

Glutamato: é ou não é?

Sérgio Henrique Ferreira *

Paulo Gustavo Barboni Dantas Nascimento **

O glutamato é geralmente considerado o principal neurotransmissor excitatório do cérebro dos mamíferos.

Até recentemente, a sinalização sináptica glutamatérgica foi geralmente aceita como quase a totalidade da sinalização intercelular do glutamato. No entanto, é importante lembrar que o glutamato (ácido glutâmico) foi apenas relutantemente aceito como um neurotransmissor, em parte devido à sua ubiquidade. Quando se consideram as diversas maneiras pelas quais o glutamato é capaz de realizar sinalização intercelular e a abundância do glutamato durante a sinalização em circunstâncias improváveis (alta concentração extracelular), a sinalização do glutamato na sinapse não parece ser tão especial.

O glutamato é um aminoácido não essencial para os humanos. No entanto, ele é importante também para o nosso metabolismo. É responsável por um dos sabores sentidos no paladar humano (umami), especialmente quando na forma de sal de sódio. O glutamato monossódico é, por esta razão, usado também como aditivo alimentar para realçar o sabor de alimentos.

O glutamato resulta da transaminação do α -cetoglutarato, participando então na produção de metabólitos como o piruvato ou o oxaloacetato, componentes de vias metabólicas como a gluconeogênese, a glicólise e o ciclo dos ácidos tricarboxílicos. O glutamato está presente em diversos alimentos.

Considera-se que o glutamato participa no desenvolvimento neural, na plasticidade sináptica, no aprendizado e na memória, na epilepsia, na isquemia neural, na tolerância e na dependência a drogas, na dor neuropática, na ansiedade e na depressão. Esse leque de possibilidades tem limitado o uso de compostos que agem nos receptores de glutamato, quando existe a necessidade de ações mais seletivas dessas drogas.

A concentração de glutamato no citoplasma de neurônios glutamatérgicos é de aproximadamente 5-10 mM. Esta concentração é muitas vezes maior do que qualquer outro aminoácido, e muito mais do que em outros tipos de tecidos. Concentrações de glutamato neuronal citoplasmática são mais elevadas nos terminais do axônio, chegando a ser duas a três vezes maior do que nos dendritos ou corpos celulares. Isto implica que os terminais axonais de alguma forma restringem a circulação de glutamato ou sintetizam e utilizam glutamato localmente (mais provável). A síntese local do glutamato nos terminais de axônios pode ser atribuída às glutaminases, que são as principais responsáveis pela síntese de glutamato. Ele é abundante em terminais de axônios porque, provavelmente, o glutamato é feito na mitocôndria e mitocôndrias são abundantes nos terminais do axônio. Assim, é possível que a regulação da localização mitocondrial ou atividade enzimática possa modular a transmissão sináptica, controlando a disponibilidade de glutamato.

A concentração de glutamato em vesículas sinápticas pode chegar a 100 mM ou mais. Vesículas sinápticas são pequenas organelas protéicas que se aglomeram perto de sinapses e se fundem com a membrana plasmática em resposta à alta concentração citosólica de íons cálcio, que normalmente é o resultado da ativação de canais de cálcio dependentes a mudanças de voltagem da membrana plasmática (ou seja, potenciais de ação). Quando se fundem com a membrana plasmática, as vesículas derramam glutamato na fenda sináptica. A fenda sináptica é o pequeno espaço (20 nm de largura) entre as duas células conectadas por uma sinapse. As sinapses são junções celulares assimétricas especializadas célula-célula onde ocorre a sinalização química rápida (há também "sinapses elétricas"). Elas são formadas a partir de uma célula pré-sináptica, que libera o sinal químico, e uma célula pós-sináptica, que recebe o sinal e o transduz em outros eventos

bioquímicos. Qualquer neurônio em particular pode, no entanto, formar sinapses com várias outras células (e a maioria o faz). Quando vesículas sinápticas se fundem com a membrana plasmática neuronal pré-sináptica, a concentração de glutamato na fenda sináptica atinge concentrações de vários mM, dependendo da forma da fenda sináptica e da atividade de transportadores de glutamato nas proximidades.

O glutamato liberado pela célula pré-sináptica pode, também, se ligar a receptores na membrana plasmática pré-sináptica (sinalização autócrina) ou em outras células vizinhas (sinalização parácrina).

Existem dois tipos de receptores de glutamato: receptores ionotrópicos (iGluRs) e receptores metabotrópicos (mGluRs). Receptores metabotrópicos de glutamato apresentam sete domínios transmembrana acoplados a proteínas heterotriméricas intracelulares acopladas a proteínas-G. A ligação do glutamato a mGluRs desencadeia a ativação de cascatas de sinalização intracelular dependentes de proteína G. Há três subtipos de mGluR em mamíferos, chamados de tipo I, tipo II e tipo III. Os mGluRs do tipo I tendem a ativar a fosfolipase C, enquanto mGluRs do tipo II e tipo III são geralmente acoplados a vias do cAMP. Receptores de glutamato ionotrópicos, em contraste, são canais multiméricos de íons. Quando o glutamato liga-se aos domínios extracelulares de subunidades iGluR, toda a proteína sofre alterações de conformação para permitir o fluxo de cátions através da membrana plasmática (que geralmente leva a despolarização da célula pós-sináptica). iGluRs de mamíferos também são subdivididos em três tipos: receptores do tipo AMPA (α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionato), de receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) receptores e receptores do tipo cainato. O fluxo de informações rápido no sistema nervoso ocorre principalmente através de receptores AMPA. Receptores do tipo cainato, embora encontrados em terminais de neurônios pós-sinápticos, são também presentes na membrana do terminal pré-sináptico (como os mGluRs), onde servem para auto-regulação de função e secreção das vesículas sinápticas de glutamato. Canais ligados a receptores NMDA tendem a permanecer abertos por mais tempo do que canais de receptores AMPA ou receptores 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 (que se manifesta como, por exemplo, na aprendizagem e formação da memória). Os aminoácidos glicina e serina atuam como cofatores na função de receptores NMDA. É possível que o aspartato também possa ser um ligante endógeno para os receptores de glutamato *in vivo*.

Há pouca ou nenhuma conversão bioquímica de glutamato no espaço extracelular, significando que o glutamato é capaz de interagir com receptores continuamente até que se difunda, ou seja, removido do líquido extracelular por transportadores de aminoácidos excitatórios (EAATs). Existem cinco tipos de EAATs, que diferem ligeiramente em função e localização: transportador de aspartato glutamato (GLAST/EAAT1), transportador de glutamato (GLT/EAAT2), transportador de aminoácido excitatório (EAAC/EAAT3), e os transportadores de aminoácidos excitatórios 4 e 5 (EAAT 4 e EAAT5). EAATs são importantes para a homeostase do glutamato extracelular, pois quando EAATs são farmacologicamente inibidos, os níveis basais de glutamato extracelular aumentam de micromols (0,5-5 μ M) a várias centenas de micromols.

O glutamato extracelular do sistema nervoso pode ser dividido em dois grupos espacialmente e funcionalmente distintos: (1) "glutamato sináptico", uma explosão transiente (milisegundos) (0,5-5 mM) que gera glutamato na fenda sináptica pela fusão de vesículas sinápticas em neurônios com a membrana pré-sináptica, e (2) "glutamato ambiente extracelular", uma concentração relativamente estável basal (mas ainda é pouco provável que seja dinâmica) de glutamato, principalmente da glia, que preenche a maior parte do espaço extracelular em menor concentração (1-5 μ M).

Alterações na concentração de glutamato extracelular não sináptico estão associadas com efeitos fisiológicos ou comportamentais durante o desenvolvimento, consistente com a idéia de que o glutamato extracelular ambiente, oriundo não de vesículas e modulado dinamicamente, tem importantes funções de sinalização parácrina. Em outras palavras, o glutamato extracelular ambiente provavelmente age como um modulador parácrino. Por exemplo, glutamato não vesicular parácrino, liberado por transportadores de cistina-glutamato tem sido associados ao comportamento de abstinência de drogas. O tratamento crônico com a cocaína reduz a expressão do transportador de cistina-glutamato no núcleo accumbens de ratos. Isto leva a uma diminuição do glutamato extracelular ambiente, medido por microdiálise e aumentou o comportamento de busca. Estas alterações comportamentais são mimetizadas por antagonistas de cistina-glutamato.

O glutamato extracelular ambiente pode também regular o funcionamento do cérebro, alterando o número de receptores de glutamato ionotrópicos funcionais na sinapse. Especificamente, foi proposto que o glutamato extracelular ambiente causa a dessensibilização constitutiva de receptores ionotrópicos do glutamato e a subsequente diminuição das proteínas dos receptores da sinapse. De certa forma, o glutamato no sistema nervoso pode ser pensado como o ruído em uma festa. O glutamato sináptico de sinalização pode ser comparado com conversas individuais entre as pessoas, isoladas espacialmente, rápido e repleto de informações. O glutamato extracelular ambiente, por outro lado, é como a música de fundo, que pode sufocar a conversa entre indivíduos (e, portanto, modular a eficácia), mas também define o humor. Como a música em uma festa, o glutamato extracelular ambiente varia espacial e temporalmente.

Apesar da evidência crescente de que o glutamato extracelular ambiente afeta profundamente a função cerebral, a idéia ainda é bastante controversa. Em parte, isso se deve a uma crença generalizada de que os níveis de glutamato extracelular ambiente não patológicos são extremamente baixos para terem qualquer efeito biológico significativo. Essa crença é baseada principalmente na idéia de que a especificidade do glutamato na sinalização sináptica exige níveis basais de glutamato praticamente inexistentes.

A especificidade da sinalização do glutamato não exige níveis de glutamato extracelulares extraordinariamente baixos. Na verdade, a idéia de que o glutamato ambiente extracelular secretado por transportadores de cistina-glutamato altera comportamento pela dessensibilização constitutiva de receptores de glutamato parte do pressuposto de que o glutamato extracelular ambiente de fato interfere com a transmissão sináptica. A situação não é diferente da encontrada em canais de íons dependentes de voltagem, que estão em grande parte inativados de maneira constitutiva no potencial de repouso da membrana. Há um interesse intenso na dependência da voltagem na inativação de canais iônicos justamente porque a inclinação das curvas de inativação significa que o número funcional de canais iônicos pode ser eficientemente modulado por pequenas mudanças no potencial de repouso da membrana ou na sensibilidade do canal à voltagem. Os mesmos princípios se aplicam aos receptores ativados por ligantes.

E sobre a sinalização do glutamato fora da sinapse? Astrócitos (subtipo glial mais abundante) liberam glutamato vesicular em resposta ao cálcio intracelular elevado, assim como os neurônios. Eles também contêm receptores de glutamato e participam da sinalização local do glutamato, como os neurônios. Por exemplo, a liberação de glutamato dos neurônios ativa os receptores NMDA nos astrócitos, provocando liberação de glutamato dependente de cálcio, que por sua vez, ativa os receptores NMDA neuronais e modula a transmissão sináptica. Esta sinalização entre neurônios e células gliais pode modular o comportamento induzido por drogas ou mesmo potencializar a transmissão gabaérgica entre interneurônios e células piramidais, presumivelmente para afetar a memória e a cognição.

Finalmente, e quanto à sinalização do glutamato fora do cérebro, onde os níveis de glutamato no plasma são 30-50 mM podendo variar muito, dependendo da dieta ou

metabolismo? Ossos, pele, pâncreas, coração, intestino, pulmão e fígado também contêm proteínas associadas com a sinalização interneural de glutamato, incluindo os transportadores vesiculares do glutamato, os receptores AMPA, receptores do tipo cainato, os receptores NMDA, e EAATs, desempenhando um papel ativo na sinalização intercelular.

Como vemos, ainda temos que aprender muito sobre a fisiologia do glutamato antes de atribuir a ele uma função biológica definitiva. Afinal, o glutamato é ou não é o transmissor sináptico do estímulo doloroso evocado no neurônio nociceptivo primário?

Trabalho original: *Intercellular Glutamate Signaling in the Nervous System and Beyond*. D. E. Featherstone. Department of Biological Sciences, University of Illinois at Chicago, Chicago, Illinois 60607. ACS Chemical Neuroscience Article ASAP.

* Médico, Professor Titular Aposentado do Departamento de Farmacologia da FMRP-USP

** Bacharel em Química com Atribuições Tecnológicas, Mestre e Doutor em Ciências, Pós-Doutorando do laboratório de Inflamação e Dor do Depto. de Farmacologia da FMRP-USP