

MECANISMO DE AÇÃO DO GLUTAMATO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL E A RELAÇÃO COM DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

Laura Gomes Valli Graduanda, acadêmica do curso de Medicina da Faculdade de Medicina de Jundiaí.

Jony de Andrade Sobrinho Neurologista, professor assistente do departamento de Neurologia da Faculdade de Medicina de Jundiaí (FMJ).

Endereço para correspondência: lgvalli@hotmail.com

RESUMO

O glutamato é o aminoácido mais abundante no sistema nervoso central (SNC) agindo como neurotransmissor excitatório. Além disso, atua no desenvolvimento neural, na plasticidade sináptica, no aprendizado, na memória e possui papel fundamental no mecanismo de algumas doenças neurodegenerativas. Seu metabolismo cerebral é controlado por meio de receptores presentes nos neurônios pré e pós-sinápticos e em células da glia, principalmente. Tais receptores possuem a função de controlar o tempo que este aminoácido permanece na fenda sináptica. Falhas nesse mecanismo levam ao fenômeno chamado de excitotoxicidade com consequente neurodegeneração de neurônios específicos, culminando em doenças como Alzheimer, Esclerose Lateral Amiotrófica, Parkinson, e Doença de Huntington.

Palavras-chave: Receptores Metabotrópico de Glutamato; Receptores Ionotrópicos de Glutamato; Doenças neurodegenerativas.

THE MECHANISM OF ACTION OF GLUTAMATE IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM AND ITS RELATION WITH NEURODEGENERATIVE DISEASES

ABSTRACT

Glutamate is the most abundant amino acid in the CNS acting as excitatory neurotransmitter. In addition, it operates in neural development, synaptic plasticity, learning, memory, and has a fundamental role in the mechanism of some neurodegenerative diseases. Cerebral metabolism is controlled through receptors present in pre and postsynaptic neurons and glial cells, primarily. These receptors have the function of controlling how long the amino acid remains in the synaptic cleft. Failures in this mechanism lead to a phenomenon called excitotoxicity and consequent neurodegeneration of specific neurons, resulting in diseases such as Alzheimer's, ALS, Parkinson's, and Huntington's disease.

Keywords: Metabotropic Glutamate Receptors; Ionotropic Glutamate; Neurodegenerative disease.

1 INTRODUÇÃO

O glutamato é o aminoácido livre mais abundante do sistema nervoso central (SNC), em sua maioria apresentando funções metabólicas idênticas às exercidas em outros tecidos, preponderantemente biossíntese de proteínas.⁽¹⁾ Além disso, atua como principal neurotransmissor excitatório.⁽¹⁻⁴⁾ Considera-se também sua participação no desenvolvimento neural, na plasticidade sináptica, no aprendizado, na memória, na epilepsia, na isquemia neural, na tolerância e na dependência a drogas, na dor neuropática, na ansiedade e na depressão.^(2,4,5)

Este aminoácido não atravessa a barreira hematoencefálica, por isso deve ser sintetizado no tecido nervoso a partir de glicose e outros precursores. As enzimas de seu metabolismo estão localizadas nos neurônios e nas células da glia.⁽⁶⁾

Há pouca ou nenhuma conversão bioquímica de glutamato no espaço extracelular, pois não há uma enzima que o degrade, como ocorre para muitos neurotransmissores.⁽⁴⁾ Desse modo é capaz de interagir com receptores até que se difunda, ou seja removido do líquido extracelular por transportadores de aminoácidos excitatórios (EAATs).⁽²⁾ A função dos transportadores de glutamato é regular o tempo de concentração desse substrato na fenda sináptica.⁽³⁾ Existem cinco tipos de EAATs, que diferem ligeiramente de acordo com a função e localização: transportador de aspartato-glutamato (GLAST/EAAT1), transportador de glutamato (GLT/EAAT2), transportador de aminoácido excitatório (EAAC/EAAT3), mais amplamente distribuído no cérebro e é encontrado em regiões não sinápticas, e os transportadores de aminoácidos excitatórios 4, nas células de Purkinje, e 5 encontrado em neurônios retinianos (EAAT 4, e EAAT5). EAATs são importantes para a homeostase do glutamato extracelular, pois quando são farmacologicamente inibidos, seus níveis basais aumentam significativamente.^(2,4)

Na membrana pós-sináptica o glutamato promove suas ações através de interações com os receptores específicos classificados como metabotrópicos (mGluRs) ou ionotrópicos (iGluRs). Evidências indicam que existem oito receptores metabotrópicos de glutamato.⁽⁴⁾ Quando o glutamato se liga aos domínios extracelulares de subunidades iGluR, toda a proteína sofre alterações de conformação para permitir o fluxo de cátions através da membrana plasmática o que geralmente leva a despolarização da célula pós-sináptica.⁽²⁾ Fisiologicamente, os receptores AMPA e AK estão relacionados à transmissão sináptica rápida no SNC e são caracterizados pelas rápidas cinéticas de ativação e desativação.⁽⁴⁾

Canais ligados a receptores NMDA tendem a permanecer abertos por mais tempo do que canais de receptores AMPA ou do tipo cainato e permitem um fluxo significativo de cálcio. Assim, a ativação do receptor NMDA pode iniciar cascatas de sinalização intracelular dependente de cálcio que leva a alteração na expressão gênica e na força sináptica manifestando se, por exemplo, na aprendizagem e formação da memória.⁽²⁾

A rápida retirada de glutamato da sinapse por seus transportadores é necessária para a neurotransmissão excitatória normal e prevenção contra toxicidade glutamato induzida.⁽⁵⁾ O mecanismo da chamada excitotoxicidade está relacionado com doenças isquêmicas, doenças neurodegenerativas agudas como epilepsia, hipóxia, anóxia, e traumatismo craniano, e

doenças neurodegenerativas crônicas como Alzheimer, Síndrome de Huntington, processos neurológicos relacionados com infecção pelo vírus HIV, encefalopatia hepática, além de doenças genéticas como homocistinúria, hiperprolinemia e hiperamoniemia.⁽¹⁾

O neurotransmissor excitatório pode funcionar como toxina poderosa capaz de produzir doenças neurodegenerativas quando em elevadas concentrações (esclerose lateral amiotrófica, Doença de Huntington, entre outras) e quando em baixas concentrações pode levar a esquizofrenia. Por isso é importante saber os mecanismos de receptação do glutamato por neurônios e células gliais, determinando o tempo que o neurotransmissor estará disponível na sinapse.⁽³⁾

2 MECANISMO DE AÇÃO DOS RECEPTORES DE GLUTAMATO NO SNC

A função dos transportadores de glutamato é regular o tempo de sua concentração na fenda sináptica, muitos deles sendo ativados por uma concentração baixa desse aminoácido ou sendo levados à morte pelas altas concentrações do mesmo (10-100 μ M).⁽⁷⁾ No entanto seus papéis fisiológicos ainda são alvos de pesquisa. Até então não se sabe por que um organismo precisa de tantas formas de transporte para somente um substrato.⁽³⁾

A receptação do glutamato para vesículas sinápticas é dependente de um gradiente transmembrana eletroquímico composto por dois componentes: gradiente de prótons e elétrico, sendo o potencial elétrico mais importante na captação do aminoácido. A presença de íons cloreto interfere nesse processo, ativando o transporte quando em baixas concentrações (2-8mM) e inibindo-o quando em altas concentrações (> 20mM). O funcionamento harmônico dos mecanismos descritos é fundamental para que o neurotransmissor seja recaptado do meio extracelular e armazenado corretamente, estando disponível para uma nova liberação na fenda sináptica.⁽¹⁾

Dos transportadores podemos citar dois tipos quanto ao seu mecanismo de ação, ambos se utilizam na energia estocada no potencial transmembrana e na diferença de concentração de Na⁺/K⁺ para acumular o substrato dentro da célula,⁽³⁾ um Na⁺ dependente e um co-transportador de cistina-glutamato.⁽⁷⁾ Outro tipo de transporte, com baixa afinidade, também foi descrito como sistema Na⁺ independente.⁽⁷⁾

No sistema de transporte sódio dependente há o movimento de uma molécula de glutamato, três moléculas de Na⁺ e uma molécula de H⁺ para a célula, enquanto um íon K⁺ vai para fora da célula. Ou seja, o transporte eletrogênico de glutamato ocorre completamente quando duas cargas positivas são movidas para dentro da célula.^(3,5,7) O íon potássio, que é

contra-transportado, causa uma reorientação da proteína transportadora de forma que o sítio de ligação do glutamato fica novamente acessível ao neurotransmissor extracelular.⁽⁷⁾

Há ainda o sistema de transporte, que realiza a troca de glutamato por cisteína, processo que sob condições fisiológicas providencia uma fonte de cisteína para a produção de glutathione, antioxidante endógeno. O sistema parece ter relativamente de baixa capacidade, mas a inibição desse transporte leva a uma queda significativa dos níveis de glutamato extracelular, levando a acreditar que é controlador da concentração de glutamato extra-sináptico.⁽⁷⁾

3 AÇÃO DE ANTAGONISTAS E AGONISTAS DE RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS

3.1 Guanina e derivados

Os derivados de guanina, nucleotídeos e nucleosídeo, são purinas que exercem inúmeras funções, dentre elas: fonte de energia para síntese proteica nos ribossomos, controle do movimento vesicular nas células e ainda são responsáveis pelo ciclo ativação/inativação das proteínas G.⁽¹⁾

O exato mecanismo desta modulação ainda não é perfeitamente elucidado. A demonstração de que os nucleotídeos da guanina agem como antagonistas glutamatérgicos, através da inibição de eventos fisiológicos estimulados por glutamato, pode levar a hipótese de que eles sejam neuroprotetores endógenos, devido à inibição de eventos neurotóxicos induzidos por glutamato, ou neuromoduladores, por influenciarem nas respostas de neurotransmissores.⁽¹⁾

3.2. Ácido Quinolínico

O ácido quinolínico (AQ) é metabólito endógeno do triptofano conhecido como ácido 2,3-dicarboxílico. A rota das quirlunéninas é a principal via de metabolismo do triptofano, e ocorre no fígado como principal função a biossíntese de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD). Sabe-se ainda que exista uma rota extra-hepática, não muito conhecida quanto a sua função até o momento.⁽¹⁾

O metabólito é muito utilizado como estratégia farmacológica para induzir convulsões através da sua ação sobre os receptores NMDA, e assim poder estudar maneiras de evitá-las. A toxicidade por AQ está relacionada a diversas patologias, incluindo a epilepsia.^(1,4)

Níveis aumentados de AQ foram encontrados no líquido de pacientes com traumas cranioencefálicos, doença inflamatória, e pacientes aids com infecções oportunistas. É observado também um aumento em estados infecciosos bacterianos e virais, concluindo que se micro-organismos são capazes de estimular a síntese de AQ por ativação de citosinas, doenças autoimunes, como esclerose múltipla, também podem estar associadas com níveis aumentados dessa neurotoxina. Outro achado importante é que AQ induz ao aumento da peroxidação lipídica, contribuindo com a desmielinização observada na esclerose múltipla, neuropatia mielo-óptica subaguda e mielopatia associada ao HTLV.⁽¹⁾

4 EXCITOTOCICIDADE E DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

Considerando a maciça presença de glutamato no SNC, não é surpreendente que problemas na transmissão glutamatérgica se relacionem com numerosas doenças neurológicas e transtornos psiquiátricos. Em elevadas concentrações extracelulares, o glutamato atua como uma neurotoxina potente capaz de induzir dano excitotóxico grave em neurônios alvo, um mecanismo possivelmente implicado em várias doenças neurodegenerativas. Por outro lado, baixas concentrações estão presentes na esquizofrenia.⁽³⁾

As doenças neurodegenerativas agudas e crônicas possuem a característica comum de perda de neurônios por mecanismos originados pela sobreativação dos receptores de glutamato, o qual ocorre por uma excessiva excitação sináptica mediada por este aminoácido, ao que chamamos excitotoxicidade.⁽⁶⁾ Por esse motivo, é importante sabermos os mecanismos de receptação do glutamato por neurônios ou células gliais, determinando o tempo que o neurotransmissor estará disponível na sinapse.⁽³⁾

Devido à importância da excitotoxicidade glutamatérgica como fator comum a muitas doenças neurodegenerativas e à inexistência de fármacos eficientes para o tratamento, considera-se fundamental o estudo de drogas que possam reverter esta toxicidade, através da modulação da transmissão de glutamato. Além disso, lesão causada por estresse oxidativo parece ser fator patogênico comum nas diversas doenças neurológicas. A exposição ao peróxido de hidrogênio pode ser utilizada como modelo de processos que resultam em danos oxidativos no SNC.⁽⁴⁾

4.1. Esclerose lateral amiotrófica (ELA)

A expressão alterada dos transportadores de glutamato na ELA é talvez um dos melhores exemplos estudados ligando neuropatologia à disfunção do transportador glutamatérgico. Em uma série de estudos descobriu-se um aumento nos níveis de glutamato no líquido cefalorraquidiano, uma diminuição na atividade de transporte, e níveis diminuídos de GLT-1/EAAT2 em pacientes com ELA, em comparação com um controle ou população de referência com indivíduos que morreram de doenças não neurológicas.⁽⁷⁾

Várias hipóteses foram cogitadas sobre a geração possível desta doença as mais citadas são: excitotoxicidade mediada por receptores AMPA, e toxicidade causada por ganho de função de SOD1 mutado, o que eleva a geração de espécies reativas de oxigênio.⁽⁶⁾

Há indícios que a ELA esporádica, seja causada pelo aumento da neurotransmissão glutamatérgica na medula espinal, causando excitotoxicidade. Tal hipótese baseia-se nos níveis glutamato extracelular no plasma e no líquido cefalorraquidiano aumentados em doentes com a doença, assim como a descoberta de que a atividade de transportador de glutamato glial (EAAT2 ou GLT-1 assim chamado) tem uma menor atividade na medula espinal e córtex motor de pacientes com ELA esporádica. Esta deficiência leva a uma diminuição na recaptação de glutamato a partir da fenda sináptica, o que geraria excitotoxicidade. Em apoio a esta hipótese, outros estudos mostraram que a inibição farmacológica do transporte de glutamato em culturas da medula espinhal e com o bloqueio da expressão do transportador GLT-1, causou a morte seletiva dos neurônios motores. Além disso, há evidência crescente que os receptores AMPA podem participar da morte de neurônios motores em ELA esporádica por serem mais vulneráveis aos agonistas de receptores de AMPA do que outros neurônios espinhais, por mecanismos pouco esclarecidos.⁽⁶⁾

Para muitas doenças do sistema nervoso associadas com expressão alterada do transportador de glutamato, a atividade (e em alguns casos os níveis de proteína) foi medida em tecidos periféricos, evidenciando que muitos destes transportadores Na^+ dependente não são exclusivos do sistema nervoso. Na verdade, a atividade do transporte Na^+ dependente é mais baixa em plaquetas de pacientes com ELA e os níveis de glutamato no plasma são mais elevados. No entanto, um relatório recente sugere que os níveis de EAAT-2 são normais em plaquetas a partir de pacientes com a doença, enquanto que a expressão da glutamina sintetase é aumentada. Portanto, glutamina sintetase pode representar um marcador periférico da doença.⁽⁷⁾

4.2. Doença de Alzheimer

Assim como a esclerose lateral amiotrófica, há expressão reduzida do transportador de glutamato assim como captação deficitária do aminoácido associados à doença de Alzheimer. Ao medir a captação de glutamato em plaquetas dos pacientes pode-se inferir a captação do mesmo no cérebro, já que as plaquetas exibem maior absorção de glutamato com cinética semelhante à observada em sinapses, e expressam os mesmos transportadores. Dessa forma, a captação de glutamato é diminuída em cérebros e plaquetas colhidas a partir de pacientes com a enfermidade. Além disso, a expressão do transportador de glutamato parece diminuir com a idade e diminuir ainda mais rapidamente na doença de Alzheimer.⁽⁷⁾

Observa-se a diminuição da expressão de transportadores de glutamato gliais na oxidação presente na DA, principalmente de GLT-1, e tem sido implicado como um mecanismo potencial de inativação desse receptor com consequente disfunção glial. O GLT-1 pode ser covalentemente modificado por um produto da peroxidação lipídica, o 4-hidroxinonenal (HNE), encontrado em níveis mais elevados no cérebro de pacientes com DA em comparação com controles pareados por idade. Portanto, a inativação de GLT-1 por modificação HNE pode ser um mecanismo através do qual a depuração de glutamato é inibida, resultando em excitotoxicidade.⁽⁷⁾

Outro fenômeno associado com a doença é a expressão aberrante de transportadores de glutamato gliais em neurônios, o que não acontece em pacientes saudáveis. EAAT1 e EAAT2 foram encontrados em neurônios piramidais corticais e em diferentes tipos de neurônios, respectivamente, em tecidos *post-mortem*.⁽⁷⁾

Embora os tratamentos para DA projetados para atingir transportadores de glutamato não estejam atualmente em uso, uma opção de tratamento atua para diminuir a ativação glutamatérgica de receptores NMDA. A memantina é um antagonista do receptor de NMDA parcial que protege contra neurotoxicidade sem impedir a ativação fisiológica dos receptores de NMDA, e tem sido mostrado para reduzir significativamente o declínio funcional e cognitivo em pacientes com DA.⁽⁸⁾

4.3. Doença de Huntington

Trata-se de uma doença genética causada por expansão do códon CAG (citosina-adenina-guanina) para glutamina, resultando em um poliglutaminas (poliQ). Juntamente com o corpo estriado, os neurônios de projeção da parte mediana da medula espinhal são mais

sensíveis à neurodegeneração.⁽⁷⁾ A proteína mutante também é responsável por afetar o sistema glutamatérgico, de forma a estabilizar e aumentar a ativação os receptores NMDA na superfície celular. Em culturas de estriado, que são extremamente sensíveis à toxicidade do glutamato, são expressos níveis comparativamente baixos de GLT-1 e GLAST, juntamente com os baixos níveis de EAAC1. Portanto, os neurônios do terço médio da coluna espinal podem ser especialmente susceptíveis ao glutamato aumentado devido a uma combinação de receptores NMDA abundante, baixos níveis de expressão EAAC1, e os baixos níveis de transportadores de glutamato na superfície celular da glia.⁽⁷⁾

O estriado recebe uma carga excitatória glutamatérgica de todo o córtex cerebral, juntamente com uma expressão elevada do receptor do glutamato NMDA, e do receptor metabotrópico do glutamato mGluR5, o qual potencializa as respostas dos receptores NMDA, contribuindo para o processo excitotóxico.

Após a ativação crônica dos receptores NMDA, a concentração intracelular de Ca^{2+} aumenta, podendo conduzir à disfunção mitocondrial e à produção de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, à ativação de proteases dependentes de Ca^{2+} , chamadas calpaínas, e à indução do processo apoptótico. Estes eventos contribuem para a neurodegeneração progressiva observada no estriado dos doentes de Huntington.⁽⁹⁾

É possível que a combinação do aumento de estabilização do receptor de NMDA com a diminuição da captação de glutamato possa torná-los particularmente vulneráveis a morte celular excitotóxica.⁽⁷⁾

4.4. Doença de Parkinson

Os neurônios do corpo estriado recebem muitas aferências, predominando as glutamatérgicas das áreas corticais, límbicas e talâmicas e as aferências dopaminérgicas do mesencéfalo. Enquanto as sinapses que utilizam o glutamato como neurotransmissor servem para engatilhar os circuitos estriatais, as sinapses dopaminérgicas têm um papel modulatório crucial, regulando a neurotransmissão glutamatérgica. O glutamato participa das projeções motoras do córtex para os núcleos da base, medula espinal e tálamo e dos núcleos da base para o tálamo. Por isso o mau funcionamento desse sistema pode prejudicar a atividade dos núcleos da base.⁽¹⁰⁾ Sabe-se que existe alteração na distribuição e densidade de receptores glutamatérgicos em pacientes com DP e que as vias glutamatérgicas estão alteradas devido à depleção dos neurônios dopaminérgicos da via nigroestriatal, a atividade dos neurônios do

núcleo subtalâmico está aumentada enquanto a atividade dos neurônios talamocorticais está diminuída.⁽¹⁰⁾

A redução de impulsos nervosos de neurônios dopaminérgicos ao estriado resulta em uma superativação do núcleo subtalâmico causando aumento na liberação de glutamato na substância negra, a qual é rica em receptores AMPA e NMDA.⁽¹⁰⁾

A morte celular devido à excitotoxicidade é a mesma já descrita nas outras doenças, envolvendo mudanças na concentração intracelular de Ca^{2+} e ativação de mecanismos enzimáticos e apoptóticos. Foi descrito também um mecanismo que leva ao aumento dos níveis de sódio, juntamente com a entrada de cloro dentro da célula, culminando no acúmulo de água e consequente inchaço celular. Pode ocorrer a lise neuronal com liberação de glutamato e outros constituintes. Outra forma de toxicidade inclui a formação de espécies reativas de oxigênio que inibe a captação de cistina, importante para a síntese intracelular de glutatona.⁽¹⁰⁾

Quando a produção de ATP é afetada devido ao mau funcionamento da mitocôndria, a bomba de Na^+/K^+ ATPase, que mantém o potencial de membrana, irá diminuir a troca Na^+/K^+ , resultando em tendência a despolarização de membrana. Isso irá aumentar a probabilidade dos canais de sódio e cálcio dependentes de voltagem se abrirem e ocorrer o potencial de ação em resposta a um estímulo. Além disso, a depolarização da membrana irá permitir que os receptores NMDA sejam ativados por glutamato, iniciando uma cadeia excitotóxica.⁽¹⁰⁾

O envolvimento da toxicidade do glutamato na doença é destacado por relatórios observando que bloqueadores do receptor de glutamato ou drogas que aumentam a captação do aminoácido têm efeitos benéficos em modelos de DP.⁽⁷⁾

O tratamento mais utilizado para a DP é L-3, 4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA), para substituir a perda progressiva da dopamina, no entanto o tratamento crônico com L-DOPA pode conduzir à complicações motoras.⁽⁷⁾

REFERÊNCIAS

1. Tavares RG. Modulação do sistema glutamatérgico: estudo dos efeitos do ácido quinolínico e dos derivados de guanina (Tese). Porto Alegre: UFRGS, 2005. 103 p.
2. Featherstone DE. Intercellular Glutamate Signaling in the Nervous System and Beyond. ACS Chem Neurosci. 2010; 1: 4-12.

3. Grewer C, Rauen T. Electrogenic Glutamate Transporters in the CNS: Molecular Mechanism, Pre-steady-state Kinetics, and their Impact on Synaptic Signaling. *J Membr Biol.* 2005; 203(1):1-20.
4. Stroeh E. Estudo do inibidor da 3-Hidróxi 3-Metilglutaril-Coenzima A Redutase (Atorvastatina) na Transmissão e Toxicidade Glutamatérgica (monografia). Florianópolis: UFSC, 2008. 53 p.
5. Yernool D, Boudker O, Jin Y, Gouaux E. Structure of a glutamate transporter homologue from *Pyrococcus horikoshii*. *Nature.* 2004;481:811-18.
6. Corona JC, Tapia R. Mecanismos de Neurodegeneración. *Mensaje Bioquímico.* 2005; 29: 17-28.
7. Sheldon AL, Robinson MB. The Role of Glutamate Transporters in Neurodegenerative Diseases and Potential Opportunities for Intervention. *Neurochem Int.* 2007; 51: 333-5.
8. Rodrigues PG, Jacobus AP. Alzheimer: Tratamento e diagnóstico precoce. Porto Alegre: Centro Universitário Metodista, 2009. Disponível em: <http://www.webartigos.com/artigos/alzheimer-tratamento-e-diagnostico-precoce/23754/#ixzz23heThr5k>
9. Mohapel JMG, Rego AC. Doença de Huntington: Uma revisão dos aspectos fisiopatológicos. *Rev. Neurocienc.* 2011;19: 724-34.
10. Pimentel JH. Avaliação do potencial terapêutico da guanosina em modelo animal da doença de Parkinson induzido por 6-OHDA (monografia). Porto Alegre: UFRGS, 2009. 43 p.