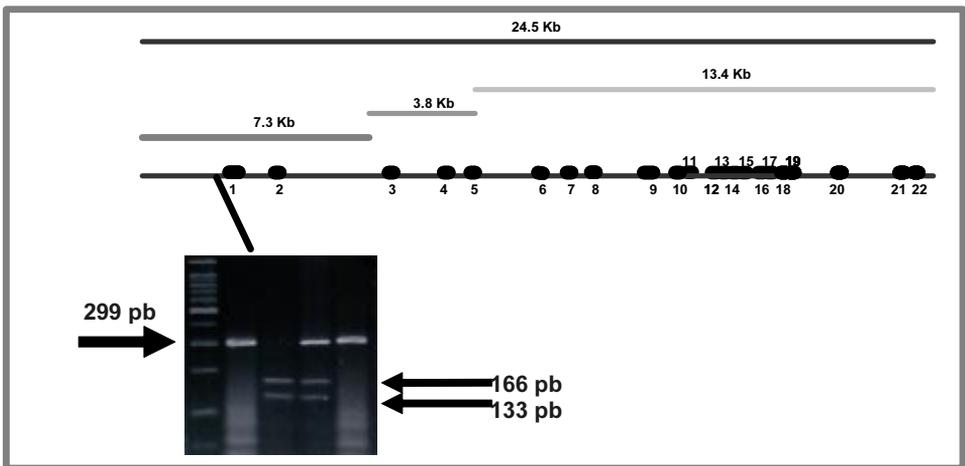


Figura 2. Amplificación y corte del segmento correspondiente al polimorfismo G1001C (región 5'-UTR).

UTR hasta la porción 5' del intrón 2. En el primer carril del gel de agarosa al 3% se observa el marcador de peso molecular 50 pb, en el segundo el segmento amplificado con un tamaño de 299 pb, y en los carriles tres, cuatro y cinco los diferentes genotipos (GG-GC y CC) obtenidos por el corte con la enzima Bse RI, que reconoce la secuencia normal. De ahí que el genotipo GG se identifica por generar dos bandas una de 166 pb y la otra de 133 pb. El homocigoto para el alelo menor no genera corte y el heterocigoto presenta las tres bandas.

La frecuencia de los alelos G y C y la distribución genotípica se muestran en la tabla 3, para la población de Ubaté (89 individuos ya que no se pudieron evaluar dos).

Para valorar en que medida se ajustan los datos observados en una situación de equilibrio Hardy- Weinberg se utilizó el estadístico chi cuadrado ( $\chi^2$ ) y se observó que la distribución genotípica para la población de Ubaté no se desviaba de este equilibrio. El valor de  $\chi^2$  calculado para la población de Ubaté fue de 0,0096.

Este polimorfismo se ha encontrado en todos los grupos étnicos donde ha sido estudiado incluyendo el objeto de este trabajo y fue la frecuencia comparada con los datos obtenidos por Rice *et al.*, 2001 (tabla 4). Se encontró que difiere significativamente de los caucásicos, aunque es necesario considerar el tamaño de la muestra de los otros grupos étnicos que fue muy baja.

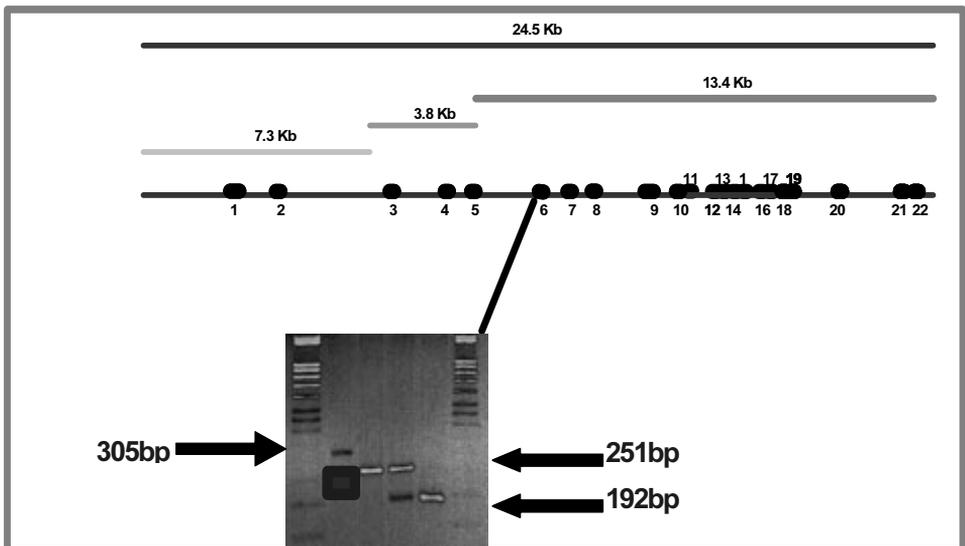
**Tabla 3**  
**Frecuencias genotípicas y alélicas encontradas la región 5'-UTR para la población de Ubaté**

		Genotipos Ubaté			
		GG	GC	CC	
<b>No de Individuos</b>		<b>56</b>	<b>29</b>	<b>4</b>	<b>89</b>
<b>Frecuencias Genotípicas</b>		<b>0.6292</b>	<b>0.3258</b>	<b>0.0449</b>	<b>1</b>
<b>Alelo</b>	<b>Frecuencia</b>				
<b>G</b>	<b>0.7921</b>				
<b>C</b>	<b>0.2079</b>				

**Tabla 4**  
**Frecuencia del alelo menor para el polimorfismo G1001C en diferentes grupos étnicos y su significancia al ser comparada con la población de Ubaté**

Población o grupos étnicos	Número de Individuos	Alelo menor C	Alelo mayor G	p
Ubaté	89	0,2079	0,7921	
Caucásicos	86	0,122	0,878	0.0440 S
Afro-Americanos	16	0,063	0,937	0.0891 NS
Asiáticos	5	0,2	0,8	0.7331 NS
Nativos Americanos	7	0,143	0,857	P= 0.8125 NS

**Figura 3.**  
**Amplificación y corte del segmento correspondiente al polimorfismo A1970G ubicado en el exón 6.**



Este cSNP al igual que el de los exones 3 y 16 presenta una alteración en la tercera base del codón que resulta en un cambio sinónimo (Martucci *et al.*, 2003; Rice *et al.*, 2001). El segmento amplificado presenta un tamaño de 305 pb cuya secuencia normal genera dos fragmentos uno de 251 y otro de 54pb. La secuencia que contiene el cSNP genera tres fragmentos, 192, 59 y 52 pb. Para identificación de los diferentes genotipos sólo bastan las bandas de 251 y 192pb que se visualizan en un gel de agarosa al 2,5% como se observa en la figura 3 (Carril uno, marcador de peso molecular 50 bp, carril dos, segmento amplificado correspondiente al exón 6, carril tres, genotipo AA, carril cuatro, heterocigoto AG, carril cinco genotipo AA). El segmento marcado corresponde a la accesión Z32774 del GenBank que incluye la porción 5' del intrón 5 y los exones 6 al 22.

La frecuencia de los alelos A y G y la distribución genotípica se muestran en la tabla 5.

El valor de  $\chi^2$  para la población de Ubaté fue de 0.731 lo que se ajusta a los valores esperados para una población en equilibrio Hardy-Weinberg.

Al igual que para el polimorfismo G1001C se encontró diferencias significativas con los caucásicos lo que ubica a la población de Ubaté con valores más cercanos a los presentados por otros grupos étnicos.

**Polimorfismo G443A correspondiente al exón 3 y cSNP T8070C ubicado en el exón 16**

Estos dos exones evaluados en la población de Ubaté sólo mostraron una forma alélica. El alelo G para el exón 3 y el alelo T para el exón 16. Posiblemente por el tamaño de la muestra o porque no es un polimorfismo para esta población. Dados los resultados con los restantes polimorfismos se podría asegurar que no es un polimorfismo para esta población.

**Tabla 5.**  
**Frecuencias genotípicas y alélicas del exón 6 encontradas para la población de Ubaté**

	Genotipos Ubaté			
	AA	AG	GG	
No de Individuos	63	24	4	91
Frecuencias Genotípicas	0.6923	0.2637	0.044	1
Alelo	Frecuencia			

**CONCLUSIONES**

La frecuencia alélica del polimorfismo G1001C ubicado en la región 5'-UTR, involucrado con un factor de transcripción difiere significativamente de los valores encontrados para caucásicos y no difiere significativamente de otros grupos étnicos.

La frecuencia alélica del polimorfismo A1970G reportado en el exón 6 al igual que el polimorfismo G1001C difiere significativamente de los valores encontrados para caucásicos y no se diferencia significativamente de otros grupos étnicos (tabla 6).

Para los exones 3 y 16 sólo se encontró en la población de Ubaté una forma alélica.

**LITERATURA CITADA**

- ABI-SAAB, W. M., D'SOUZA, D. C., MOGHADDAM, B. y KRYSAL, J. H. 1998. The NMDA antagonist model for schizophrenia: promise and pitfalls. *Pharmacopsychiatry* 31: 104-109.
- ANDERSSON, O.; STENQVIST, A.; ATTERSAND A. y VON EULER, G. 2001. Nucleotide sequence, genomic organization, and chromosomal localization of genes encoding the human NMDA receptor subunits NR3A and NR3B. *Genomics* 78: 178-184.
- ANDREASSEN O.A.; JENKINS, B.G.; DEDEOGLU, A.; FERRANTE, K.L.; BOGDANOV, M.B.; KADDURAH-DAOUK, R. y BEAL, M.F. 2001. Increases in cortical glutamate concen-

**Tabla 6**  
**Frecuencia del alelo menor para el exón 6 en diferentes grupos étnicos y su significancia al ser comparada con la población de Ubaté**

<b>Población o grupos étnicos</b>	<b>Número de Individuos</b>	<b>Alelo menor G</b>	<b>Alelo mayor A</b>	<b>P</b>
<b>Ubaté</b>	<b>91</b>	<b>0,1758</b>	<b>0,8242</b>	
<b>Caucásicos</b>	<b>110</b>	<b>0,286</b>	<b>0,714</b>	<b>0.0132 S</b>
<b>Afro-Americanos</b>	<b>17</b>	<b>0,059</b>	<b>0,941</b>	<b>0.1435 N.S</b>
<b>Asiáticos</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0.3093 N.S</b>
<b>Nativos Americanos</b>	<b>12</b>	<b>0,25</b>	<b>0,75</b>	<b>0.7951 N.S.</b>

(NS = No significativo S = Significativo)

- trations in transgenic amyotrophic lateral sclerosis mice are attenuated by creatine supplementation. *J Neurochem* 77: 383-390.
- BEAR, M.F. 1996. A synaptic basis for memory storage in the cerebral cortex. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 93: 13453-13459.
- BEGNI, S.; MORASCHI, S.; BIGNOTTI, S.; FUMAGALLI, F.; RILLOSI, L.; PÉREZ, J. y GENNARELLI M. 2003. Association between the G1001C polymorphism in the GRIN1 gene promoter region and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 53: 617-619.
- CLARK, S.; STASHEFF, S.; LEWIS, D.V.; MARTIN, D. y WILSON, W.A. 1994. The NMDA receptor in epilepsy. In: *The NMDA Receptor*, G.L. Collingridge y Watkins, J.C. (eds.) Oxford University Press, Oxford 395-427.
- CONTI, F.; BARBARESI, P.; MELONE, M. y DUCATI, A. 1999. Neuronal and glial localization of NR1 and NR2A/B subunits of the NMDA receptor in the human cerebral cortex. *Cerebral Cortex* 9: 110-120.
- COSTA, E.T.; OLIVERA, D.S.; MEYER, D.A.; FERREIRA, V.M.M.; SOTO, E.E.; FRAUSTO S.; SAVAGE, D.; BROWNING, M.D. y VALENZUELA, C.F. 2000. Fetal alcohol exposures alters neurosteroid modulation of hippocampal N-methyl-D-aspartate. *J Biol Chem* 275: 38268-38274.
- DAVIES, S. y RAMSDEN, D.B. 2001. Huntington's disease. *J Clin Pathol. Mol Pathol*, 54: 409-413.
- DUNAH, A.W., WANG, Y, YASUDA, R.P., KAMEYAMA, K., HUGANIR, R.L., WOLFE, B.B. y STANDAERT, D.G. 2000. Alterations in subunit expression, composition, and phosphorylation of striatal N-methyl-D-aspartate glutamate receptors in a rat 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Mol Pharmacol* 57: 342-352.
- ELLISON, G. 1995. The N-methyl-D-aspartate antagonists phencyclidine, ketamine and dizolcipine as both behavioral and anatomical models of the demetias. *Brain Res Brain Res Rev* 20: 250-267.
- FARRANT, M.; FELDMEYER, D.; TAKAHASHI, T y CULL-CANDY, S.G. 1994. NMDA-receptor channel diversity in the developing cerebellum. *Nature* 368: 335-339.
- GARTHWAITE, J. 1994. NMDA receptors, neural development, and neurodegeneration. In: *The NMDA Receptor*. Collingridge G.L. y Watkins, J.C. (eds.). Oxford University Press, Oxford, 428-456.
- GORTER, J.A.; ZHANG, L.; ZHENG, X.; PAUPARD, M.C.; ZUKIN, R.S. Y BENNETT M.V.L. 1997. The role of alternative splicing of the NMDAR1 receptor subunit in synaptic plasticity. In: Monaghan, D.T. y Wenthold, R. J. (eds.). *The ionotropic glutamate receptors*. Humana Press, Totowa, New Jersey 99-119.
- HONG, C.-J.; YU, W.Y.; Lin, C.H.; Cheng, C.Y. y TSAI, S.J. 2001. Association analysis for NMDA receptor subunit 2B (GRIN2B) genetic variants and psychopathology and clozapine response in schizophrenia. *Psychiatric Genetics* 11: 219-222.
- HUNG, C.C., CHEN, H.Y. y CHEN C.H. 2001. Systematic mutation analysis of the human glutamate receptor, ionotropic, N-methyl-D-aspartate 1 gene GRIN1 in schizophrenic patients. *Psychiatr Genet* 12: 225-30.
- HYTTIA, P.; BACKSTROM, P. y LILJEQUIST, S. 1999. Site-specific NMDA receptor antago-

- nist produce differential effects on cocaine self-administration in rats. *Eur Pharm J* 378: 9-16.
- JAVITT, D.C. y ZUKIN, S.R. 1991. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 148: 1301-1308.
- LUBY, E.D.; COHEN, B.D.; ROSENMAUN, F.; GOTTLIEB, J. y KELLEY, R. 1959. Study of new schizophrenomimetic drug, Sernyl. *Arch Neurol Psychiatry* 81: 363-369.
- LYNCH, D.R. y GUTTMANN, R.P. 2002. Excitotoxicity: Perspectives based on N-methyl-D-aspartate receptor subtypes. *Pharmacol J Exp Therap* 300: 717-723.
- MARTUCCI, L.; WONG, A.H.C.; TRAKALO, J.; CATE-CARTER, T.; MACCIARDI, F.M. y KENNEDY J.L. 2003. N-Methyl D-Aspartate Receptor NR1 Subunit Gene Grin1 in Schizophrenia: TDT and Case- Control Analyses. *Am J Med Genet* 119: 24-27.
- McMurray, C.T. 2001. Huntington's disease: new hope for therapeutics. *TINS* 24: S32-S38.
- MELDRUM, B.S. y CHAPMAN, A.G. 1994. Competitive NMDA antagonist as drugs. In: *The NMDA Receptor*. Collingridge, G.L. y Watkins, J.C. (eds.). Oxford University Press, Oxford 457-468.
- MORRIS, R.G.M. y DAVIES, M. 1994. The role of NMDA in learning and memory. In: *The NMDA Receptor*. G.L. Collingridge and J.C. Watkins (eds.) Oxford University Press, Oxford 340-375.
- Murphy, D.L.; MITCHELL, P.B. y POTTER, W.Z. 2000. Novel pharmacological approaches to the treatment of depression. In: *Psychopharmacology. The Fourth Generation of Progress*. On-Line Edition: The American College of Hutton.
- PARKS, T.N.; MUELLER, A.L.; ARTMAN, L.D.; ALBENCI, B.C.; NEMETH, E.F.; JACKSON, H., JASY, V.J., SACCOMANO, N.A. y VOLKMAN, R.A. 1991. Arylamine toxins from funnel-web spider (*Agelenopsis aperta*) venom antagonize N-methyl-D-aspartate receptor function in mammalian brain. *J Biol Chem* 266: 21523-21529.
- PARSONS, C.H. 2001. NMDA receptors as targets for drug action in neuropathic pain. *Eur J Pharm* 429: 71-78.
- QUANDT, K.; KARAS, F.K.; WINGENDER, E. y INSPECTOR, M. 1995. New fast and versatile tools for detection of consensus matches in nucleotide sequence data. *Nuc Acids Res* 23: 4878-4884.
- RICE, S.R.; NIU, N., BERMAN, D.B.; L. HESTON, L. y SOBELL, J.L. 2001. Identification of single nucleotide polymorphisms (SNPs) and other sequence changes and estimation of nucleotide diversity in coding and flanking regions of the NMDAR1 receptor gene in schizophrenic patients. *Mol Psychiatry* 6: 274-284.
- ROSENMUND, C., STERN-BACH, Y. y STEVENS, C.F. 1998. The tetrameric structure of a glutamate receptor channel. *Science* 280: 1596-1599.
- SAKIMURA, K.; KUTSUWADA, T.; ITO, I.; MANABE T.; TAKAYAMA, C.; KUSHIYA, E.; YAGI, T.; AIZAWA, S.; INOUE, Y.; SUGIYAMA, H. y MISHINA, M. 1995. Reduced hippocampal LTP and spatial learning in mice lacking NMDA receptor epsilon1 subunit. *Nature* 373: 151-155.
- SZE, C.I.; Bi, H.; KLEINSCHMIDT-DEMASTERS, B.K.; FILLEY, C.M. y MARTIN, L.J. 2001. N. methyl-D-aspartate receptor subunit proteins and their phosphorylation status are altered selectively in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 182: 151-159.

- TANI, A.; KIKUTA, R.; ITOH, K.; JOO, A.; SHIBATA H.; NINOMIYA, H.; TASHIRO, N. y FUKUMAKI, Y. 2002. Polymorphism analysis of the upstream region of the human NMDA receptor subunit NR1 gene GRIN1: Implications for schizophrenia. *Schizophrenia Res* 58: 83-86.
- VIANNA M., R.M.; IZQUIERDO, L.A.; BARROS, D.M.; WALTZ, R.; MEDINA, J.H. y IZQUIERDO, I. 2000. Short- and long-term memory: Differential involvement of neurotransmitter systems and signal transduction cascades. *Ann Acad Bras Ciencia* 72: 35 3-364.
- WENK, G.L.; O'LEARY, M.; NEMEROFF C.B.; BISSETTE, G.; MOSER H. y NAIDU, S. 1993. Neurochemical alterations in Rett syndrome. *Dev Brain Res* 74: 67-72.
- WENK, G.L. y HAUSS-WEGRZYNIAK, B. 1999. Altered Cholinergic Function in the basal forebrain of girls with Rett syndrome. *Neuropediatrics* 30: 125-129.

Recibido: 12.05.2005

Aceptado: 14.03.2006