

## GLUTAMATO ASPECTOS NEURONAIS

*Sonia Luz Albarracín C.  
Leonardo R. Lareo*

### 1. INTRODUÇÃO

Na natureza têm sido identificadas mais de 300 moléculas do tipo aminoácidos, nem todas elas codificadas geneticamente e, portanto, não associadas estruturalmente a proteínas. Ainda que na maioria dos organismos sejam reconhecidos 20 aminoácidos com codificação genética, em micro-organismos têm sido identificados até 22 aminoácidos geneticamente codificados. Assim, nas células eucarióticas têm sido isolados outros aminoácidos que são sintetizados a partir daqueles geneticamente codificados, podendo constituir parte de suas proteínas, enquanto que outros cumprem funções metabólicas específicas como precursores de moléculas nitrogenadas.

De todo esse conjunto molecular se destaca um aminoácido fundamental para os processos vitais que conhecemos. Ele tem um papel único na incorporação do nitrogênio nos esqueletos carbonados dos aminoácidos não essenciais e é fundamental nos processos de desaminação e de detoxificação por remoção dos íons amônio ( $\text{NH}_4^+$ ). Esse aminoácido particular é o ácido glutâmico (Glu, E), o qual é uma das mais abundantes moléculas da natureza e, junto com o ácido aspártico (Asp, D), são moléculas consideradas aminoácidos dicarboxílicos. Em

sua forma fisiológica, o ácido glutâmico se encontra como glutamato e, devido à presença de três grupos atômicos com possibilidade de adquirir carga, tem o mesmo número de formas químicas além da sua forma como zwitterion. Isso lhe confere propriedades de adaptabilidade estrutural que permitem explicar sua abundância na matéria viva, em especial para seu enantiômero L-Glu. Dentro da ampla gama de funções deste aminoácido “sobressalente”, está a de ser essencial para o funcionamento do sistema nervoso central, o qual constitui o tema principal deste capítulo.

Antes de entrar no tema central é necessário fazer menção de que, recentemente, foi apresentada a proposta de que o glutamato é uma das moléculas responsáveis pela evolução do cérebro, desde os primatas até a hominização por si mesma (Burki & Kaessmann, 2004). Os autores demonstram como a evolução do cérebro, desde prossímios e primatas até o cérebro hominídeo, ocorre paralelamente com a evolução adaptativa dos genes de algumas enzimas responsáveis pelo metabolismo do glutamato, principalmente a glutamato desidrogenase mitocondrial e citosólica. Assim, se faz pertinente uma revisão, neste capítulo, a respeito dos processos metabólicos e fisiológicos do glutamato no sistema nervoso central.

## 2. O CÉREBRO HUMANO

No sistema nervoso central (SNC) residem todas as funções superiores do ser humano, tanto as cognitivas como as emocionais. O SNC é formado pelo encéfalo (constituído pelo cérebro, cerebelo e tronco encefálico) e a medula espinhal com os nervos periféricos. Está protegido em sua parte superior pelo crânio e, na parte inferior, pela coluna vertebral. Nos seres humanos, o cérebro é o órgão que tem uma massa entre 1,3 e 1,4 kg na idade adulta e entre 350 a 400 g nos recém-nascidos. Este peso representa 2% de um adulto masculino com média de 70 kg. Com respeito ao volume possui uma média de 1.700 mL, dos quais 80% correspondem à massa encefálica, 10% ao sangue e os 10% restantes ao líquido cérebro-espinhal (Rengachary & Ellenbogen, 2005).

O cérebro, como órgão, é constituído por dois tipos de células: os neurônios e a glia. O número de neurônios que constitui um cérebro é um dado sempre aproximado devido à própria variabilidade biológica e aos métodos empregados para fazer a estimativa. Entretanto, tem sido calculado que, em média, tem entre 100 bilhões a um trilhão, ou seja, entre  $10^{11}$  e  $10^{12}$  neurônios. As células gliais no SNC dos vertebrados são classificadas em macroglia e microglia (Lent *et al.*, 2012) e seu número estimado está entre 10 a 50 vezes o número de neurônios, o

que significa dizer que o cérebro completo está constituído por, aproximadamente,  $1 \times 10^{12}$  e  $5 \times 10^{13}$  células.

Por outro lado, uma das características mais relevantes do cérebro, como órgão, e de suas células, é a capacidade de conectividade entre elas para formar circuitos, mediados por sinapses neuronais, em média  $10^{14}$  (Lent *et al.*, 2012). No entanto, nos últimos anos também tem sido descrito um nível de conectividade particular entre as células gliais, mediado pelo transporte iônico com funções regulatórias específicas.

### 3. A BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA

O cérebro está protegido da passagem de substâncias por uma estrutura dinâmica e complexa denominada barreira hematoencefálica (BBB nas siglas do nome em inglês, Brain Blood Barrier) (Abbott, 2013).

A barreira hematoencefálica limita o cérebro do influxo de substâncias químicas da corrente sanguínea e é um conjunto complexo de membranas intrinsecamente ligadas entre si. Estas incluem células endoteliais do sistema sanguíneo cerebral, células epiteliais do plexo coroide, membranas aracnoides e astrócitos. Todas essas estruturas formam uma camada conectada por junções estreitas. Essa barreira é praticamente impermeável, já que a maioria das substâncias tem uma difusão muito limitada. No entanto, a BBB conta com diversos mecanismos especializados de transporte que facilitam o influxo e o efluxo de algumas moléculas (Abbott, 2013). Por exemplo, no caso do glutamato, a BBB é praticamente impermeável a esse aminoácido, pois entra no cérebro por difusão simples em menos de 1% da concentração plasmática. Portanto, esse processo de difusão restrita é, aparentemente, independente de sua concentração plasmática (Price *et al.*, 1984).

Os sistemas de transporte para aminoácidos existentes na BBB foram agrupados em um sistema L1 que transporta aminoácidos neutros, um sistema Y<sup>+</sup> que transporta os aminoácidos básicos, um sistema X<sup>-</sup> que transporta os aminoácidos dicarboxílicos e um sistema T que transporta hormônios da tireoide (Sharif *et al.*, 2018).

O sistema X<sup>-</sup> de alta afinidade, que transporta o glutamato do plasma para o cérebro, tem duas formas: uma dependente e outra independente de sódio, ambas de baixa capacidade, saturáveis e com competitividade entre o aspartato e o glutamato. Embora a molécula de proteína que transporta o glutamato ainda não tenha sido identificada, foi demonstrado que existe na membrana luminal capilar. Por outro lado, foi demonstrada a existência de um sistema que transporta glutamato

do cérebro para o plasma dependente de sódio e também saturável (Lee *et al.*, 1998). A capacidade transportadora do sistema X<sup>-</sup> é significativamente menor do que a dos sistemas L1 e Y<sup>+</sup>. Um aspecto essencial do transporte de glutamato para o cérebro é que o sistema X<sup>-</sup> se encontra 80% saturado em níveis plasmáticos normais, o que permite prever um influxo incipiente desse aminoácido do plasma para o cérebro (Hawkins *et al.*, 2006).

## 4. OS NEURÔNIOS

Os neurônios são as células funcionais do tecido nervoso, as quais se interconectam formando redes de comunicação que transmitem sinais por diferentes zonas do cérebro. Assim, as funções complexas do sistema nervoso são consequência da interação entre redes de neurônios, e não o resultado das características específicas de cada neurônio individual (Alvarez & Sabatini, 2007).

A forma e estrutura de cada neurônio se relacionam com sua função específica, como, por exemplo, receber sinais de receptores sensoriais, conduzir esses sinais como impulsos nervosos, ou transmitir os sinais a outros neurônios ou a células efetoras. Do ponto de vista celular, os neurônios são altamente polarizados e neles podem ser distinguidas duas zonas diferentes: o compartimento somato-dendrítico e os axônios. O primeiro é constituído pelo pericárdio ou soma, onde se situam o núcleo e as principais organelas e do qual saem os numerosos dendritos que aumentam a área da superfície celular disponível para receber informações. Os dendritos são prolongamentos protoplasmáticos ramificados que nascem do soma, aumentando a superfície de recepção dos estímulos do neurônio. Eles são caracterizados por apresentar pequenas protrusões de membrana, as espinhas dendríticas, que medem entre 0,5 e 2  $\mu\text{m}$  de comprimento e abrigam os componentes moleculares pré e pós-sinápticos e algumas organelas. Existem entre 10 e 100 dendritos por  $\mu\text{m}^2$  nos neurônios que recebem a maioria, na ordem de 90%, das sinapses excitatórias. Estima-se que o cérebro humano contenha, aproximadamente,  $10^{13}$  dendritos (Nimchinsky *et al.*, 2002). O segundo, se caracteriza por apresentar uma ou várias prolongações ou terminais axonais, que permitem que o impulso nervoso de um neurônio seja transmitido a outros, ramificando-se em sua porção terminal (telodendro). O tamanho das células nervosas é altamente variável, mas seu corpo celular pode medir até 150  $\mu\text{m}$  (Stiles & Jernigan, 2010).

As interações celulares e funcionais especializadas chamadas sinapses, são geradas entre dendritos ou nas proximidades dos botões terminais das ramificações do axônio ou do soma neuronal. As sinapses possibilitam a comunicação neuronal

que pode ser basicamente elétrica ou química. Neste capítulo serão abordadas as características do segundo tipo, que é mediado pela liberação de neurotransmissores do terminal pré-sináptico, os quais, quando interagem com as estruturas sinápticas no terminal pós-sináptico, geram uma série de processos de sinalização que serão discutidos posteriormente (Alvarez & Sabatini, 2007; Südhof, 2018).

## 5. A SINAPSE NEURONAL

As sinapses podem ser definidas como contatos funcionais que compreendem uma zona estreita formada por membranas opostas de duas estruturas neuronais. Assim, o terminal pré-sináptico apresenta a maquinaria molecular que favorece a síntese, armazenamento em vesículas e a liberação dos neurotransmissores durante o potencial de ação mediante fusão vesicular induzida por cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Além disso, são produzidas outras moléculas proteicas relevantes, como são os transportadores que recapturam do meio extracelular os neurotransmissores ao terminal pré-sináptico, os canais de cálcio dependentes de voltagem, e as moléculas de adesão (Alvarez & Sabatini, 2007).

O terminal pós-sináptico é rico em receptores, proteínas de sinalização, proteínas receptoras e densidades proteicas pós-sinápticas (DPS). Essas estruturas respondem à liberação do neurotransmissor, ativando diversas rotas de sinalização e gerando um novo potencial de ação.

Têm sido relatados vários grupos de proteínas de adesão localizadas nas sinapses que intermediam a organização bidirecional dos compartimentos pré e pós-sináptico. Entre elas se destacam as neurexinas, SynCAMs (*Synaptic cell adhesion molecules*), caderinas tipo I e II, efrinas e netrinas G1 e G2 que se expressam no terminal pré-sináptico e interagem como ligantes específicos no terminal pós-sináptico (Südhof, 2018). Assim, proteínas da família das efrinas, como a efrina B, têm sido relacionadas com a direcionalidade dos axônios. Essas proteínas de adesão interagem com diferentes proteínas estruturais e de citoesqueleto, como a espectrina, as densidades pós-sinápticas e outras proteínas que direta ou indiretamente interagem com o citoesqueleto, com enzimas e com proteínas de sinalização (Südhof, 2018).

## 6. OS NEUROTRANSMISSORES

Um neurotransmissor é uma molécula sintetizada, armazenada numa vesícula e liberada seletivamente de um terminal pré-sináptico por um mecanismo  $\text{Ca}^{2+}$  induzido, que interage com um receptor específico em um terminal

pós-sináptico, produzindo uma resposta fisiológica. Existem muitas moléculas que atuam como neurotransmissores e que podem ser classificadas segundo sua identidade química. Assim, dentre os denominados neurotransmissores clássicos pode ser mencionada a acetilcolina, que se libera nas sinapses neuromusculares e glandulares e em diferentes regiões do sistema nervoso central. Atua, principalmente, como um neurotransmissor excitatório, podendo também exercer ação inibitória. Dentro do grupo das aminas biogênicas se destacam a serotonina, cujas vias modulam os comportamentos, a alimentação e o sono; a dopamina que participa na coordenação de movimentos corporais, a motivação e os mecanismos de recompensa (Briguglio *et al.*, 2018); a epinefrina que se libera em diversas áreas do sistema nervoso central e do sistema nervoso autônomo e a norepinefrina, presente em várias áreas do sistema nervoso central e sistema nervoso autônomo, é excitatória ou inibitória, e regula efeitores simpáticos (Fuller, 1982).

Outro grupo de neurotransmissores clássicos são os aminoácidos. Entre eles, destaca-se o glutamato que é liberado por neurônios em todo o sistema nervoso central, sendo o neurotransmissor excitatório mais abundante. Mais de 60% das sinapses excitatórias do SNC são glutamatérgicas (aproximadamente,  $10^{12}$  a  $10^{13}$ , no cérebro humano) (Eyigor *et al.*, 2012). Embora os neurônios que liberam ácido  $\gamma$ -amino butírico (GABA) sejam na sua maioria interneurônios, eles podem modular a excitabilidade dos circuitos neuronais regulando os neurônios glutamatérgicos e prevenindo a hiperexcitação (Terunuma, 2018). Por outro lado, a glicina é considerada o neurotransmissor inibitório mais abundante que geralmente atua na medula espinhal. Outras moléculas pequenas, como o óxido nítrico, também atuam, potencialmente, como neurotransmissores.

## 7. COMPARTIMENTALIZAÇÃO DO GLUTAMATO NOS NEURÔNIOS

O cérebro contém grandes quantidades de glutamato, porém somente uma pequena fração se encontra normalmente no líquido extracelular. Ainda que dependa muito da região do cérebro que se esteja analisando, a concentração global de glutamato é da ordem de 5-15 mM por kg de peso fresco. A concentração no fluido extracelular, 10-20% do volume total do cérebro, é, aproximadamente, de 3 a 4  $\mu$ M e, no líquido cefalorraquidiano (LCE), chega a ser 10  $\mu$ M (Hamberger & Nystroöm, 1984).

Igualmente, o glutamato no parênquima intercelular não está distribuído homogeneamente e existem compartimentos de baixa concentração e outros onde o acúmulo do aminoácido é significativamente alto. Esses são os chamados

reservatórios de glutamato. Assim, podem-se distinguir dois reservatórios celulares que respondem a uma característica funcional diferente: a) um grande reservatório neural e b) um pequeno reservatório glial.

O reservatório metabólico neuronal está associado aos intermediários metabólicos do ciclo de Krebs, importantes na neurotransmissão devido a que são requeridos para a síntese de precursores de glutamato e ácido  $\gamma$ -amino butírico (GABA). Foi calculado que o reservatório de glutamato nos terminais sinápticos pode atingir 20 a 30% do total (Fonnum, 1985), enquanto que o reservatório de glutamato nos terminais GABAérgicos está entre 6-11  $\mu$ M. Nestes terminais, esse neurotransmissor está concentrado nas mitocôndrias e seu correspondente componente citosólico é relativamente baixo (Fonnum, 1985).

A função do neurotransmissor glutamato implica na existência de vesículas sinápticas que possibilitam manter uma alta concentração de moléculas nesse compartimento. Assim, verificou-se que a concentração de glutamato nas vesículas é muito superior à sua concentração no citosol, ou seja, pode chegar à ordem de 0,1 M (Omote *et al.*, 2011). De acordo com diferentes estudos de microscopia eletrônica, verificou-se que as vesículas sinápticas são organelas abundantes, relativamente pequenas, de tamanho uniforme, com um diâmetro de, aproximadamente, 40 nm. Estão constituídas por bicamadas de fosfolipídios associadas a proteínas e no lúmen se concentram diferentes tipos de neurotransmissores. Sob o microscópio eletrônico, por exemplo, verifica-se que o glutamato e acetilcolina estão armazenados em pequenas vesículas redondas claras (Omote *et al.*, 2011).

Visto que a síntese de glutamato é principalmente mitocondrial, é necessário que ele seja incorporado na vesícula usando um transportador dependente de gradiente eletroquímico de prótons gerados por uma ATPase vesicular ativada por  $Mg^{2+}$  (Christensen *et al.*, 1990). O glutamato armazenado nas vesículas sinápticas é reciclado com meia-vida na ordem de minutos, mesmo em condições fisiológicas de captura ativa. Esse mecanismo de captura é bem caracterizado, assim o  $Mg^{2+}$  ativa a ATPase responsável por gerar o gradiente de energia através da membrana da vesícula. A ATPase, como uma bomba de prótons, impulsiona os prótons para o lúmen vesicular, criando um gradiente de pH que acidifica o lúmen ( $\Delta$ pH), assim como um potencial de membrana ( $\Delta$  $\Psi$ ) positivo no seu interior. Isso implica em um transporte de  $Cl^-$  acoplado ao influxo de glutamato. Esse mecanismo de captura vesicular do glutamato é altamente conservado nos vertebrados, tanto pela sua especificidade pelo substrato, quanto para os requisitos do substrato (Moriyama & Yamamoto, 1995).

## 8. GLUTAMATO NOS ASTRÓCITOS

Nas células da glia se encontra a menor concentração de glutamato relatada no tecido nervoso. Isso pode ser explicado pelo seu importante papel de inativar o glutamato durante a neurotransmissão com a produção de uma molécula não neuroativa, a glutamina. Assim, a concentração de glutamina é calculada na ordem de 22 mM e é estimada uma concentração de glutamato glial na ordem de 4-5 mM (Berl, 1965).

A remoção do glutamato do espaço extracelular (sináptico) é possibilitada por transportadores de glutamato nas membranas, tanto de astrócitos como de neurônios, e são essenciais para o bom funcionamento do sistema nervoso. São conhecidos pelo menos cinco tipos diferentes de transportadores EAAT1-EAAT5 (*Excitatory Acidic Amino Acid Transporter*), todos dependentes de sódio para o mecanismo de captura do aminoácido. Alguns transportadores como EAAT1 são expressos preferencialmente nas células da glia; enquanto que EAAT4 está associado a terminais pós-sinápticos (Storck *et al.*, 1992). Além disso, a expressão de EAAT2 pode ser encontrada relacionada a neurônios e em astrócitos protoplásmicos (Pines *et al.*, 1992).

Os mecanismos de transporte para esse grupo de moléculas são baseados nos gradientes transmembranares de sódio, potássio e pH. O transporte de glutamato é eletrogênico e estimulado pelo potencial de membrana negativo. Os mecanismos de recaptura de glutamato são finamente regulados por múltiplos fatores e sua desregulação parece ter uma forte influência no aparecimento e desenvolvimento de distúrbios neurodegenerativos, incluindo a doença de Alzheimer e a demência associada ao vírus da imunodeficiência humana (HIV).

Para a inativação do glutamato é necessária a atividade de enzimas seletivamente localizadas tanto na glia (glutamina sintetase – GS) quanto nos neurônios (glutaminase, ativada por fosfatos – PAG) (Norenberg, 1979), favorecendo o ciclo glutamato-glutamina (Glu-Gln). Consistentemente, uma baixa concentração de glutamina foi encontrada nos terminais glutamatérgicos, indicando que, nessas estruturas, a glutamina é usada como precursor do glutamato. No entanto, outras enzimas que metabolizam esse neurotransmissor, como a glutamato desidrogenase (GDH), que favorecem o arranjo de esqueletos de carbono para a oxidação ou para a síntese de outras moléculas, são expressas tanto em neurônios como em astrócitos (Rothe *et al.*, 1994). Embora o gradiente de concentração favoreça o influxo de glutamato em direção ao astrócito, foi demonstrado que, em condições fisiológicas normais, também pode ser gerado um transporte reverso associado a correntes elevadas de K<sup>+</sup> (Tasker *et al.*, 2012).



Portanto, nos astrócitos se sintetiza, acumula e libera ao meio extracelular uma grande variedade de moléculas que favorecem mecanismos de sinalização intracelular e regulam as sinapses glutamatérgicas e GABAérgicas. Essas moléculas são denominadas de gliotransmissores (Mayorquin, *et al.*, 2018). Em particular, para o caso do glutamato, essa liberação ou descarga pode ocorrer através de uma série de mecanismos bem identificados, como: a ação reversa dos transportadores (Tasker *et al.*, 2012), a abertura de canais iônicos (Kimelberg *et al.*, 1990), a exocitose dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  (Parpura *et al.*, 1994), a ação de transportadores cistina-glutamato (Warr *et al.*, 1999), os receptores purinérgicos ionotrópicos (Duan *et al.*, 2003) e as uniões estreitas ou conexões (Mayorquin *et al.*, 2018).

Os canais iônicos purinérgicos fornecem outra via para a descarga de glutamato ao meio extracelular. Esses receptores ativados por ATP têm sete subunidades diferentes que podem formar complexos homoméricos e heteroméricos, formando poros seletivos (North, 2002) e evidências foram encontradas de que o glutamato é liberado nesse transporte (Duan *et al.*, 2003; Mayorquin *et al.*, 2018). Os canais das junções estreitas formam poros entre as células adjacentes. Esses canais são constituídos por duas conexões ou hemicanais, constituídos por proteínas do tipo conexina. Foi relatado o transporte de íons, inositol fosfato e de glutamato através desses hemicanais ou conexões. Isso favorece o efeito da comunicação intracelular glial chamada gliotransmissão (Mayorquin *et al.*, 2018).

Esse processo está mediado pela descarga de glutamato através de um mecanismo de exocitose dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  que requer um incremento da concentração intracelular do cátion nos astrócitos. Para tanto, os astrócitos possuem um mecanismo secretor que envolve um grande complexo de proteínas (Mayorquin *et al.*, 2018).

A liberação de glutamato nas vesículas é mediada pela exocitose, que envolve a fusão entre as membranas vesicular e plasmática. Isso pode ser monitorado em diversas células e na cultura primária de astócitos, medindo a capacitância da membrana ( $C_m$ ), que é linearmente relacionada à área da membrana (Kreft *et al.*, 2004). Essa técnica foi usada para comprovar a hipótese de que um aumento na concentração de cálcio citosólico causa um aumento na  $C_m$  de células completas (Kreft *et al.*, 2004; Zorec *et al.*, 2016). Além disso, foi evidenciada a presença de proteínas vesiculares nos astrócitos, o que implica a liberação de glutamato por essa via. Essas vesículas astrocíticas exibem uma mobilidade semelhante à sináptica encontrada nos neurônios (Zorec *et al.*, 2016).

Outro importante mecanismo de compartimentação entre astrócitos e neurônios ocorre no SNC durante a síntese do tripéptido glutatona (GSH:

$\gamma$ -L-glutamil-L-cisteína-glicina), molécula de alta relevância para proteger os neurônios do ataque por espécies reativas de oxigênio (ERO) produzidas durante diferentes reações metabólicas. Os astrócitos possuem maior concentração de GSH e maior capacidade de secretar GSH no espaço extracelular para neurônios e outras células cerebrais através da atividade da  $\gamma$ -glutamil transferase ( $\gamma$ -GT). No entanto, a síntese de GSH depende da disponibilidade de cisteína e a incorporação desse aminoácido ocorre nos neurônios através de um transportador de aminoácidos excitatórios (EAATs), enquanto nos astrócitos ocorre através do trocador de cistina/glutamato (sistema Xc<sup>-</sup>) (McBean, 2002).

Também têm sido relatados canais aniônicos permeáveis a pequenas moléculas orgânicas e inorgânicas (Mongin & Orlov, 2001). Esses canais são permeáveis a aminoácidos como taurina, aspartato e glutamato. Eles são particularmente ativos em condições de hipo-osmolaridade do astrócito, em que o glutamato pode ser liberado mesmo quando outras vias descritas anteriormente forem bloqueadas (Kimmelberg *et al.*, 1990).

## 9. SÍNTESE DO GLUTAMATO

Visto que não há captura líquida de glutamato do plasma, o mesmo deve ser sintetizado no cérebro a partir da glicose. Isso se deve não apenas ao seu importante papel como neurotransmissor, mas também porque está envolvido na síntese de aminoácidos, proteínas e peptídeos (Weil-Maleherbe, 1950), bem como de outros precursores e nos processos de detoxificação do amônio no cérebro.

No tecido cerebral ocorre uma interessante variação do ciclo do ácido nítrico. A acetilcoenzima-A e o oxaloacetato são condensados para formar o citrato. Depois, este é isomerizado em isocitrato que é oxidado para se obter  $\alpha$ -cetoglutarato, precursor direto do glutamato por transaminação. O ácido  $\gamma$ -aminobutirato (GABA) é produzido a partir de glutamato por descarboxilação e pode ser catabolizado, via transaminação, a semialdeído succínico seguido por oxidação a succinato e oxaloacetato. Esse ciclo é denominado como “o desvio do  $\gamma$ -aminobutirato” e tem um importante papel na integralidade dos processos oxidativos no tecido cerebral (Chowdhury *et al.*, 2007). O  $\gamma$ -aminobutirato atua também como doador dos grupos amino. A Figura 8.1 apresenta um esquema desta rota metabólica.

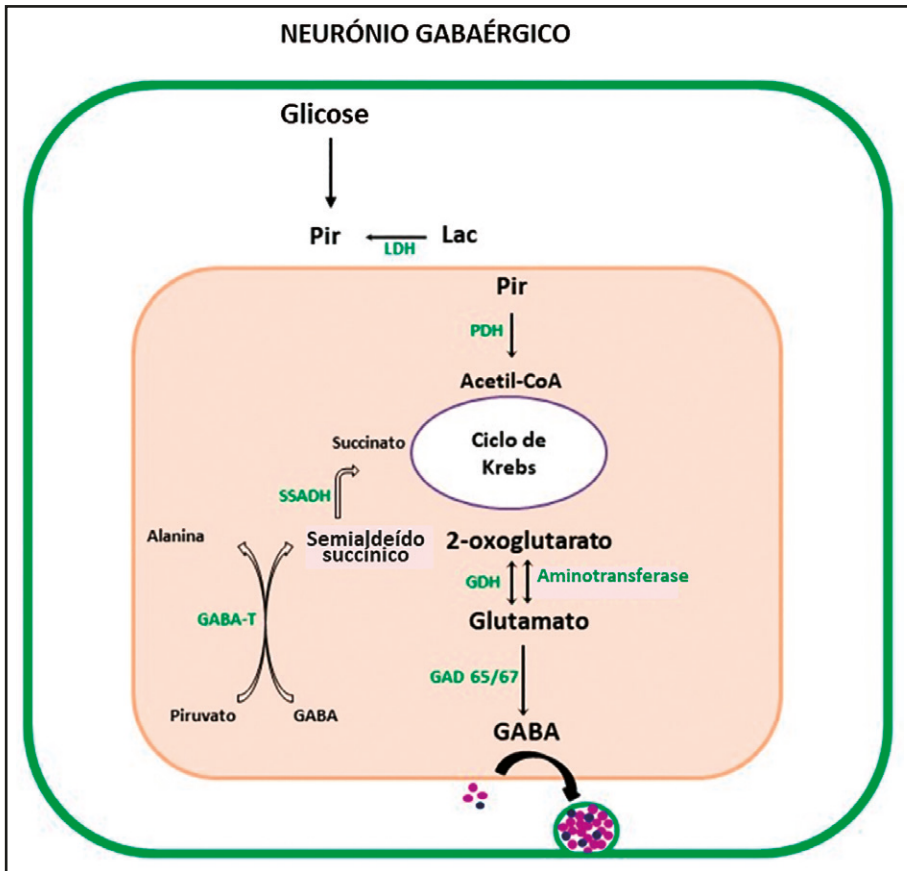


Figura 8.1 – Diagrama esquemático da via metabólica do transporte de  $\gamma$ -aminobutirato. São apresentados os principais metabólitos envolvidos nessa via neuronal.

Fonte: figura preparada pelos autores.

É aceito, atualmente, que o ciclo glutamato-glutamina (Glu-Gln) tem uma importante função no cérebro. Esse ciclo não funciona de uma forma estequiométrica exata, visto que o Glu e a Gln são capturados e metabolizados tanto pelos astrócitos como pelos neurônios (Chowdhury *et al.*, 2007).

A glutamina e o  $\alpha$ -cetoglutarato derivado da glicose são considerados como os principais precursores do glutamato metabólico e neurotransmissor, tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Entretanto, parece que a glutamina é o substrato preferido para a síntese do glutamato como neurotransmissor (Yudkoff *et al.*, 1993). A enzima chave para essa reação é a glutaminase ativada por fosfato (PAG) ou glutamina amidoidrolase.

Muitas enzimas estão envolvidas no metabolismo do glutamato no cérebro: a glutamina sintetase (GS) já mencionada; a glutamato descarboxilase (GAD) que catalisa a formação do ácido  $\gamma$ -amino butírico (GABA) a partir do glutamato e que se encontra localizada nos neurônios GABAérgicos; a glutaminase ativada por fosfatos (PAG), que catalisa a geração de glutamato a partir de glutamina segundo a reação  $\text{Gln} \rightarrow \text{Glu} + \text{NH}_4^+$ ; a aspartato aminotransferase, que catalisa a reação  $\text{Asp} + \alpha\text{-cetoglutarato} \leftrightarrow \text{Gln} + \text{oxaloacetato}$ ; e a glutamato desidrogenase (GDH), que catalisa a reação  $\text{Glu} + \text{NAD(P)} \leftrightarrow \alpha\text{-cetoglutarato} + \text{NAD(P)}\text{H} + \text{H}^+$  (Sonnewald & Schousboe, 2016).

As enzimas que catalisam reações específicas são apenas alguns exemplos do importante metabolismo do glutamato, a fim de garantir a concentração e a compartimentação que possibilitam o desenvolvimento de suas funções, como neurotransmissor e metabólito ativo nos processos energéticos e de desintoxicação dos neurônios.

## 10. O GLUTAMATO COMO NEUROTRANSMISSOR

A possibilidade de que o glutamato tivesse um significado especial na função cerebral foi pressuposta, inicialmente, por Weil-Malherbe (1950). Em 1956, Hayashi descobriu que os cachorros e macacos aos quais era aplicado glutamato por via intracerebroventricular ou intracarótida sofriam de convulsões (Hayashi, 1956). Posteriormente foram reportadas observações sobre a degradação da retina em ratos depois da administração sistêmica de glutamato, o que parecia implicar na excitotoxicidade como mecanismo de morte neuronal (Lucas & Newhouse, 1957). A demonstração no final da década de 1950, sobre as ações excitatórias e despolarizantes desse aminoácido em neurônios isolados do SNC, fizeram surgir esperanças sobre o descobrimento do mais importante neurotransmissor excitatório do SNC.

A completa aceitação do glutamato como neurotransmissor não foi alcançada senão 20 anos depois. Ainda em 1967, podiam-se ler afirmações como “As evidências do glutamato como neurotransmissor são extremamente escassas, razão pela qual somente é considerado brevemente” (Kravitz, 1967). Atualmente, o papel do L-glutamato como neurotransmissor excitatório no sistema nervoso dos mamíferos está estabelecido fora de qualquer dúvida razoável. Também é aceito com o mesmo papel em outros vertebrados e invertebrados. No entanto, são necessárias importantes peças de evidência para demonstrar que o glutamato se encontra concentrado em vesículas sinápticas.

Estudos com análogos do glutamato têm permitido elucidar os requerimentos estruturais gerais para a ativação de seus receptores. A característica de ser aminoácido di-carboxílico, com um segundo grupo carboxila nas posições  $\beta$  e  $\gamma$ , resultou ser essencial para a interação. Portanto, foi demonstrada que a ausência do grupo carboxila no glutamato ou no aspartato causa a perda de sua atividade excitatória. A remoção do  $\alpha$ -carboxila resulta em moléculas de caráter inibitório, tal como ocorre com o ácido  $\gamma$ -amino butírico (GABA). Substituições do  $\gamma$ -carboxila do glutamato por um sulfonato (DL-homocisteato) resultam num composto que é mais potente que o aminoácido precursor. Esse mecanismo de interação proposto é conhecido pelo nome de “receptor de glutamato de três pontos”, sugerido por Curtis & Watkins (1960).

Muitas outras fontes de informações e conhecimento consolidaram o papel do glutamato como neurotransmissor. A título de exemplo, que os níveis desse aminoácido são relativamente altos nas raízes dorsais aferentes (Curtis & Johnston, 1974), bem como a evidência de que os neurônios de diferentes partes do SNC mostram variabilidade na sensibilidade ao L-glutamato e L-aspartato, como demonstrado no núcleo talâmico e nos cornos dorsal e ventral da medula espinhal (Duggan, 1974).

Por outro lado, a primeira relação entre o glutamato e o cálcio apareceu quando foi verificado que a liberação do aminoácido é parcialmente dependente da concentração extracelular de esse íon (Bradford *et al.*, 1973). Posteriormente, iniciaram-se os estudos para elucidar o papel dos agonistas e antagonistas sobre a transmissão sináptica. Esse tipo de informação e conhecimento tem sido possível na medida em que os químicos se interessaram pela neurofarmacologia e começaram a avaliar um amplo espectro de moléculas com atividades sobre os receptores de glutamato.

Ainda que inicialmente não se encontrassem antagonistas, as atividades promissoras foram alcançadas quando se avaliavam antagonistas similares ao glutamato. Uma das primeiras moléculas do L-glutâmico a ser sintetizada foi o N-metil-D-aspartato (NMDA) (Watkins, 1962). Também foram identificados os ácidos cáinico e quisquálico dentro de um grande espectro de substâncias obtidas de produtos naturais que mostraram atividade excitatória (Watkins *et al.*, 1966). Posteriormente, foi sintetizado um análogo do ácido ibotênico, o ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propiónico (AMPA), que mostrou ser um poderoso excitador (Johnston *et al.*, 1968). Outros interessantes análogos avaliados na época foram o D- $\alpha$ -amino adipato (DAA), o  $\gamma$ -glutamil-aminometil-sulfonato (GAMS) e o glutamato dietilester (GDEE).

## 11. RECEPTORES DE NEUROTRANSMISSORES

Como discutido anteriormente, os neurotransmissores agem sobre moléculas proteicas de tipo receptor. Embora a ideia original de um receptor tenha sido proposta por Langley no século XIX, o mesmo autor cunhou o termo “substância receptiva” em 1905 (Langley, 1905). Ele propôs que a atividade dos ligantes depende de sua concentração e afinidade química. O primeiro tratamento quantitativo do problema receptor-ligante foi elaborado por Hill (1909), que derivou a equação que Langmuir também descobriria mais tarde e que leva seu nome. Até esse momento, essas observações não tinham nada a ver com a transmissão sináptica. Esse conhecimento se iniciou com o artigo clássico de Dale *et al.* (1936), quando foram realizados trabalhos sobre a acetilcolina e seus efeitos nas terminações nervosas.

Dessa forma, iniciaram-se os trabalhos que contribuíram para criar o cenário a partir do qual se iniciara o desenvolvimento que atualmente considera o glutamato como um neurotransmissor que interage com receptores específicos no sistema nervoso central.

## 12. RECEPTORES DE GLUTAMATO

A atuação do glutamato como principal neurotransmissor excitatório no SNC dos mamíferos é modulada por receptores de glutamato (GluRs), que se expressam praticamente em todas as células neuronais e em algumas glias. Essa família é constituída por receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR) e os receptores ionotrópicos de glutamato (iGluR). Na Tabela 8.1 é apresentada a organização de todas as subunidades constituintes das subfamílias e famílias dos receptores de glutamato.

Tabela 8.1 – Subunidades constitutivas da família dos GluR

Receptores de glutamato (GluRs)					
Metabotrópicos (mGluRs)			Ionotrópicos (iGluRs)		
I	II	III	AMPA	KAIN	NMDA
Famílias			Subunidades		
mGluR1	mGluR2	mGluR4	GluR1	GluR5	NR1 (8 Isoformas)
mGluR5	mGluR3	mGluR6	GluR2	GluR6	NR2A
		mGluR7	GluR3	GluR7	NR2B
		mGluR8	GluR4	KA1	NR2C
				KA2	NR2D
					NR3A
					NR3B

Fonte: tabela preparada pelos autores.

Os receptores metabotrópicos participam dos processos de sinalização devido à interação com o neurotransmissor e são fundamentalmente acoplados à ativação das proteínas G que favorecem um aumento na concentração de segundos mensageiros, responsáveis por desencadear uma sequência de eventos bioquímicos. Atualmente são conhecidos 8 receptores desse tipo (mGluR1-8) (Nakanishi, 1992), que são divididos em três grupos (grupo I, II, III) de acordo com a homologia de sequência, perfil farmacológico e mecanismos de transdução de sinal (Ferraguti & Shigemoto, 2006). Análises de homologia revelam que os mGluRs mostram pouca ou nenhuma semelhança com outros receptores acoplados às proteínas G. Uma característica estrutural dos receptores da família mGluR é seu grande domínio extracelular e 21 resíduos de cisteína em posições conservadas (Tanabe *et al.*, 1992). A descrição dos grupos é apresentada na Tabela 8.1.

Os receptores do grupo I são acoplados à ativação da fosfolipase C (PLC) e são encontrados principalmente em regiões pós-sinápticas, onde aumentam a excitabilidade neural e são ativados de forma potente pelo quisqualato (Kinoshita *et al.*, 1996). Enquanto que os receptores II e III estão associados à inibição da adenilato ciclase (CA), os do grupo I estão localizados principalmente nos terminais pré-sinápticos e funcionam como inibidores automáticos e heteroreceptores. Eles são insensíveis ao quisqualato, porém são poderosamente ativados por (2S, 1'R, 2'R, 3'R) -2- (2, 3-dicarboxiciclo-propil) glicina (DCG-IV) e pelo ácido L-2-amino-4-fosfonobutanoico (L-AP4) (Thomsen *et al.*, 1992). O grupo III é o maior grupo de mGluRs, porém o menos caracterizado, provavelmente

devido à falta de agentes farmacológicos seletivos. Embora os ligantes alostéricos seletivos para os subtipos mGluR do grupo III tenham sido descobertos muito recentemente, isso tem permitido esclarecer o papel desses receptores no funcionamento normal do SNC e nos modelos de distúrbios neurológicos e psiquiátricos (Ferraguti & Shigemoto, 2006; Palazzo *et al.*, 2016).

### 13. RECEPTORES IONOTRÓPICOS DE GLUTAMATO

Os complexos proteicos que atuam como receptores e em sua estrutura quaternária têm poros que funcionam como canais iônicos associados, são conhecidos como receptores ionotrópicos.

Os iGluR foram classificados em três populações diferentes, cada uma definida pela ativação seletiva com diferentes análogos estruturais do glutamato (Flores-Soto *et al.*, 2012). Assim, a família iGluR fica constituída por receptores ativados por N-metil-D-aspartato (NMDA), por  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato (AMPA) e por ácido cáinico (KAIN). As duas últimas categorias são conhecidas, coletivamente, como receptores não-NMDA (Gasic & Heinemann, 1991). A complexidade de todos os arranjos potenciais dos canais funcionais indica que a presente classificação não é absoluta e pode chegar a ser inadequada para descrever as atividades observadas *in vivo* (Flores-Soto *et al.*, 2012).

Os receptores iGluR neuronais têm associados a eles canais catiônicos seletivos, principalmente  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Na}^+$  que entram na célula, enquanto o  $\text{K}^+$  eflui através do mesmo canal. Da subfamília dos receptores não-NMDA, os ativados por AMPA mostram uma cinética de rápida ativação e dessensibilização. A maioria dos neurônios apresenta uma alta permeabilidade ao  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  e uma baixa permeabilidade ao  $\text{Ca}^{2+}$ . Os receptores de AMPA são constituídos por quatro tipos, denominados GluR1 a GluR4 (ou GluR-A a GluR-D). Todos os tipos são caracterizados por sua alta afinidade ao AMPA, e apresentam valores de  $K_d$  da ordem nanomolar e uma baixa afinidade ao KAIN. Todos os tipos apresentam a existência de isoformas devido ao *splicing* alternativo de seus genes (Bettler *et al.*, 1990). Existe um grupo especial de receptores, denominados KA-1 e KA-2 com baixa similaridade estrutural com os GluR-1 a 4 e alta afinidade pelo KAIN. Esses dois receptores não constituem canais funcionais. Além desses, existe um novo grupo constituído pelos  $\delta$ -1 y  $\delta$ -2, às vezes conhecidos como receptores órfãos, para os quais ainda não é conhecida sua função. Duas formas truncadas, ou proteínas incompletas, chamadas KBP-c e KBP-f, presentes em frango e rã, respectivamente, fecham o grupo de moléculas desse tipo (Seeburg, 1993).



A subfamília dos iGluR ativados por NMDA (iGluR-NMDA) é caracterizada por uma alta velocidade de disparo e lento decaimento, com alta permeabilidade ao  $\text{Ca}^{2+}$ . São canais dependentes de voltagem, regulados pelo  $\text{Mg}^{2+}$ , o qual atua como bloqueador de canal. Além disso, requer a atividade da glicina e de outros homólogos como coagonistas (McBain & Mayer, 1994). Estes iGluR-NMDA produzem correntes excitatórias pós-sinápticas (EPSC) duradouras.

## 14. IGLUR-NMDA

Os iGluR-NMDA são um complexo macromolecular heteromultimérico, constituído por três tipos diferentes de subunidades designadas como NR1, NR2 e NR3 nos receptores funcionais do SNC (Schüler *et al.*, 2008). Todas essas subunidades foram clonadas (Ciabarra *et al.*, 1995), a maioria delas entre 1992 e 1995, embora algumas somente tenham sido clonadas mais recentemente. Está bem documentado que a atividade do complexo depende da composição de suas subunidades constituintes, particularmente no que diz respeito às propriedades farmacológicas e fisiológicas e, em muitos casos, à sensibilidade e especificidade (Honer *et al.*, 1998).

Assim, para o tipo de subunidades NR1 foram identificadas, por *splicing* alternativo, 8 isoformas de um mesmo gene. A subfamília NR2 é composta por 4 subunidades individuais, cada uma derivada de um gene, chamadas NR2A a NR2D (Erreger *et al.*, 2005). Cinco novas variantes foram identificadas por *splicing* alternativo da NR2B no tecido cerebral de murinos (subfamília de roedores da família Muridae) (Tabish & Ticku, 2004). A subfamília NR3 consiste em 2 subunidades, cada uma derivada de um gene, conhecidas como NR3A e NR3B (Erreger *et al.*, 2005). As subunidades NR2 são consideravelmente maiores do que as NR1 e possuem um baixo nível de homologia (Ishii *et al.*, 1993). A subunidade tipo NR2C foi a primeira à qual a estrutura de seu gene foi determinada (Suchanek *et al.*, 1995). A subfamília NR3 consiste em apenas duas subunidades, cada uma delas codificada por seu próprio gene, a NR3A e a NR3B.

Alguns trabalhos têm evidenciado que os iGluRs formam tetrâmeros em arranjos dímero-dímero, com subunidades individuais dispostas em três camadas principais: o domínio amino-terminal distal (ATD) na parte superior, o domínio de ligação ao ligante (LBD) intercalado na parte média e o domínio transmembrana (TMD), que abriga o canal iônico, ao “fundo”. Os grandes domínios extracelulares mostram uma característica inesperada: um arranjo de subunidades não equivalentes dos ATD e LBD, que em conjunto são compostas por quatro módulos semelhantes a moluscos (Sobolevsky *et al.*, 2009).

Na camada ATD, as subunidades A/B e C/D estão acopladas como dímeros locais, enquanto que na camada LBD são as subunidades A/D e B/C que estão acopladas como dímeros locais, um entrelaçamento de subunidades que é realizado pelo intercâmbio de interações subunidade-subunidade entre as camadas ATD e LBD (Sobolevsky *et al.*, 2009). Como consequência desse intercâmbio de subunidades, os arranjos A/C e B/D, inclusive nos receptores de AMPA homoméricos, adotam duas conformações distintas. Por alguns anos, foi proposto que a estrutura quaternária do iGluR-NMDA pudesse ser tri, tetra, penta e até heptamérica (Rosenmund *et al.*, 1998). Isso devido a terem sido identificados conjuntos heteromultiméricos das subunidades distribuídas diferencialmente por todo o SNC (Kashiwagi *et al.*, 1997). No entanto, apenas nos últimos anos as estruturas cristalinas do iGluR-NMDA (GluN1/GluN2B) foram elucidadas por dois grupos de pesquisa diferentes e determinadas por raios-X em complexos com agonistas, um modulador alostérico e um bloqueador de canais iônicos (Karakas & Furukawa, 2014; Lee *et al.*, 2014). Possivelmente esta é a razão pela qual poucas estruturas macromoleculares exibem atividades em uma ampla gama de processos bioquímicos, fisiológicos, psicológicos, farmacológicos e patológicos como o receptor ionotrópico de glutamato ativado pelo N-metil-D-aspartato (iGluR-NMDA) (Lee *et al.*, 2003).

## 15. PROCESSOS DOS QUAIS O GLUTAMATO PARTICIPA ATRAVÉS DO IGLUR-NMDA

Os receptores iGluR-NMDA têm múltiplos e importantes papéis em processos fisiológicos no SNC. Devido à complexidade e diversidade dos arranjos de suas estruturas macromoleculares, não necessariamente sempre no papel primordial, porém podem estar regulando as atividades relacionadas com eventos associados a outras estruturas macromoleculares.

Foi demonstrado que o glutamato e os diferentes complexos que constituem os iGluR-NMDA participam de diversos processos funcionais, como a aprendizagem (Tang *et al.*, 1999), e também na consolidação da memória (Pláteník *et al.*, 2000; Jourdain *et al.*, 2018; Nakazawa *et al.*, 2004). Portanto, pode-se afirmar que sem o glutamato e o complexo iGluR-NMDA não existiriam esses dois processos fundamentais para a vida como a conhecemos.

Além disso, a participação essencial do glutamato e do iGluR-NMDA foi demonstrada, em maior ou menor grau, em uma multiplicidade de funções que dependem de eventos neurofisiológicos e neurofarmacológicos que mostram a importância desse complexo macromolecular e de seu principal agonista natural. Esses processos regulam várias atividades em nível molecular, celular e

sistêmico. A Tabela 8.2 lista algumas das funções com as quais o iGluR-NMDA tem sido relacionado no SNC.

Tabela 8.2 – Algumas funções relacionadas à atividade do iGLUR-NMDA ou de suas moléculas associadas.

Funções do iGluR-NMDA no SNC	Referências
Plasticidade neural	Yang <i>et al.</i> , 2014
Migração neural	Wang <i>et al.</i> , 2007
Sinaptogênese	Washbourne <i>et al.</i> , 2002
Neuroproteção	Jourdain <i>et al.</i> , 2018
Ritmos circadianos	Song <i>et al.</i> , 2017
Controle da ingestão de alimentos	Zeni <i>et al.</i> , 2000; Sasaki <i>et al.</i> , 2016
Formação da consciência	Lareo & Corredor, 2004; Lareo & Corredor, 2006; Lareo, 2006
Potencialização a longo prazo	Pláteník <i>et al.</i> , 2000; Jourdain <i>et al.</i> , 2018; Bliim <i>et al.</i> , 2019
Depressão a longo prazo	O’Riordan <i>et al.</i> , 2018
Envelhecimento	Billard, 2018; Evans <i>et al.</i> , 2019

Fonte: tabela preparada pelos autores.

## 16. IGLUR-NMDA E GLUTAMATO EM APRENDIZAGEM E MEMÓRIA

O papel do glutamato, mediado pelos iGluR-NMDA nos processos de aprendizagem e memória, estudado desde meados dos anos 80, foi solidamente consolidado com os resultados obtidos com o rato geneticamente modificado *Doogie*, gerados no final dos anos 1990 por J. Tsien e seu grupo na Universidade de Princeton (Tang *et al.*, 1999). Esses ratos, nos quais foi obtida uma superexpressão do receptor completo e dentro destes, da subunidade NR2B, revelaram processos de aprendizagem acelerados e com períodos de memória maiores em comparação a seus congêneres.

Atualmente, é amplamente aceito que, para a formação da memória de longo prazo, é necessária a expressão gênica neuronal, síntese de proteínas e remodelação dos contatos sinápticos, ou seja, da chamada plasticidade sináptica. O fenômeno conhecido como potencialização em longo prazo foi proposto como mecanismo básico para a formação da memória e, como esperado, esse processo está altamente relacionado com a função do iGluR-NMDA (Pláteník *et al.*, 2000; Jourdain *et al.*, 2018; Escobar & Bermudez-Rattoni, 2000). Esse fenômeno se desenvolve principalmente nos espinhos dendríticos.

Os espinhos dendríticos são minúsculas protruções nos neurônios que abrigam receptores sinápticos de conexões excitatórias. Na membrana pós-sináptica da maioria dos espinhos dendríticos, há uma região densa de elétrons que abriga receptores de glutamato e outros complexos de proteínas, ou seja, uma densidade pós-sináptica (DPS) (Pláteník *et al.*, 2000). Demonstrou-se que a área da DPS se correlaciona com o volume da coluna dendrítica e o volume da cabeça do espinho dendrítico. Além disso, sabe-se que a plasticidade estrutural dos espinhos dendríticos é a base da formação da memória, em parte devido à sua forma e tamanho, o que é considerado proporcional ao tamanho do seu DPS, ao número de receptores de glutamato e a força sináptica. Durante a potencialização química de longo prazo dependente do receptor NMDA (NMDAR-cLTP), os espinhos dendríticos e seus DPS não apenas crescem, mas também aumentam a proporção do volume DPS e volume DPS-núcleo no espinho dendrítico. No entanto, isso é modificado e ajustado durante a plasticidade sináptica e é regulado pela atividade do retículo endoplasmático rugoso (Borczyk *et al.*, 2019). Também tem sido demonstrado que a cascata de sinalização cAMP/PKA/CREB, ativada pelo iGluR-NMDA, é essencial para a formação da memória de longo prazo (Waltereit & Weller, 2003).

Esse processo de aprendizado e memória, que é característico e fundamental da vida como a conhecemos, mediado pelo glutamato e seus receptores, em particular o iGluR-NMDA, coloca em evidência irrefutável a essencialidade desse aminoácido para todos os processos vitais e neurais que caracterizam o desenvolvimento superior dos seres humanos: o glutamato é essencial para a vida como a conhecemos.

## **17. PAPEL DO GLUTAMATO E SEUS RECEPTORES EM EXCITOTOXICIDADE E NEURODEGENERAÇÃO**

Em contrapartida, visto que o iGluR-NMDA está associado a tantas e diversas funções, é suscetível que em alguns eventos se tornem desregulados e possam gerar disfunções em diferentes níveis. Na Tabela 8.3 apresentam-se alguns exemplos de efeitos deletérios no SNC quando ocorrem mutações, alterações na expressão, diminuição ou aumento do receptor.

Tabela 8.3 – Patologias associadas ao mau funcionamento do iGLUR-NMDA ou de alguma de suas moléculas associadas

Alterações do iGluR-NMDA no SNC	Referências
Desordens do estado de ânimo e psiquiátrico	Peyrovian <i>et al.</i> , 2019
Ansiedade	Gafford & Ressler, 2015
Depressão	Raguett <i>et al.</i> , 2019; Farber, 2018
Catalepsia	Medeiros <i>et al.</i> , 2014; Lacopucci <i>et al.</i> , 2012
Psicose	Jézéquel <i>et al.</i> , 2018
Dor	Yuan & Burrell, 2019
Demência associada ao HIV	Self <i>et al.</i> , 2004
Atrofia do hipocampo	Wang <i>et al.</i> , 2018
Doença de Huntington	Ambroziak <i>et al.</i> , 2018
Doença de Alzheimer	Wang & Reddy, 2017
Epilepsia	Marwick <i>et al.</i> , 2019
Esquizofrenia	Errico <i>et al.</i> , 2018
Desordem bipolar	Clinton & Meador-Woodruff, 2004
Dor neuropática	Sun <i>et al.</i> , 2004
Doença de Parkinson	Kim <i>et al.</i> , 2018
Esclerose lateral amiotrófica	Paul & de Belleruche, 2014

HIV: vírus da imunodeficiência humana. Fonte: tabela preparada pelos autores.

As alterações da homeostase do  $\text{Ca}^{2+}$  nos neurônios é o mecanismo central na neurotoxicidade por aminoácidos excitatórios ou excitotoxicidade. Existem muitas evidências que sugerem que o aumento do cálcio citosólico é responsável pela degradação neuronal precoce e a posterior neurodegradação (Tehse & Taghibiglou, 2018). O acúmulo intracelular de cálcio tem sido atribuído ao influxo incrementado do cátion através dos iGluR-NMDA e, em menor proporção, aos outros receptores ionotrópicos, AMPA e KAIN (Frandsen & Schousboe, 1993; Lambuk *et al.*, 2019).

Muitos estudos têm falhado ao tentar estabelecer uma relação entre o excesso de  $\text{Ca}^{2+}$  e a superativação dos receptores pelo glutamato. Foram encontradas relações entre os níveis de cálcio livre intracelular e a neurotoxicidade (Albarra-cín & Lareo, 2005; Albarracín & Lareo, 2007).

A contribuição da neurotoxicidade para a fisiopatologia das doenças crônicas neurodegenerativas é cada vez mais aceita. Entretanto, não existem evidências contundentes de incrementos na concentração extracelular de glutamato. Têm sido feitas tentativas de explicar o desenvolvimento dessas patologias com base

na presença de outras excitotoxinas, tais como o ácido quinolínico ou o ácido homocisteico, ou a ausência de inibidores endógenos dos iGluR-NMDA. Porém, dessas teorias não têm sido obtidas demonstrações claras (Beal *et al.*, 1990).

Foi estabelecido, então, o termo excitotoxicidade débil ou lenta (Albin & Greenamyre, 1992), baseado no conceito de que algumas mudanças patológicas podem aumentar a vulnerabilidade de certas populações celulares às atividades do glutamato, ainda que na ausência de valores elevados do mesmo. As modificações genéticas (polimorfismos) nos genes das moléculas dos receptores que levam a mudanças conformacionais nas proteínas que as codificam e, como consequência, a mudanças em suas funções, poderiam ser os gatilhos reais dessas patologias. Existem muitas evidências de relações entre polimorfismo dos genes que codificam para as subunidades dos iGluR-NMDA e diversas dessas patologias neurodegenerativas, inclusive algumas neuropsiquiátricas, tais como a esquizofrenia e a depressão (Ragguett *et al.*, 2019; Farber, 2018; Errico *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2007; Villegas *et al.*, 2006).

Essas demonstrações permitem sugerir que a neurotoxicidade atribuída ao glutamato não se deve por si só a esse neurotransmissor. Mas devido a que sua função pode ser modificada da condição normal, por defeitos nos efetores biológicos, como receptores, transportadores e/ou enzimas. Isso leva a que os neurônios e astrócitos que dependem da atividade do glutamato diminuam (ou também modifiquem) sua atividade fisiológica.

## 18. PAPEL DO GLUTAMATO E SEUS RECEPTORES NA FORMAÇÃO DA CONSCIÊNCIA NEURAL

Sem dúvida, o ápice da evolução do sistema nervoso e a mais evidente e, por sua vez a mais complexa das funções cerebrais, é a consciência. Recentemente, foi proposto que o iGluR-NMDA e, conseqüentemente, seu ativador endógeno, o glutamato, são as moléculas chave para a formação da consciência. Essa proposta foi denominada de “Correlato Molecular da Consciência (CMC)” (Lareo & Corredor, 2004; Lareo, 2006; Lareo & Corredor, 2006). Os detalhes dessa proposta ultrapassam os limites deste capítulo, porém vale a pena ressaltar que é o glutamato, então, a molécula que não só cobre os aspectos essenciais da vida neuronal dos organismos superiores como também pode explicar a mais elevada capacidade humana: a consciência de ser consciente.

## 19. GLUTAMATO E GLUTAMATO MONOSSÓDICO

Até agora, neste capítulo, tem sido feita referência exclusiva às atividades do glutamato livre de origem natural que pode ser sintetizado em todas as células do sistema nervoso, em todos os seres vivos e de maneira abundante. Agora, serão realizadas considerações a respeito do glutamato produzido por processos biotecnológicos, graças à atividade de bactérias fermentadoras (o glutamato monossódico ou MSG), em particular quanto à possibilidade de efeitos neuronais adversos serem causados pelo MSG.

O MSG, como seu nome o indica, é um dos possíveis sais nos quais pode participar o ânion glutamato. Este, em pH fisiológico, ou seja, entre 6,8 e 7,4, se dissocia no ânion glutamato e no cátion  $\text{Na}^+$ . Nessas condições, o glutamato desempenha seu papel exatamente como quando é sintetizado pelas células a partir de diferentes intermediários metabólicos ou da hidrólise de proteínas. Consequentemente, seu metabolismo mais importante é realizado nas células entéricas (Albarracin *et al.*, 2016). Por conseguinte, não se espera que a concentração plasmática de glutamato seja aumentada após a absorção de nutrientes. Conforme discutido anteriormente, a barreira hematoencefálica é uma barreira natural eficiente ao glutamato presente na dieta, quer esteja naturalmente presente nos alimentos ou como aditivo alimentar na forma de MSG (Albarracin *et al.*, 2016). Não há evidência conclusiva de que o MSG se comporte de uma maneira diferente quimicamente e bioquimicamente; não teria nenhum sentido em fazê-lo. Bogdanov *et al.* (1996) demonstraram em ratos que, ainda em níveis de exposição de 2 g/kg p.c., não surgiram mudanças nos níveis de glutamato no núcleo arqueado, indicando que não há razão para prever um potencial neurotóxico a partir do consumo de MSG. Rutten *et al.* (2006), aumentando a ingestão de glutamato em idosos para níveis de 30 mg/kg p.c., a cada 20 minutos, na forma de bebidas, alcançaram aumentos significativos no plasma, assim como consequentes benefícios na qualidade de vida dos idosos, sem gerar nenhum efeito neurológico adverso.

## 20. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O atual nível de desenvolvimento do sistema nervoso tem sistemas de regulação extremamente finos para manter os níveis de glutamato nos patamares fisiológicos normais dentro do cérebro, seja mediante a barreira física e bioquímica chamada barreira hematoencefálica, seja através dos mecanismos de recaptura do glutamato do meio extracelular, mediante a regulação das funções

de seus receptores, ou pelo balanço da atividade de todas as enzimas envolvidas em seu metabolismo. As disfunções detectadas não se devem ao glutamato, nem mesmo a alterações das funções de algum dos mecanismos que o regulam. Adicionalmente, pelo menos no que se refere às fontes de ingestão de glutamato (naturalmente presente nos alimentos ou como aditivo alimentar), não existem razões químicas nem bioquímicas que permitam prever ações diferenciais para elas, nem existe evidência contundente na literatura científica séria de que isso ocorra em algum caso.

O glutamato, independentemente de sua origem, não é um dos aminoácidos nutricionalmente classificados como essenciais, já que temos mecanismos bioquímicos para sintetizá-lo, porém é essencial para a vida como a conhecemos e, em especial, para a função neuronal e cerebral em condições funcionais que promovam a saúde no sistema nervoso central.

## 21. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, N. J. “Blood-brain barrier structure and function and the challenges for CNS drug delivery”. *J Inherit Metab Dis.* 36(3): 437-449, 2013.

ALBARRACIN, S. L. *et al.* “L-glutamate: a key amino acid for sensory and metabolic functions”. *Arch Latinoam Nutr.* 66(2): 101-112, 2016.

ALBARRACÍN, S. L. & LAREO, L. R. “Modelo para simular la homeóstasis neuronal durante un influjo incrementado de calcio a través del canal asociado al receptor ionotrópico de glutamato activado por N-metil-D-aspartato”. *Universitas Scientiarum.* 10: 51-55, 2005.

ALBARRACÍN, S. L. & LAREO, L. R. “Modelo integrador para las rutas de señalización diferencial del receptor ionotrópico de glutamato activado por el N-metil-D-aspartato”. *Revista Ciencias de la Salud.* 5: 92-105, 2007.

ALBIN, R. L. & GREENAMYRE, J. T. “Alternative excitotoxic hypotheses”. *Neurology.* 42: 733-738, 1992.

ALVAREZ, V. A. & SABATINI, B. L. “Anatomical and physiological plasticity of dendritic spines”. *Annu Rev Neurosci.* 30: 79-97, 2007.

AMBROZIAK, W.; FOURIE, C. & MONTGOMERY, J. M. “SAP97-mediated rescue of NMDA receptor surface distribution in a neuronal model of Huntington’s disease”. *Hippocampus.* 28(10): 707-723, 2018.



- BEAL, M. F. *et al.* “Kynurenine pathway measurements in Huntington’s disease striatum: Evidence for reduced formation of kynurenic acid”. *J Neurochem.* 55: 1327-1339, 1990.
- BERL, S. “Compartmentation of glutamic acid metabolism in developing cerebral cortex”. *J Biol Chem.* 240: 2047-2054, 1965.
- BETTLER, B. *et al.* “Cloning of a novel glutamate receptor subunit, GluR5: expression in the nervous system during development”. *Neuron.* 5: 583-595, 1990.
- BILLARD, J. M. “Changes in serine racemase-dependent modulation of NMDA receptor: impact on physiological and pathological brain aging”. *Front Mol Biosci.* 5: 106, 2018.
- BLIIM, N. *et al.* “Early transcriptome changes in response to chemical long-term potentiation induced via activation of synaptic NMDA receptors in mouse hippocampal neurons”. *Genomics.* 111(6): 1676-1686, 2019.
- BOGDANOV, M. B.; TJURMINA, O. A. & WURTMAN, R. J. “Consumption of a high dietary dose of monosodium glutamate fails to affect extracellular glutamate levels in the hypothalamic arcuate nucleus of adult rats”. *Brain Res.* 736: 76-81, 1996.
- BORCZYK, M. *et al.* “Neuronal plasticity affects correlation between the size of dendritic spine and its postsynaptic density”. *Sci Rep.* 9(1): 1693, 2019.
- BRADFORD, H. F.; BENNETT, G. W. & THOMAS, A. J. “Depolarizing stimuli and the release of physiologically active amino acids from the suspensions of mammalian synaptosomes”. *J Neurochem.* 21: 495-505, 1973.
- BRIGUGLIO, M. *et al.* “Dietary neurotransmitters: A narrative review on current knowledge”. *Nutrients.* 10(5): 591, 2018.
- BURKI, F. & KAESSMANN, H. “Birth and adaptive evolution of a hominoid gene that supports high neurotransmitter flux”. *Nature Genet.* 36: 1061-1063, 2004.
- CHOWDHURY, G. M. *et al.* “Glutamatergic and GABAergic neurotransmitter cycling and energy metabolism in rat cerebral cortex during postnatal development”. *J Cereb Blood Flow Metab.* 27(12): 1895-1907, 2007.
- CHRISTENSEN, H.; FYKSE, E. M. & FONNUM, F. “Uptake of glycine into synaptic vesicles isolated from rat spinal cord”. *J Neurochem.* 54: 1142-1147, 1990.

CIABARRA, A. M. *et al.* “Cloning and characterization of chi-1: A new developmentally regulated member of a novel class of the ionotropic glutamate receptor family”. *J Neurosci.* 15: 6498-6508, 1995.

CLINTON, S. M. & MEADOR-WOODRUFF, J. H. “Abnormalities of the NMDA receptor and associated intracellular molecules in the thalamus in schizophrenia and bipolar disorder”. *Neuropsychopharmacology.* 29: 1353-1362, 2004.

CURTIS, D. R. & JOHNSTON, A. R. “Amino acid transmitters in the mammalian central nervous system”. *Ergeb Physiol.* 69: 97-188, 1974.

CURTIS, D. R. & WATKINS, J. C. “The excitation and depression of spinal neurons by structurally related amino acids”. *J Neurochem.* 6: 117-141, 1960.

DALE, H. H.; FELDBERG, W. & VOGT, M. “Release of acetylcholine at voluntary motor nerve ending”. *J Physiol.* 86: 353-380, 1936.

DUAN, S. *et al.* “P2X7 receptor-mediated release of excitatory amino acids from astrocytes”. *J Neurosci.* 23(4): 1320-1328, 2003.

DUGGAN, A. W. “The differential sensitivity to L-glutamate and L-aspartate of spinal interneurons and Renshaw cells”. *Exp Brain Res.* 19(5): 522-528, 1974.

ERREGGER, K. *et al.* “Subunitspecific gating controls rat NR1/NR2A and NR1/NR2B NMDA channel kinetics and synaptic signalling profiles”. *J Physiol.* 563: 345-358, 2005.

ERRICO, F. *et al.* “The emerging role of altered D-aspartate metabolism in schizophrenia: new insights from preclinical models and human studies”. *Front Psychiatry.* 9: 559, 2018.

ESCOBAR, M. L. & BERMÚDEZ-RATTONI, F. “Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention”. *Brain Res.* 852: 208-212, 2000.

EVANS, C. E. *et al.* “Selective reduction of APP-BACE1 activity improves memory via NMDA-NR2B receptor-mediated mechanisms in aged PDAPP mice”. *Neurobiol Aging.* 75: 136-149, 2019.

EYIGOR, O.; MINBAY, Z. & KAFA, I. M. “Glutamate and orexin neurons”. *Vitam Horm.* 89: 209-222, 2012.

- FARBER, N. B. "NMDA Antagonists for treatment-resistant depression". *Handb Exp Pharmacol.* 250: 287-305, 2018.
- FERRAGUTI, F. & SHIGEMOTO, R. "Metabotropic glutamate receptors". *Cell Tissue Res.* 326(2): 483-504, 2006.
- FLORES-SOTO, M. E. *et al.* "Structure and function of NMDA-type glutamate receptor subunits". *Neurologia.* 27: 301-310, 2012.
- FONNUM, F. "Determination of transmitter amino acid turnover". *Neuromethods.* 3: 201-209, 1985.
- FRANDBSEN, A. & SCHOUSBOE, A. "Excitatory amino acid-mediated cytotoxicity and calcium homeostasis in cultured neurons". *J Cereb Blood Flow Metab.* 12: 638-645, 1993.
- FULLER, R. W. "Pharmacology of brain epinephrine neurons". *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 22: 31-55, 1982.
- GAFFORD, G. M. & RESSLER, K. J. "GABA and NMDA receptors in CRF neurons have opposing effects in fear acquisition and anxiety in central amygdala vs. bed nucleus of the stria terminalis". *Horm Behav.* 76: 136-142, 2015.
- GASIC, G. P. & HEINEMANN, S. "Receptors coupled to ionic channels: the glutamate receptor family". *Curr Opin Neurobiol.* 1: 20-26, 1991.
- HAMBERGER, A. & NYSTROÖM, B. "Extra- and intracellular amino acids in the hippocampus during development of hepatic encephalopathy". *Neurochem. Res.* 9: 1181-1192, 1984.
- HAWKINS, R. A. *et al.* "Structure of the blood-brain barrier and its role in the transport of amino acids". *J Nutr.* 136: 218S-226S, 2006.
- HAYASHI, T. *Chemical physiology of excitation in muscle and nerve.* Tokyo, Nakayama-Shoten, 1956.
- HILL, A. V. "The mode of action of nicotine and curare determined by the form of the concentration curve and the method of temperature coefficients". *J Physiol.* 39: 361-373, 1909.
- HONER, M. *et al.* "Differentiation of glycine antagonist sites of N-methyl-D-aspartate receptor subtypes". *J Biol Chem.* 273: 11158-11163, 1998.

ISHII, T. *et al.* “Molecular characterization of the family of the N-methyl-D-aspartate receptor subunits”. *J Biol Chem.* 268: 2836-2843, 1993.

JÉZÉQUEL, J. *et al.* “Pathogenicity of antibodies against NMDA receptor: Molecular insights into autoimmune psychosis”. *Trends Neurosci.* 41(8): 502-511, 2018.

JOHNSTON, G. A. R. *et al.* “Central actions of ibotenic acid and muscimol”. *Biochem Pharmacol.* 17: 2488-2489, 1968.

JOURDAIN, P. *et al.* “Dual action of L-Lactate on the activity of NR2B-containing NMDA receptors: from potentiation to neuroprotection”. *Sci Rep.* 8: 13472, 2018.

KARAKAS, E. & FURUKAWA, H. “Crystal structure of a heteromeric NMDA receptor ion channel”. *Science.* 344: 992-997, 2014.

KASHIWAGI, K. *et al.* “Block and modulation of N-methyl-D-aspartate receptors by polyamines and protons: Role of amino acid residues in the transmembrane and pore-forming regions of NR1 and NR2 subunits”. *Mol Pharm.* 52: 701-713, 1997.

KIM, I. Y. *et al.* “Interaction between caffeine and polymorphisms of glutamate ionotropic NMDA type subunit 2A (GRIN2A) and cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) on Parkinson’s disease risk”. *Mov Disord.* 33(3): 414-420, 2018.

KIMELBERG, H. K. *et al.* “Swelling-induced release of glutamate, aspartate, and taurine from astrocyte cultures”. *J Neurosci.* 10: 1583-1591, 1990.

KINOSHITA, A. *et al.* “Presynaptic localization of a metabotropic glutamate receptor, mGluR8, in the rhinencephalic areas: a light and electron microscope study in the rat”. *Neurosci Lett.* 207: 61-64, 1996.

KRAVITZ, E. A. “Acetylcholine, g-aminobutyric acid, and glutamic acid: Physiological and chemical studies related to their roles as neurotransmitter agents”. In: QUARTON, G. C.; MELNECHUK, T. & SCHMITT, F. O. (ed.). *The neurosciences: a study program.* New York, The Rockefeller University Press, 1967, pp. 433-444.

KREFT, M. *et al.* “Properties of Ca(2+)-dependent exocytosis in cultured astrocytes”. *Glia.* 46(4): 437-445, 2004.

- LACOPUCCI, A. P. *et al.* “L-NOARG-induced catalepsy can be influenced by glutamatergic neurotransmission mediated by NMDA receptors in the inferior colliculus”. *Behav Brain Res.* 234(2): 149-154, 2012.
- LAMBUK, L. *et al.* “Antiapoptotic effect of taurine against NMDA-induced retinal excitotoxicity in rats”. *Neurotoxicology.* 70: 62-71, 2019.
- LANGLEY, J. N. “On the reactions of cells and nerve-endings to certain poisons, chiefly as regards the reaction of striated muscle to nicotine and curare”. *J Physiol.* 33: 374-413, 1905.
- LAREO, L. R. & CORREDOR, C. “Ionotropic glutamate receptor activated by N-methyl-D-aspartate: a key molecule of conscious life”. *Med Hypotheses.* 63(2): 245-249, 2004.
- LAREO, L. R. & CORREDOR, C. “Molecular Correlate of Consciousness”. In: TURRINI, S. K. (ed.). *Consciousness and learning research.* New York, Nova Pubs, 2006, p. 97.
- LAREO, L. R. “El receptor ionotrópico de glutamato activado por N-metil-D-aspartato, molécula clave de la conciencia”. *Universitas Scientiarum.* 11: 13-33, 2006.
- LEE, C. H. *et al.* “NMDA receptor structures reveal subunit arrangement and pore architecture”. *Nature.* 511: 191-197, 2014.
- LEE, K. Y. *et al.* “NMDA receptors offer more than one functionality”. *Anesth. Analg.* 96: 1533-1534, 2003.
- LEE, W. J. *et al.* “Glutamine transport by the blood-brain barrier: a possible mechanism for nitrogen removal”. *Am J Physiol.* 274(4): C1101-C1107, 1998.
- LENT, R. *et al.* “How many neurons do you have? Some dogmas of quantitative neuroscience under revision”. *Eur J Neurosci.* 35: 1-9, 2012.
- LIU, M. *et al.* “An association study between GRIN1, BDNF genes and bipolar disorder”. *Yi Chuan.* 29(1): 41-46, 2007.
- LUCAS, D. R. & NEWHOUSE, J. P. “The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina”. *Arch Ophthalmol.* 58: 193-214, 1957.
- MARWICK, K. F. M. *et al.* “Functional assessment of triheteromeric NMDA receptors containing a human variant associated with epilepsy”. *J Physiol.* 597(6): 1691-1704, 2019.

- MAYORQUIN, L. C. *et al.* “Connexin-mediated functional and metabolic coupling between astrocytes and neurons”. *Front Mol Neurosci.* 11: 118, 2018.
- MCBAIN, C. J. & MAYER, M. L. “N-Methyl-D-Aspartic acid receptor structure and function”. *Physiol Rev.* 74: 723-760, 1994.
- MCBEAN, G. J. “Cerebral cystine uptake: a tale of two transporters”. *Trends Pharmacol Sci.* 23(7): 299-302, 2002.
- MEDEIROS, P. *et al.* “Glutamatergic neurotransmission in the inferior colliculus influences intrastriatal haloperidol-induced catalepsy”. *Behav Brain Res.* 268: 8-13. 2014.
- MONGIN, A. A. & ORLOV, S. N. “Mechanisms of cell volume regulation and possible nature of the cell volume sensor”. *Pathophysiology.* 8: 77-88, 2001.
- MORIYAMA, Y. & YAMAMOTO, A. “Vesicular L-glutamate transporter in microvesicles from bovine pineal glands”. *J Biol Chem.* 270(38): 22314-22320, 1995.
- NAKANISHI, S. “Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function”. *Science.* 258(5082): 597-603, 1992.
- NAKAZAWA, K. *et al.* “NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory”. *Nat Rev Neurosci.* 5(5): 361-372, 2004.
- NIMCHINSKY, E. A.; SABATINI, B. L. & SVOBODA, K. “Structure and function of dendritic spines”. *Annu Rev Physiol.* 64: 313-353, 2002.
- NORENBERG, M. D. “Distribution of glutamine synthetase in the rat central nervous system”. *J Histochem Cytochem.* 27: 756-762, 1979.
- NORTH, R. A. “Molecular physiology of P2X receptors”. *Physiol Rev.* 82: 1013-1067, 2002.
- OMOTE, H. *et al.* “Vesicular neurotransmitter transporter: bioenergetics and regulation of glutamate transport”. *Biochemistry.* 50: 5558-5565, 2011.
- O’RIORDAN, K. J.; HU, N. W. & ROWAN, M. J. “Physiological activation of mGlu5 receptors supports the ion channel function of NMDA receptors in hippocampal LTD induction in vivo”. *Sci Rep.* 8: 4391, 2018.
- PALAZZO, E. *et al.* “Metabotropic glutamate receptor 7: From synaptic function to therapeutic implications”. *Curr Neuropharmacol.* 14(5): 504-513, 2016.

- PARPURA, V. *et al.* “Glutamate-mediated astrocyte-neuron signaling”. *Nature*. 369: 744-747, 1994.
- PAUL, P. & DE BELLEROCHE, J. “The role of D-serine and glycine as co-agonists of NMDA receptors in motor neuron degeneration and amyotrophic lateral sclerosis (ALS)”. *Front Synaptic Neurosci*. 6: 10, 2014.
- PEYROVIAN, B. *et al.* “The glycine site of NMDA receptors: A target for cognitive enhancement in psychiatric disorders”. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 92: 387-404, 2019.
- PINES, G. *et al.* “Cloning and expression of a rat brain L-glutamate transporter”. *Nature*. 360: 464-467, 1992.
- PLÁTENÍK, J.; KURAMOTO, N. & YONEDA, Y. “Molecular mechanisms associated with long-term consolidation of the NMDA signals”. *Life Sci*. 67: 335-364, 2000.
- PRICE, M. T. *et al.* “Uptake of exogenous aspartate into circumventricular organs but not other regions of adult mouse brain”. *J Neurochem*. 42: 740-744, 1984.
- RAGGUETT, R. M. *et al.* “Rapastinel - an investigational NMDA-R modulator for major depressive disorder: evidence to date”. *Expert Opin Investig Drugs*. 28(2): 113-119, 2019.
- RENGACHARY, S. S. & ELLENBOGEN, R. G. (ed.). *Principles of neurosurgery*. Edinburgh, Elsevier Mosby, 2005.
- ROSENMUND, C.; STERN-BACH, Y. & STEVENS, C. F. “The tetrameric structure of a glutamate receptor channel”. *Science*. 280: 1596-1599, 1998.
- ROTHER, F.; BROSZ, M. & STORM-MATHISEN, J. “Quantitative ultrastructural localization of glutamate deshydrogenase in rat cerebellar cortex”. *Neuroscience*. 64: 1133-1146, 1994.
- RUTTEN, E. P. A. *et al.* “Effect of glutamate ingestion on whole-body glutamate turnover in healthy elderly and patients with chronic obstructive pulmonary disease”. *Nutrition*. 22: 496-503, 2006.
- SASAKI, T.; MATSUI, S. & KITAMURA, T. “Control of appetite and food preference by NMDA receptor and its co-agonist d-serine”. *Int J Mol Sci*. 17(7): 1081, 2016.

- SCHÜLER, T. *et al.* “Formation of NR1/NR2 and NR1/NR3 heterodimers constitutes the initial step in N-methyl-D-aspartate receptor assembly”. *J Biol Chem.* 283: 37-46, 2008.
- SEEBURG, P. H. “The TiPS/TINS lecture: the molecular biology of mammalian glutamate receptor channels”. *Trends Pharmacol Sci.* 14: 297-303, 1993.
- SELF, R. L. *et al.* “The human immunodeficiency virus type-1 transcription factor Tat produces elevations in intracellular Ca<sup>2+</sup> that require function of an N-methyl-D-aspartate receptor polyamine-sensitive site”. *Brain Res.* 995: 39-45, 2004.
- SHARIF, Y. *et al.* “Blood brain barrier: A review of its anatomy and physiology in health and disease”. *Clin Anat.* 31(6): 812-823, 2018.
- SOBOLEVSKY, A. I.; ROSCONI, M. P. & GOUAUX, E. “X-ray structure, symmetry and mechanism of an AMPA-subtype glutamate receptor”. *Nature.* 462: 745-756, 2009.
- SONG, Q. *et al.* “NMDA receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> influx in the absence of Mg<sup>2+</sup> block disrupts rest: activity rhythms in drosophila”. *Sleep.* 40(12), 2017.
- SONNEWALD, U. & SCHOUSBOE, A. “Introduction to the glutamate-glutamine cycle”. *Adv Neurobiol.* 13:1-7, 2016.
- STILES, J. & JERNIGAN, T. L. “The basics of brain development”. *Neuropsychol Rev.* 20(4): 327-348, 2010.
- STORCK, T. *et al.* “Structure, expression and functional analysis of Na<sup>+</sup>-dependent glutamate/aspartate transporter from rat brain”. *Proc Natl Acad Sci.* 89: 10955-10959, 1992.
- SUCHANEK, B.; SEEBURG, P. H. & SPRENGEL, R. “Gene structure of the murine N-methyl D-aspartate receptor subunit NR2C”. *J Biol Chem.* 270: 41-44, 1995.
- SÜDHOF, T. C. “Towards an Understanding of Synapse Formation”. *Neuron.* 100(2): 276-293, 2018.
- SUN, R. Q. *et al.* “Suppression of neuropathic pain by peripheral electrical stimulation in rats: mu-opioid receptor and NMDA receptor implicated”. *Exp Neurol.* 187: 23-29, 2004.



- TABISH, M. & TICKU, M. K. "Alternate splice variants of mouse NR2B gene". *Neurochem Int.* 44: 339-343, 2004.
- TANABE, Y. *et al.* "A family of metabotropic glutamate receptors". *Neuron.* 8: 169-179, 1992.
- TANG, Y-P. *et al.* "Genetic enhancement of learning and memory in mice". *Nature.* 401: 63-69, 1999.
- TASKER, J. G. *et al.* "Glial regulation of neuronal function: from synapse to systems physiology". *J Neuroendocrinol.* 24: 566-576, 2012.
- TEHSE, J. & TAGHIBIGLOU, C. "The overlooked aspect of excitotoxicity: Glutamate-independent excitotoxicity in traumatic brain injuries". *Eur J Neurosci.* 49(9): 1157-1170, 2018.
- TERUNUMA, M. "Diversity of structure and function of GABAB receptors: a complexity of GABAB-mediated signaling". *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 94(10): 390-411, 2018.
- THOMSEN, C. *et al.* "L-2-amino-4-phosphonobutyrate (L-AP4) is an agonist at the type IV metabotropic glutamate receptor which is negatively coupled to adenylate cyclase". *Eur J Pharmacol.* 227: 361-362, 1992.
- VILLEGAS, V. E.; ZARANTE, I. & LAREO, L. R. "Estudio preliminar de los polimorfismos del gen GRIN-1 del receptor NMDA en una población sana colombiana". *Universitas Scientiarum.* 11: 49-21, 2006.
- WALTEREIT, R. & WELLER, M. "Signaling from cAMP/PKA to MAPK and synaptic plasticity". *Mol Neurobiol.* 27: 99-106, 2003.
- WANG, H. *et al.* "Protective role of NMDAR for microwave-induced synaptic plasticity injuries in primary hippocampal neurons". *Cell Physiol Biochem.* 51(1): 97-112, 2018.
- WANG, J. Q.; FIBUCH, E. E. & MAO, L. "Regulation of mitogen-activated protein kinases by glutamate receptors". *J Neurochem.* 100: 1-11, 2007.
- WANG, R. & REDDY, P. H. "Role of glutamate and NMDA receptors in Alzheimer's disease". *J Alzheimers Dis.* 57(4): 1041-1048, 2017.

WARR, O.; TAKAHASHI, M. & ATTWELL, D. “Modulation of extracellular glutamate concentration in rat brain slices by cystine–glutamate exchange”. *J Physiol*. 514: 783-793, 1999.

WASHBOURNE, P.; BENNETT, J. E. & MCALLISTER, A. K. “Rapid recruitment of NMDA receptor transport packets to nascent synapses”. *Nat Neurosci*. 5: 751-759, 2002.

WATKINS, J. C. “The synthesis of some acidic amino acids possessing neuropharmacological activity”. *J Med Pharm Chem*. 5: 1187-1199, 1962.

WATKINS, J. C.; CURTIS, D. R. & BISCOE, T. J. “Central effects of beta-N-oxalyl-alpha, beta-diaminopropionic acid and other lathyrus factors”. *Nature*. 211(5049): 637, 1966.

WEIL-MALEHERBE, H. “Significance of glutamic acid for the metabolism of the nervous tissue”. *Physiol Rev*. 30: 549-545, 1950.

YANG, J. *et al.* “Lactate promotes plasticity gene expression by potentiating NMDA signaling in neurons”. *PNAS*. 111(33): 12228-12233, 2014.

YUAN, S. & BURRELL, B. D. “Interaction between NMDA receptor- and endocannabinoid-mediated modulation of nociceptive synapses”. *Sci Rep*. 9(1): 1373, 2019.

YUDKOFF, M. *et al.* “Brain glutamate metabolism: neuronal-astroglial relationships”. *Dev Neurosci*. 15: 343-350, 1993.

ZENI, L. A. *et al.* “Glutamatergic control of food intake in pigeons: effects of central injections of glutamate, NMDA, and AMPA receptor agonists and antagonists”. *Pharmacol Biochem Behav*. 65: 67-74, 2000.

ZOREC, R. *et al.* “Astrocytic vesicles and gliotransmitters: Slowness of vesicular release and synaptobrevin2-laden vesicle nanoarchitecture”. *Neuroscience*. 323: 67-75. 2016.