

LA ONTOGENIA DEL SISTEMA NERVIOSO: ¿CLAVE DEL ENVEJECIMIENTO Y DE LA PLASTICIDAD SINÁPTICA?

"EXISTE UN PATRÓN: LA CLAVE ESTÁ EN ENTENDERLO"

Froylan Calderón de Anda*, Ana María López Colomé^{1,*}

SUMMARY

Up to now, the cellular and molecular bases of aging and neural plasticity remain unknown. This paper analyzes this problem from a developmental point of view, taking into consideration the coexistence of different cellular microenvironments coexisting in the nervous system (NS), predetermined by specific developmental pathways, which directly influence the nervous function in the organism.

The developmental changes in the subunit composition of the NMDA subtype of glutamate receptors is analyzed following this approach, and changes demonstrated in these structures are compared with those observed in receptors from differentiated nervous tissues as a consequence of plastic phenomena. Finally, based on the results of this analysis we postulate an hypothesis relating the developmental changes to the Alzheimer's disease.

Key words: NMDA receptors, synaptic plasticity, aging, Alzheimer disease, cell cycle.

RESUMEN

Las bases celulares y moleculares de los procesos de envejecimiento y de la plasticidad en el sistema nervioso (SN) no se han esclarecido totalmente. Este trabajo tiene como finalidad explorar el problema desde un punto de vista embriológico, partiendo de la idea de que en el SN hay diferentes microambientes, predeterminados por la ontogenia del organismo, que tienen repercusión directa sobre su funcionamiento.

En este contexto se analizan algunos de los cambios en la composición heteromérica de los receptores de glutamato tipo NMDA que tienen lugar durante el desarrollo embrionario, y sus consecuencias funcionales, comparándolos con los cambios equivalentes, identificados en el tejido nervioso diferenciado, como consecuencia de fenómenos plásticos. Finalmente, aplicando los resultados de este análisis se propondrá una hipótesis que relaciona los cambios mencionados con el proceso de envejecimiento y la enfermedad de Alzheimer.

Palabras clave: Receptor de NMDA, plasticidad sináptica, envejecimiento, enfermedad de Alzheimer, ciclo celular.

ONTOGENIA DEL SISTEMA NERVIOSO

Durante el desarrollo del SNC de los vertebrados, muchas de las propiedades de las neuronas parecen determinarse cuando completan su última división celular. Otras propiedades se regulan por las interacciones subsecuentes con el ambiente que las rodea. No se conocen con exactitud las señales químicas que controlan la diferenciación glial y neuronal que determinan, en gran medida, la regionalización del SN y, por ende, las manifestaciones de la plasticidad sináptica en las distintas regiones del sistema, ya sea como consecuencia de una lesión o por procesos como la potenciación a largo plazo (LTP), en los que intervienen cambios morfológicos de las sinapsis implicadas (28), y que se ha propuesto como el sustrato fisiológico del aprendizaje y la memoria espacial (51).

Se ha demostrado que los impulsos presinápticos desempeñan un papel crucial en la diferenciación de las neuronas postsinápticas (6). En los cultivos de células nerviosas, la estimulación presináptica puede reemplazarse por la despolarización de las células con alto K^+ , lo que induce la diferenciación de muchas clases de neuronas (3,13,21,22,32,36,52). En particular, se ha demostrado (3,4,5,13) que la despolarización crónica promueve la maduración de las células granulares del cerebelo en cultivo, acompañada del aumento de la actividad de la glutaminasa (enzima encargada de la síntesis del glutamato que funcionará como neurotransmisor) la cual depende de la edad y de la

¹ Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM.

* Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

Correspondencia: Ana María López Colomé, Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, UNAM, Apartado Postal 70-253, 04510, México, D.F. Teléfono: 56-22-56-17, fax: 56-22-56-07, \ e-mail: acolome@ifisiol.unam.mx

Recibido: 13 de diciembre de 2000. Aceptado: 9 de febrero de 2001.

concentración de K^+ (32). Este efecto parece estar mediado por la entrada de calcio a la célula debido a la activación de receptores glutamatérgicos de tipo NMDA (3,13,32,33).

Para establecer las conexiones sinápticas con su blanco, las neuronas extienden sus conos de crecimiento axonal, que exploran el ambiente para dirigirse al blanco. Se han identificado dos clases de moléculas que forman un sustrato para el movimiento del cono de crecimiento; las primeras son las moléculas de adhesión de la superfamilia de las inmunoglobulinas, como las moléculas de adhesión neural o N-CAM (10,12). El segundo grupo está constituido por las moléculas de adhesión de la matriz extracelular, como la fibronectina, la laminina y la tenascina (23,41). Es importante mencionar que una característica del desarrollo del SNC de los vertebrados es la sobreproducción inicial de neuronas, seguida por un período de muerte celular, que parece estar regulada por la competencia de las neuronas por sustancias tróficas liberadas por el tejido blanco (24). La sustancia trófica mejor caracterizada es el factor de crecimiento nervioso (NGF), que forma parte de la familia de las neurotrofinas. El efecto de las neurotrofinas, que consiste en propiciar el crecimiento y sobrevivencia de las células nerviosas, está mediado por receptores que tienen una región extracelular a la que se unen las neurotrofinas, una cadena corta transmembranal y una región intracelular con actividad de cinasa de tirosina.

Los estudios encaminados a entender cómo se forma la sinapsis (1,29) han demostrado, en la unión neuromuscular, que la primera especialización de la sinapsis cuando la terminal axónica ha alcanzado su blanco, es la acumulación de los receptores de acetilcolina (ACh) en la membrana postsináptica yuxtapuesta a la terminal presináptica; durante este proceso se presenta un cambio en las propiedades cinéticas de los receptores, que se traduce en un decremento del tiempo medio de apertura y un incremento de la conductancia del canal. Paralelamente, la acetilcolinesterasa (enzima encargada de degradar a la ACh) se acumula en el espacio sináptico, anclándose en la postsinapsis.

Es importante mencionar que en muchas especies de mamíferos, la subunidad γ de los receptores para ACh se reemplaza por la subunidad ϵ , convirtiéndose de la forma embrionaria del receptor, a la forma adulta. Asimismo, algunos resultados indican que los receptores glutamatérgicos de tipo NMDA también sufren cambios estructurales durante el desarrollo, que se reflejan en cambios en la afinidad por el neurotransmisor, así como en el efecto de moduladores como las poliaminas espermina y espermidina (47,48).

Utilizando ligandos específicos para los receptores glutamatérgicos ionotrópicos de AMPA/KA y de

NMDA, se demostró en la retina que la unión específica de dichos ligandos sufre cambios durante el desarrollo; en los primeros días del desarrollo embrionario se observa una mayor unión de los ligandos específicos de los receptores de tipo AMPA/KA, mientras que la unión de los ligandos de los receptores de NMDA se incrementa en los últimos días del desarrollo (47). Lo anterior sugiere que en la retina, la diferenciación neuronal requiere, primero, de receptores de respuesta rápida y, más adelante, de los de respuesta lenta. A este respecto se ha demostrado que durante el desarrollo del cerebro también se generan cambios en las propiedades de los receptores tipo NMDA, demostrados por los cambios en la unión del MK-801, que es un bloqueador de canal abierto del receptor (48). En estos estudios se demuestra un incremento en la unión de MK-801 durante las primeras semanas postnatales, lo que indica que, al igual que en la retina, se requiere de una mayor actividad de los receptores de tipo NMDA hacia el final del desarrollo, ya sea por aumentar su número, o bien por cambiar su afinidad con los antagonistas o los agonistas. Por el contrario, el efecto modulador de las poliaminas sobre estos receptores llega al máximo en los primeros días después del nacimiento (48). Con base en esto, podría pensarse que la modulación de estos receptores por las poliaminas posiblemente regula la expresión y el recambio de las subunidades de los mismos, lo que resulta en el cambio de sus propiedades farmacológicas y cinéticas.

La expresión y el mantenimiento de ciertas propiedades cinéticas de los receptores podrían estar relacionados con la concentración extracelular del neurotransmisor que los activa. Esto último está apoyado por experimentos que demuestran que las diferentes concentraciones despolarizantes de K^+ inducen la expresión diferencial de las subunidades que forman los receptores del tipo NMDA (subunidades NR1a-h y NR2A-D), particularmente de la familia NR2, en las células granulares del cerebelo (42). Es importante señalar que las subunidades de la familia NR1 le confieren al receptor sus propiedades básicas, como formar un canal permeable a cationes, mientras que las subunidades de la familia NR2 funcionan como entidades moduladoras de dicho canal (56). En este contexto se sabe que en el cerebro adulto la expresión de las variantes de la familia NR1 es relativamente homogénea, a diferencia de la expresión diferencial que se observa en las subunidades NR2 (30), lo que sugiere que las propiedades farmacológicas y cinéticas de los receptores de NMDA varían de acuerdo con el área del SNC en la que se expresan, posiblemente por la diferencia de los microambientes y las funciones que caracterizan a este tejido.

Otros experimentos que apoyan la idea de que las señales presinápticas modulan el recambio de subunidades son los que demuestran que cambia la expresión de las subunidades por el bloqueo de la exocitosis presináptica en cultivos de neuronas del hipocampo (19). Asimismo, este estudio demuestra la importancia y especificidad de las vías aferentes en el mantenimiento de ciertas subunidades de los cultivos de explantes del giro dentado y de la región CA como células aferentes. En ambos casos las vías son glutamatérgicas, pero en los cultivos de explantes de la región CA aparece un nuevo subtipo de receptor para NMDA (NR1/NR2A). La diferencia entre los explantes utilizados posiblemente radica en la cantidad liberada del neurotransmisor, lo que apoya la idea mencionada.

Es importante recordar que la estimulación presináptica provoca el incremento de la actividad de la glutaminasa (32) y contribuye a la diferenciación neuronal, por lo que podría relacionarse con el recambio de subunidades. Watanabe y cols. (55), apoyados posiblemente en esta idea, demostraron que en el desarrollo de la retina se presenta una expresión diferencial de las subunidades que conforman el receptor de tipo NMDA, como ya se ha mencionado en el caso de los receptores de ACh en el desarrollo de la unión neuromuscular.

LA PLASTICIDAD NERVIOSA, EL ENVEJECIMIENTO Y LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Otro aspecto que debe considerarse es si en el SN del organismo adulto se presenta un recambio de subunidades concomitante a un proceso de plasticidad nerviosa, como en el aprendizaje. La compartimentalización de las vías de comunicación intracelular, y por ende de la expresión genética, puede estar regulada en un primer nivel por el tipo de subunidades que caracteriza a los receptores de determinada región del SN, que lleva a la generación de distintos microambientes en este tejido, lo que origina respuestas variadas a los estímulos externos e internos del organismo. En este contexto sería interesante hacer experimentos de hibridación *in situ* o inmunohistoquímica contra las subunidades de los receptores glutamatérgicos, antes y después de la inducción de LTP, para investigar si hay recambio de subunidades, y de haberlo, establecer si se asemeja al que se presenta durante el desarrollo embrionario de las áreas tratadas. A este respecto, Quinlan y cols. (39) demostraron que al someter a las ratas adultas a una experiencia visual, hay un recambio de subunidades de los receptores de tipo NMDA en la corteza visual. Se produce un cambio en la compo-

sición de los receptores glutamatérgicos corticales, con el decremento de la expresión de la subunidad NR2A y el aumento de la expresión de la subunidad NR2B. Previamente, Monyer y cols. (31) y Sheng y cols. (45) demostraron que al nacer, los receptores de NMDA de las áreas corticales de la rata están conformados, principalmente, por subunidades NR1 y NR2B, mientras que durante el desarrollo postnatal se produce una progresiva inclusión de la subunidad NR2A. En el estado adulto, esta subunidad se cambia por la NR2B tras someter al animal a un proceso de aprendizaje visual (39). Estos hallazgos apoyan los resultados obtenidos recientemente por el grupo de Tang y cols. (50), que demuestran que la sobreexpresión de la subunidad NR2B en el cerebro anterior, aumenta la capacidad de aprendizaje y de memoria en los ratones transgénicos. La sobreexpresión de esta subunidad incrementa la activación de los receptores de tipo NMDA, facilitando la potenciación sináptica.

En contraste, los estudios encaminados a entender la participación de los receptores de tipo NMDA en el envejecimiento, han demostrado que hay un decremento de la respuesta mediada por estos receptores en la corteza, el hipocampo y el cuerpo estriado de las ratas viejas (18). A este respecto, Magnusson (25,26) encontró que en los ratones viejos disminuye la unión de los ligandos específicos de los receptores glutamatérgicos de tipo NMDA, lo que se correlaciona con la disminución de la expresión de las subunidades NR2B y NR1, pero no con la de la unidad NR2A. De igual forma, se observó la disminución de la expresión de la subunidad NR1 en los monos viejos (15). Es importante mencionar que en la enfermedad de Alzheimer también se ha observado un descenso en la expresión de las subunidades NR1, NR2B y NR2A (53,54).

Con base en los resultados expuestos se puede pensar que hay un patrón en la síntesis de subunidades de los receptores de glutamato del tipo NMDA, que implica que hay algunas fases en las que la célula nerviosa requiere de la presencia de una u otra subunidad particular. La pregunta obligada es: ¿qué es lo que regula este recambio de subunidades?

Los datos que tenemos hasta el momento permiten relacionar los eventos específicos de la célula con el proceso de recambio de las subunidades. Así, durante el envejecimiento se expresan las proteínas ciclinas (por lo menos en el hipocampo), indicando la entrada al ciclo celular (2,40,46). También se observa la expresión de proteínas relacionadas con el ciclo celular en pacientes con Alzheimer (2,40,46), como se mencionará más adelante. A este respecto, se ha observado que en las neuronas diferenciadas, en las que se activan mecanismos de reingreso al ciclo de división celular,

normalmente entran en operación procesos que impiden la progresión del ciclo celular. Dependiendo de la fase en la que se detenga el ciclo, ya sea en la G1 o en la G2, las neuronas podrán rediferenciarse (si el ciclo celular se detiene en la G1), desarrollar Alzheimer (si el ciclo celular se detiene en la G2), o morir por apoptosis (si el ciclo celular se detiene en la G1 y en la G2) (46). Los hallazgos que indican la presencia de ciclinas en los cerebros saludables de los viejos, podrían relacionarse en el hipocampo con la muerte debida a la edad (57). Lo anterior permite sugerir que si los mecanismos reguladores del ciclo celular no funcionan adecuadamente, se desarrolla la enfermedad de Alzheimer (46).

Al parecer, las neuronas sufren una regresión que implica, entre otras cosas, el recambio de subunidades de los receptores de NMDA; también se ha encontrado que aumenta la síntesis de neurotrofinas. En los cerebros humanos con Alzheimer se observó claramente un incremento del factor de crecimiento neural (NGF) (9), mientras que en los cerebros sanos de los ratones viejos, se encontró la tendencia a que aumentara el factor neurotrófico de las células gliales (GDNF) (8). Durante el desarrollo del sistema nervioso también aumenta la síntesis de neurotrofinas (NGF, BDNF, NT-3), la cual disminuye progresivamente hasta los bajos niveles propios del organismo adulto (11,20). Cuando se genera una lesión en los organismos adultos se incrementan los niveles de algunas neurotrofinas (BDNF, NGF), así como de sus receptores (14,34,43), mientras que los niveles de la neurotrofina-3 disminuyen (14,43). En este contexto sería interesante saber si cuando ocurre una lesión, hay un recambio de subunidades de los receptores de NMDA, y si este recambio se asemeja al que se presenta durante el desarrollo del área tratada; esto, por supuesto, si se considera la reparación de la lesión como un proceso de plasticidad sináptica.

De manera general, se puede decir que hay un patrón de recambio de subunidades de los receptores de NMDA, asociados con fenómenos tales como la plasticidad sináptica. Lo interesante es que, durante el envejecimiento, este patrón se repite como si la célula nerviosa se preparara para un nuevo fenómeno de plasticidad. A este respecto, cabe mencionar que en la enfermedad de Alzheimer se encontró hiperfosforilación en la Ser³⁹⁶ de la proteína Tau (7). Este estado de fosforilación se presenta en el estado fetal, y reduce la unión de la proteína Tau a los microtúbulos (7). Durante el desarrollo es probable que el estado de fosforilación de estas proteínas estructurales incremente la maleabilidad del citoesqueleto para permitir que ocurran cambios morfológicos que, en gran medida, son la base de la plasticidad sináptica. El decremento

de la fosforilación de Tau, subsecuente a la maduración neuronal, podría deberse a la regulación negativa de las cinasas o a la regulación positiva de las fosfatasas para generar estabilidad axonal (35); la hiperfosforilación observada en la enfermedad de Alzheimer podría ser resultado de la regulación negativa de las fosfatasas (17,27). Es probable que en la enfermedad de Alzheimer y en los cerebros sanos de los viejos, la fosforilación "anormal" de la proteína Tau genere las lesiones neurofibrilares, quizá debido a que el sistema haya alcanzado un estado de "rigidez" que le impide que ocurran cambios como los que se observan durante el desarrollo. Se requeriría estudiar estas proteínas de los cerebros de los organismos viejos para poder tener datos más exactos de estos procesos de la vejez, ya que, aunque el Alzheimer presenta coincidencias con el proceso de envejecimiento neuronal, no deja de ser un estado patológico. A este respecto, Schultz y cols. (44) identificaron inclusiones filamentosas que contienen proteína Tau fosforilada de manera anormal, en los primates viejos (*Papio hamadryas*). Asimismo, Gómez-Ramos y cols. (16) estudiaron la presencia y la evolución ultraestructural de las marañas neurofibrilares en los cerebros de los pacientes con Alzheimer y en los cerebros sanos de los viejos. Estos autores no encontraron ninguna diferencia entre la evolución y la presencia de estas marañas neurofibrilares en los cerebros sanos ni en los que tienen Alzheimer; sus resultados sugieren que la proteína Tau hiperfosforilada aparece primero como material granular, el cual se organiza en filamentos helicoidales pareados cortos, que posteriormente se elongan y generan madejas filamentosas. Además, Matsuo y cols. (27) emplearon anticuerpos específicos para los sitios de fosforilación en la proteína Tau, y encontraron que en los cerebros de los adultos sanos, la proteína Tau está fosforilada en muchos de los sitios, los cuales se cree que se fosforilan de manera "anormal" durante la enfermedad de Alzheimer. Lo anterior se contrapone con la idea que se tenía de la hiperfosforilación "anormal" de la proteína Tau durante la enfermedad de Alzheimer; además, este estudio demuestra que esos mismos sitios también están fosforilados en los cerebros de los fetos humanos. En este contexto, sería interesante ver cuál es el estado de fosforilación de estas proteínas en un proceso de plasticidad sináptica como la LTP.

El Alzheimer parece ser un estado "acelerado" del envejecimiento, aunque en esta enfermedad intervienen otros factores, como las mutaciones en el gen de la proteína amiloide precursora y en los genes homólogos para presenilina 1 y 2, que quizá aceleran y potencian el estado de vejez neuronal. No se conocen los mecanismos por los cuales participan estas mutacio-

nes en la etiopatogénesis del Alzheimer, pero hay una hipótesis que sugiere que las mutaciones en el gen de la proteína amiloide precursora, predisponen a las células a la apoptosis (40). Las expresiones "fosforilación y metabolismo de la proteína amiloide" se relacionan, a su vez, con el ciclo celular (37,49). Por lo tanto, cualquier perturbación en el ciclo celular, como la que parece ocurrir en la enfermedad de Alzheimer, podría desregular la expresión de los precursores de la proteína amiloide, incluyendo la generación de los productos proteolíticos subsecuentes (40). Raina y cols. (40) sugieren que en el Alzheimer, las neuronas intentan reingresar al ciclo celular, pero son bloqueadas en la fase G1/S por las mutaciones en las presenilinas y, posiblemente, también por la mutación en la proteína amiloide precursora. Este bloqueo en la fase G1 puede resultar en la acumulación de proteínas del ciclo celular, como se ha visto en la enfermedad de Alzheimer. También cabe la posibilidad de que las mutaciones en las presenilinas y la proteína amiloide precursora, induzcan cascadas pre-apoptóticas que resulten en la regulación positiva de las cinasas dependientes de ciclinas, que parecen tener un papel dual por controlar tanto la proliferación celular como las señales de muerte en la célula (38). Puede decirse, de manera general, que las neuronas mitóticas y las neuronas en la enfermedad de Alzheimer, efectivamente comparten un fenotipo en lo que se refiere al ciclo celular. Queda por determinar si el reingreso al ciclo celular refleja una vía patogénica primaria o es una respuesta protectora a un estímulo de muerte celular.

En suma, se puede proponer que hay patrones en los que intervienen los ciclos de plasticidad sináptica, que se evocan en la vejez, como si el organismo, en lugar de finalizar un ciclo, iniciara otro. Si se considera el fenómeno desde un punto de vista poblacional parecería que nunca terminará el ciclo, sino que continuará en la progenie. Los organismos viejos quizá no puedan responder a los cambios estructurales que demanda el "reloj celular", y transfieren dichas capacidades a un nuevo organismo. De esta manera se puede especular que a medida que aumente la vida media de los seres humanos, aumentarán también los riesgos de que se presenten problemas neurodegenerativos, porque cada vez es mayor la "rigidez" del sistema que evita los cambios morfológicos.

Todo lo anterior indica que la vejez no sobreviene únicamente a causa del "desgaste" neuronal, ya que los cambios observados en el patrón de expresión de proteínas específicas sugieren que se trata de un esquema más complicado. Al parecer, la vejez es un problema ocasionado por la evasión de las presiones de selección sobre los organismos. Difícilmente se enfrentará a la vejez un organismo que esté sujeto a una diná-

mica en la que su tarea fundamental sea la reproducción, y las presiones de selección sean tales que eviten que su vida se prolongue más allá de la etapa reproductiva.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se llevó a cabo con el apoyo parcial del donativo CONACyT 31812-N a AMLC.

REFERENCIAS

1. ANDERSON MJ, COHEN MW: Nerve-induced and spontaneous redistribution of acetylcholine receptors on cultured muscle cells. *J Physiol*, 268:757-773, 1997.
2. ARENDT T, HOLZER M, GÄRTNER U: Neuronal expression of cyclin dependent kinase inhibitors of the INK4 family in Alzheimer disease. *J Neural Transm*, 105:949-960, 1998.
3. BALAZS R, GALLO V, KINGSBURY A: Effect of depolarization on the maturation of cerebellar granule cells in culture. *Dev Brain Res*, 40:269-276, 1988.
4. BALAZS R: Metabolic imbalance and nerve cell damage in the brain. *Prog Brain Res*, 73:447-463, 1988.
5. BALAZS R, GALLO V, KINGSBURY A, THANGNIPON W, SMITH R, ATTERWILL C, WOODHAMS P: Factors affecting the survival and maturation of nerve cells in cultures. En: Althaus HH; Seifert W (eds.). *Glial-Neuronal Communication in Development and Regeneration*. Springer, 285-302, Berlín, 1987.
6. BLACK IB: Regulation of autonomic development. *Annu Rev Neurosci*, 1:182-214, 1978.
7. BRAMBLETT GT, GOEDERT M, JAKES R, MERRICK SE, TROJANOWSKI JQ, LEE VM-Y: Abnormal Tau phosphorylation at ser³⁹⁶ in Alzheimer's disease recapitulates development and contributes to reduced microtubule binding. *Neuron*, 10:1089-1099, 1993.
8. BLUM M, WEICKERT CS: GDNF mRNA expression in normal postnatal development, aging, and in weaver mutant mice. *Neurobiology Aging*, 16:925-929, 1995.
9. CRUTCHER KA, SCOTT SA, LIANG S, EVERSON WV, WEINGARTNER J: Detection of NGF-like activity in human brain tissue: increased levels in Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 13:2540-2550, 1993.
10. DODD J, JESSELL TM: Axon guidance and the patterning of neural projections in vertebrates. *Science*, 242:692-699, 1988.
11. ERNFORS P, PERSSON H: Developmentally regulated expression of HDNF/NT-3 mRNA in rat spinal cord motoneurons and expression of BDNF mRNA in embryonic dorsal root ganglion. *Eur J Neurosci*, 3:953-961, 1991.
12. FURLEY AJ, DOMINADOR BS, DOMA K, JANE D, THOMAS MJ: The axonal glycoprotein TAG-1 is an immunoglobulin super-family member with neurite outgrowth-promoting activity. *Cell*, 61:157-170, 1990.
13. GALLO V, KINGSBURY A, BALAZS R, JORGENSEN OS: The role of depolarization in the survival and differentiation of cerebellar granule cells in culture. *J Neurosci*, 7:2203-2213, 1987.
14. GARCIA LM, GARCIA VB, ISACKSON PJ, WINDEBANK AJ: Long-term alterations in growth factor mRNA expression following seizures. *NeuroReport*, 8:1445-1449, 1997.
15. GAZZALEY AH, SIEGEL SJ, KORDOWER JH, MUFSON EJ, MORRISON JH: Circuit-specific alterations

- of N-methyl-D-aspartate receptor subunit 1 in the dentate gyrus of aged monkeys. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:3121-3125, 1996.
16. GOMEZ-RAMOS P, MORAN MA: Ultrastructural aspects of neurofibrillary tangle formation in aging and Alzheimer's disease. *Microsc Res Tech*, 43:49-58, 1998.
 17. GONG CX, SINGH TJ, GRUNDKE-IQBAL I, IQBAL K: Phosphatase activity toward abnormally phosphorylated tau: decrease in Alzheimer disease brain. *J Neurochem*, 61:921-927, 1998.
 18. GONZALES RA, BROWN LA, JONES TW, TRENT RD, WESTBROOK SL, LESLIE SW: N-methyl-D-aspartate mediated responses decrease with age in fischer 344 rat brain. *Neurobiology Aging*, 12:219-225, 1991.
 19. GOTTMANNK, LINDLBAUER R, HATT H: Presynaptic control of subunit composition of synaptic NMDA receptors. *Soc Neurosci Abstr*, 23 N° de trabajo 26.16, 1997.
 20. HALLBÖÖK F, BÄCKSTRÖM A, KULLANDER K, EBENDAL T, CARRI NG: Expression of neurotrophins and Trk receptors in the avian retina. *J Comparative Neurology*, 364:664-676, 1996.
 21. HEFTI F, GNAHN H, SCHWAB ME, THOENEN H: Induction of tyrosine hydroxylase by nerve growth factor and by elevated K⁺ concentrations in cultures of dissociated sympathetic neurons. *J Neurosci*, 2:1554-1566, 1982.
 22. ISHIDA I, DEGUCHI T: Effect of depolarizing agents on choline acetyltransferase and acetylcholinesterase activities in primary cell cultures of spinal cord. *J Neurosci*, 9:1818-1823, 1983.
 23. LANDER AD: Understanding the molecules of neural cell contacts: emerging patterns of structure and function. *Trends Neurosci*, 12:189-195, 1989.
 24. LEVI-MONTALCINI R: Developmental neurobiology and the natural history of nerve growth factor. *Annu Rev Neurosci*, 5:341-362, 1982.
 25. MAGNUSSON KR: Differential effects of aging on binding sites of the activated NMDA receptor complex in mice. *Mech Ageing Dev*, 84:227-243, 1995.
 26. MAGNUSSON KR: Declines in mRNA expression of different subunits may account for differential effects of aging on agonist and antagonist binding to the NMDA receptor. *J Neurosci*, 20:1666-1674, 2000.
 27. MATSUO ES, SHIN RW, BILLINGSLEY ML, VAN DE VOURDE A, O'CONNOR M, TROJANOWSKI JQ, LEE V-MY: Bopsy derived adult human brain tau is phosphorylated at many of the same sites as Alzheimer's disease paired helical filament tau. *Neuron*, 13:989-1002, 1994.
 28. MATSUOKA M, KABA H, MORI Y, ICHIKAWA M: Synaptic plasticity in olfactory memory formation in female mice. *NeuroReport*, 8:2501-2504, 1997.
 29. MCMAHAN UJ, WALLACE BG: Molecules in basal lamina that direct the formation of synaptic specializations at neuromuscular junctions. *Dev Neurosci*, 11:227-247, 1989.
 30. MONYER H, SPRENGEL R, SCHOEPFER R, HERB A, HIGUCHI M, LOMELI H, BURNASHEV N, SAKMANN B, SEEBURG PH: Heteromeric NMDA receptors: molecular and functional distinction of subtypes. *Science*, 256:1217-1221, 1992.
 31. MONYER H, BURNASHEV N, LAURIE DJ, SAKMANN B, SEEBURG PH: Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptor. *Neuron*, 12:529-40, 1994.
 32. MORAN J, PATEL AJ: Effect of potassium depolarization on phosphate-activated glutaminase activity in primary cultures of cerebellar granule neurons and astroglial cells during development. *Dev Brain Res*, 46:97-105, 1989.
 33. MORAN J, PATEL A: Stimulation of the N-methyl-D-aspartate receptor promotes the biochemical differentiation of cerebellar granule neurons and not astrocytes. *Brain Res*, 486:15-25, 1989.
 34. MUDO G, SALIN T, CONDORELLI DF, JIANG XH, DELL'ALBANI P, TIMMUSK T, METSIS M, FUNAKOSHI H, BELLUARDO N: Seizure increase trkC mRNA expression in the dentate gyrus of rat hippocampus. *J Mol Neurosci*, 6:11-22, 1995.
 35. MUÑOZ-MONTAÑO JR, MORENO FJ, AVILA J, DIAZ-NIDO J: Lithium inhibits Alzheimer's disease-like tau protein phosphorylation in neurons. *FEBS Letters*, 411:183-188, 1997.
 36. NISHI R, BERG DK: Effects of high K⁺ concentrations on the growth and development of ciliary ganglion neurons in cell culture. *Dev Biol*, 87:301-307, 1981.
 37. OISHI M, NAIRN AC, CZERNIK AJ: The cytoplasmic domain of Alzheimer's amyloid precursor protein is phosphorylated at Thr654, Ser655, and Thr668 in adult rat brain and cultured cells. *Mol Med*, 3:111-123, 1997.
 38. PARK DS, MORRIS EJ, PADMANABHAN J, SHELAN-SKI ML, GELLER HM, GREENE LA: Cyclin-dependent kinases participate in death of neurons evoked by DNA-damaging agents. *J Cell Biol*, 143:457-467, 1998.
 39. QUINLAN EM, OLSTEIN DH, BEAR MF: Dark rearing decreases the expression of NR2A in rat visual cortex. *Soc Neurosci Abstr*, 24:419.8, 1998.
 40. RAINA AK, MONTEIRO MJ, MCSHEA A, SMITH MA: The role of cell cycle-mediated events in Alzheimer's disease. *Int J Exp Path*, 80:71-76, 1999.
 41. REICHARDT LF, TOMASELLI KJ: Extracellular matrix molecules and their receptors: functions in neural development. *Annu Rev Neurosci*, 14:531-570, 1991.
 42. RESINK A, VILLA M, BENKE D, MÖHLER H, BALAZS R: Regulation of the expression of NMDA receptor subunits in rat cerebellar granule cells: effect of chronic K⁺-induced depolarization and NMDA exposure. *J Neurochem*, 64:558-565, 1995.
 43. ROCAMORA N, MASSIEU L, BODDEKE HWGM, PALACIOS JM, MENGOD G: Differential regulation of the expression of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs in adult rat brain after intrahippocampal injection of quinolinic acid. *Mol Brain Res*, 26:89-98, 1994.
 44. SCHULTZ C, DELHGHANI F, HUBBARD GB, THAL DR, STRUCKHOFF G, BRAAK E, BRAAK H: Filamentous tau pathology in nerve cells, astrocytes, and oligodendrocytes of aged baboons. *J Neuropathol Exp Neurol*, 59:39-52, 2000.
 45. SHENG M, ROLDAN LA, JAN YN, JAN LY: Changing subunit composition of heteromeric NMDA receptors during development of rat cortex. *Nature*, 368:1447, 1994.
 46. SMITH MZ, NAGY ZS, ESIRI MM: Cell cycle-related protein expression in vascular dementia and Alzheimer's disease. *Neurosci Letters*, 271:45-48, 1999.
 47. SOMOHANO F, ROBERTS PT, LOPEZ-COLOME AM: Maturation changes in retinal excitatory amino acid receptors. *Dev Brain Res*, 42:59-67, 1988.
 48. SUBRAMANIAM S, MCGONIGLE P: Regional profile of developmental changes in the sensitivity of N-methyl-D-aspartate receptor to polyamines. *J Neurochem*, 62:1408-1415, 1994.
 49. SUZUKI T, OISHI M, MARSHAK DR, CZERNIK AJ, NAIRN AC, GREENGARD P: Cell cycle-dependent regulation of the phosphorylation and metabolism of the Alzheimer amyloid precursor protein. *EMBO J*, 13:1114-1122, 1994.
 50. TANG Y-P, SHIMIZU E, DUBE GR, RAMPON C, KERCHNER GA, ZHUO M, LIU G, TSIEH JZ: Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature*, 401: 63-68, 1999.

51. TSJEN JZ, HUERTA PT, TONEGAWA S: The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell*, 87:1327-1338, 1996.
52. WALICKE PA, CAMPENOT RB, PATTERSON PH: Determination of transmitter function by neuronal activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 74:5767-5771, 1977.
53. WANG Y-H, YASUDA RP, MASH DC, WOLF BB: Both NMDA and AMPA receptors subunits are altered in Alzheimer's disease. *Soc Neurosci Abstr*, 23:1895, 1997.
54. WANG Y-H, LUO JH, YASUDA RP, GALLAGHER M, KELLAR KJ, WOLF BB: Age-related changes in NMDA receptor subunits, NR1, NR2A, and NR2B in rat striatum and hippocampus. *Soc Neurosci Abstr*, 22:1892, 1996.
55. WATANABE M, MASAYOSHI M, INOUE Y: Differential distributions of the NMDA receptor channel subunit mRNAs in the mouse retina. *Brain Res*, 634:328-332, 1994.
56. WILLIAMS K, ZAPPIA AM, PRITCHETT DB, SHEN YM, MOLINOFF PB: Sensitivity of the N-methyl-D-aspartate receptor to polyamines is controlled by NR2 subunits. *Mol Pharmacol*, 45:803-809, 1994.
57. WEST MJ: Regionally specific loss of neurones in the aging human hippocampus. *Neurobiol Aging*, 14:287-293, 1993.

