

PLASTICIDAD NEURAL Y SU RELACIÓN CON EL SISTEMA DE TRANSPORTADORES DE GLUTAMATO

Adriana Medina M.*
Martha Isabel Escobar B.**

Resumen

El sistema nervioso central posee una notable capacidad para modificar su función y, hasta cierto punto, su estructura anatómica en respuesta a la actividad, a los estímulos ambientales o a los daños. La plasticidad es un proceso constante, el cual puede ser observado a diferentes zonas: sináptica, estructural y de organización de mapas neuronales. Desde hace varios años se ha reconocido el papel fundamental del principal neurotransmisor excitatorio del sistema nervioso central, el ácido glutámico, y de sus receptores en la aparición de cambios plásticos neuronales. Sin embargo, sólo en los últimos años se ha considerado la función de las moléculas transportadoras de glutamato en los fenómenos de plasticidad, tanto en la regulación de la función neuronal normal como en eventos patológicos. Este artículo revisa los principales aspectos de la plasticidad y su relación con el transporte de glutamato.

Palabras clave: GLT1, plasticidad, glutamato, proteínas atrapadoras de calcio.

Title: Neuronal Plasticity and its Relationship with the Glutamate Transporter System

Abstract

The central nervous system displays a notorious ability to modify its function and to a certain extent its anatomical structure in response to activity, environmental stimuli or injury. Plasticity is a constant process and it can be observed at different levels: synaptic, structural and in neuronal map organization. The fundamental role of the excitatory neurotransmitter glutamate and its receptors in plasticity has been recognized for a long time. However, the role of glutamate transporters and their relationship to plastic phenomena have been considered only in the last few years. This article reviews the main aspects of plasticity and its relation to glutamate transport.

Key words: *GLT1, plasticity, glutamate, calcium binding proteins.*

* Médica, candidata a Ph. D. en Ciencias Básicas Médicas, Centro de Estudios Cerebrales, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali.

** Bióloga, magister en Ciencias Biomédicas, profesora titular de la Universidad del Valle, investigadora del Centro de Estudios Cerebrales, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali.

Introducción

La plasticidad se considera como la capacidad de cambio presente en las células del sistema nervioso central (SNC). La posibilidad de cambios temporales o permanentes en el SNC fue planteada desde el siglo XIX por James, quien asumió que “una conducta o hábito nuevo no es otra cosa que una nueva vía de descarga o de actividad en el cerebro [...] el tejido nervioso parece estar provisto de una extraordinaria capacidad plástica”. En *The Principles of Psychology* (1), James compila sus opiniones y las de otros autores sobre la existencia de un sustrato anatómico modificable que permite la existencia de los diferentes fenómenos de memoria: “... lo que sucede en el tejido nervioso es un ejemplo de plasticidad o de *semiinercia*, lo cual lleva a un cambio, el cual no es absoluto o inmediato, pero que tampoco se revierte nunca completamente...”. Esta visión ha sido demostrada mediante los diferentes métodos de estudio disponibles actualmente en neurobiología, de manera que el concepto de plasticidad es un pilar fundamental en la comprensión de la función neurológica normal y de las patologías neurodegenerativas agudas y crónicas.

Una aproximación que facilita la comprensión de las diferentes escalas de observación de los fenómenos de plasticidad es la división de ésta en plasticidad sináptica y plasticidad

estructural (2), considerando los eventos sinápticos como la base de los cambios estructurales.

Plasticidad cortical

Es un hecho conocido que las áreas corticales sensoriales primarias, como áreas visuales, auditivas o somatosensoriales, presentan una organización topográfica que permite la generación de mapas retinotópicos, tonotópicos somatotópicos, entre los cuales probablemente el más conocido es el homúnculo sensitivo. Los experimentos con lesiones puntuales de las aferencias periféricas han demostrado la capacidad de reorganización que existe en estos mapas corticales. Por ejemplo, la lesión del nervio mediano en primates inicia un proceso de reorganización de la representación de los dedos de la mano en el área 3b (área somatosensorial primaria), de manera que inicialmente hay registro de áreas silentes correspondientes a la representación de la región palmar del primero y segundo dedos. Tres semanas después no se registran áreas silentes, ya que las áreas vacantes son ocupadas por la representación del tercer dedo y la región dorsal del primero y segundo dedos (2).

La reorganización a menor escala de mapas corticales puede ser también un proceso dinámico de corta duración, útil para adaptar la función neuronal a las necesidades del mo-

mento. Los estudios de mapas computacionales han demostrado cómo los estímulos procedentes del mundo exterior adquieren representaciones topográficas neuronales. En animales nocturnos, por ejemplo, la necesidad de crear mapas espaciales basados en la percepción de sonidos se resuelve mediante el reclutamiento de sinapsis tanto por mecanismos de LTP (*Long Term Potentiation*) asociativa hebbiana como por propagación retrógrada axonal de la señal a lo largo de la neurona presináptica, que crea procesos de reorganización eficientes y adaptados a la necesidad del instante (3). Esto permite también la adquisición de habilidades que no cuentan con una predisposición genética ni tienen áreas específicas asociadas a la función, y que deben adquirirse por entrenamiento continuo, como la habilidad para jugar ajedrez. Los análisis de pacientes con lesiones neurológicas puntuales muestran la pérdida de capacidades como el reconocimiento musical sin perder la función auditiva, o la incapacidad de escribir en letra cursiva sin perder la capacidad de escribir en imprenta. Asimismo, la capacidad de reconocer letras no está topográficamente relacionada con el reconocimiento de dígitos. Esto sugiere que las habilidades adquiridas no indispensables para la supervivencia crean adaptaciones corticales específicas, basadas en el sustrato neuronal existente, por ejemplo, la adaptación de las áreas visuales a la

percepción de letras, la cual en algún punto pasa de la adaptación visual a la comprensión, una función propia de áreas de mayor jerarquía cortical.

Al partir del principio de que las neuronas en general son estructuras flexibles y adaptables, en el sistema nervioso existen múltiples ejemplos de cambios en respuesta al aprendizaje o a la lesión por diferentes sistemas de neuronas, monoaminérgicas, gabérgicas, colinérgicas. En el presente artículo señalaremos algunos hallazgos morfológicos y neuroquímicos que involucran al sistema glutamatérgico en fenómenos de plasticidad. Hemos escogido este sistema luego de considerar que los circuitos cortico-corticales glutamatérgicos son los más abundantes del sistema nervioso, ya que juegan un papel fundamental en la actividad neocortical y límbica y se les involucra en las funciones emocionales, cognitiva y motora.

Plasticidad sináptica

Los cambios plásticos son una constante en el SNC, y la inducción de estas modificaciones continuas del tejido neuronal es una función atribuida a los diferentes sistemas de neurotransmisores, especialmente al neurotransmisor amino acídico glutamato, el cual, al igual que otros sistemas de neurotransmisión, tie-

ne la capacidad de generar estímulos celulares que permanecen después de cesar el estímulo sináptico (4). Las sinapsis glutamatérgicas están constituidas por los elementos fundamentales de una sinapsis química (3),(5), a saber:

- La terminal presináptica, la cual contiene las vesículas llenas del neurotransmisor glutamato y una maquinaria de canales iónicos y proteínas que permiten el ensamblaje de la vesícula con la membrana presináptica para su exocitosis, la cual se activa con el ingreso de calcio a la terminal.
- La hendidura sináptica, un espacio de aproximadamente 200 Armstrong, formado por una matriz o glicocálix, por el cual se difunde el neurotransmisor.
- El componente postsináptico incluye la membrana celular postsináptica y la densidad postsináptica. La membrana contiene los receptores específicos y algunos transportadores para el neurotransmisor. Los receptores se encuentran asociados directamente con las numerosas proteínas que componen la densidad postsináptica, de manera que el efecto de la activación del receptor se transmite rápidamente al compartimiento intracelular y genera cambios en la actividad celular a corto y a mediano plazo.
- La envoltura glial está dada por los pies de los astrocitos que rodean la sinapsis, que la convier-

ten en un microcompartimiento aislado y que favorecen así la homeostasis del proceso de neurotransmisión. La envoltura glial mantiene el equilibrio sináptico mediante la regulación de los gradientes iónicos, del pH y de la recaptura de neurotransmisores, lo cual limita la actividad del neurotransmisor a un espacio muy corto de tiempo, que evita los procesos de toxicidad neuronal. En el caso del glutamato, las células gliales se encargan del 95% de la recaptura del neurotransmisor liberado en la hendidura mediante la expresión de transportadores gliales como el EAAT2. La función de estos transportadores y su papel en la plasticidad se discutirá más adelante.

Las sinapsis glutamatérgicas se caracterizan por la capacidad de cambiar el ritmo de su actividad, de manera que ante determinados estímulos, estas sinapsis responden de manera prolongada en el tiempo, un fenómeno denominado potenciación a largo plazo o LTP, así como el fenómeno contrario, la depresión a largo plazo o LTD (*Long Term Depresión*). Estos fenómenos se han documentado ampliamente en zonas de alta plasticidad, como el hipocampo, y en otras áreas de la corteza cerebral y del SNC (6).

La potenciación a largo plazo implica un proceso de activación simultánea o casi simultánea de las neu-

ronas pre y postsinápticas, de manera que exista una retroalimentación entre ambas, que aumente así el efecto producido por un impulso nervioso. Este fenómeno se conoce también como plasticidad asociativa o regla hebbiana (7), una forma de función neuronal planteada por Hebb, en 1949, que requiere la presencia de un 'sensor' del acoplamiento neuronal. Se propone que el receptor de glutamato del tipo NMDA sea ese censor (8), probablemente por su capacidad de inducir mensajeros retrógrados (como el óxido nítrico, prostaglandinas, adenosina), es decir, moléculas producidas en la neurona postsináptica capaces de difundirse hacia la neurona presináptica modificando su patrón de actividad. La relación directa entre la función de los receptores NMDA y el desempeño en funciones de memoria en seres humanos se ha comprobado mediante paradigmas de discriminación de palabras en sujetos tratados con el bloqueador de NMDA, ketamina. En estos sujetos se realizó la medición de potenciales relacionados con eventos (ERP), y se observó que después del uso de ketamina había una disminución de la amplitud de los potenciales generados por presentación o repetición de palabras, así como una disminución significativa de la capacidad para recordarlas (9).

El fenómeno de potenciación a largo plazo se ha considerado principalmente como propio de las sinap-

sis entre neuronas glutamatérgicas y relacionado directamente con los receptores del tipo NMDA. Sin embargo, algunos autores han descrito la presencia de LTP en grupos específicos de neuronas gabérgicas, como son las interneuronas del estrato *oriens* en el hipocampo (6). Se ha planteado un mecanismo diferente para la generación de LTP en este caso. En estas células se ha mencionado una poca expresión de algunas de las proteínas relacionadas con la función de LTP inducida por receptores NMDA, como son la calcio-calmodulina cinasa II y la calcineurina, por lo que una vez se confirmó la presencia de LTP en estas neuronas se buscaron alternativas moleculares para explicarlo. Se descubrió entonces que la potenciación a largo plazo en interneuronas gabérgicas requiere la presencia de receptores para glutamato del tipo mGluR 1, un subtipo de receptor metabotrófico que si bien no es un canal iónico, es capaz de generar incrementos del calcio intracelular mediante la liberación de los depósitos del retículo endoplásmico (6).

La LTD de las sinapsis excitatorias puede dividirse en varias categorías: la LTD homosináptica, en la cual la actividad de la sinapsis en cuestión es suficiente para la inducción de la depresión, y la LTD heterosináptica, con la cual la activación de una sinapsis diferente induce la depresión de una vía que se encuentra inactiva (2).

Plasticidad estructural

Se ha demostrado que la presencia de receptores del tipo AMPA y NMDA se relaciona con cambios en la estructura de las dendritas, específicamente la aparición o desaparición de espinas, un proceso que ocurre en lapsos inferiores a dos segundos. Los estudios dinámicos de la sinapsis muestran una influencia directa en la neoformación o desaparición de espinas de los receptores para glutamato del tipo NMDA y AMPA.

El proceso de plasticidad dendrítica en el adulto se relaciona, además, con la abundante concentración de actina, una proteína del citoesqueleto presente en las espinas postsinápticas, que posee una gran capacidad de polimerización y que puede inducir cambios rápidos en la forma de las espinas y convertirse en uno de los principales mediadores entre el proceso de neurotransmisión y la plasticidad anatómica (10),(11).

La relación de la actina con los receptores ionotróficos del tipo NMDA está mediada por la proteína actinina 2, la cual en estado de reposo se encuentra unida tanto a la actina como al receptor. Cuando el receptor es activado por el glutamato para permitir la entrada de calcio al interior de la espina, se induce la polimerización de la actina, lo cual modifica la forma del citoesqueleto y, por lo tanto, de la espina. Asimismo, la unión del calcio con la acti-

nina 2, así como la intervención de otra proteína activada por calcio, la calmodulina, restringe el tiempo de actividad del receptor NMDA, de manera que la actividad sea limitada y se evite el daño celular excitotóxico. Los receptores AMPA también tienen una relación cercana con la actina a través de las proteínas denominadas SAP97 y neu-rabina —la estimulación de este tipo de receptores parece ser necesaria y suficiente para el mantenimiento de las espinas dendríticas—.

Los cambios de las espinas dendríticas se han relacionado con las modificaciones a largo plazo en los circuitos neuronales (12). Se ha demostrado que las espinas tienden a desaparecer cuando los axones que las inervan son removidos, como ocurre en caso de lesiones, por ejemplo, en traumatismos, en isquemia y en procesos neurodegenerativos. Las espinas emergen nuevamente cuando los axones intactos de las zonas adyacentes invaden el espacio disponible y crean contactos anormales, lo que puede traducirse en alteraciones permanentes de los circuitos (11).

Las adaptaciones no se limitan a los contactos sinápticos. Existen otras que pueden aparecer como consecuencia de lesiones y que persisten por períodos prolongados, que involucran al citoesqueleto, a las proteínas atraparoras de calcio y a los transportadores para aminoácidos excitatorios. Estos cambios no se

restringen a las neuronas, sino que pueden observarse en las células gliales, especialmente en los astrocitos. En el Centro de Estudios Cerebrales de la Universidad del Valle se han documentado alteraciones a largo plazo de las funciones neuronal y glial en un modelo de isquemia focal. En los sujetos experimentales se demostró un aumento de la expresión inmunohistoquímica de la proteína atrapadora de calcio parvalbúmina en las interneuronas de la corteza cerebral del hemisferio opuesto al foco isquémico, así como una disminución de la expresión de la proteína glial fibrilar GFAP en ese mismo sector cortical (13), (14),(15).

Estos cambios comienzan en los primeros días después de la inducción de la isquemia y persisten por períodos crónicos, aun tres semanas después de la lesión. Los resultados sugieren un nuevo estadio funcional de las interneuronas gabérgicas y de las células gliales como resultado de la isquemia en el hemisferio contralateral. Dado que la comunicación entre la corteza cerebral de ambos hemisferios se realiza a través de los axones de neuronas piramidales glutamatérgicas que forman el cuerpo calloso, los efectos podrían estar mediados por el desbalance en la actividad glutamato-gaba. Los cambios celulares que aparecen en las regiones distantes al foco de la lesión pueden ser consideradas como una forma de plasticidad, aunque el significado

funcional no es aún conocido, por lo que no pueden ser catalogados como benéficos o perjudiciales.

Plasticidad y transporte de glutamato

Previamente se había mencionado la importancia de la recaptura de glutamato por las células gliales como pilar para la homeostasis de este sistema. El proceso de extracción del glutamato del espacio sináptico es llevado a cabo por una familia de proteínas denominadas EAAT (por *excitatory aminoacid transporters*), de la cual han sido descritos cinco miembros: EAAT1 (también denominado GLAST), EAAT2 (GLT1), EAAT3 (EAAC1), EAAT4 y EAAT5 (16),(17). En la corteza cerebral el mayor volumen de glutamato es recapturado por el transportador EAAT2 (GLT1), por lo cual se considera que la expresión y función de esta molécula es fundamental para mantener el equilibrio tisular (18). El transporte del neurotransmisor hacia el interior de las células gliales permite limitar el tiempo de activación de los receptores para glutamato y evitar la aparición de daño tisular excitotóxico. Se ha sugerido también que el proceso de transporte en sí regula otras funciones del tejido nervioso, como la captación de glucosa desde el torrente sanguíneo.

Los estudios de imagenología funcional utilizan los cambios en el flujo

sanguíneo cerebral como un indicador de la actividad neuronal y asumen una correlación directa entre ambos. En la zona sináptica se ha comprobado la existencia de una correlación entre la recaptura de glutamato por los transportadores y la captación de glucosa del torrente sanguíneo por parte de los astrocitos, lo cual da soporte al principio utilizado para la resonancia magnética funcional. Otras funciones asociadas con el transporte del ácido glutámico incluyen su participación en el mecanismo de acción de diversas sustancias. La recaptura de glutamato se incrementa bajo ciertas condiciones, como el uso de gases anestésicos (isoflurano y halotano), intoxicación aguda o exposición crónica al etanol y en el síndrome de abstinencia a la morfina (17),(19).

Por otra parte, la disminución de la recaptura de glutamato parece ser un factor crítico en la aparición de daño celular excitotóxico, como sucede en isquemia. El incremento en las concentraciones de glutamato extracelular en casos de daño neuronal agudo o crónico es un evento conocido. Sin embargo, sólo en los últimos años se ha considerado la disminución en el transporte de este neurotransmisor como un elemento de peso que explica el daño celular excitotóxico por acumulación de glutamato. Hay indicios que vinculan los cambios en la expresión o función de los transportadores con diversas entidades agudas y crónicas (17), entre éstas el

trauma craneoencefálico, la isquemia cerebral, los síndromes convulsivos, la enfermedad de Alzheimer (17),(20), la esclerosis lateral amiotrófica (17),(21) y la neuropatía por VIH (17),(22). La reducción en la rata de transporte del ácido glutámico puede estar dada por la disminución en la expresión de los transportadores o por la alteración de su función, incluida la función reversa.

En todos los casos mencionados existen factores comunes que contribuyen a la pérdida de la funcionalidad de los transportadores presentes en el tejido afectado. Éstos incluyen el bloqueo de la función molecular, inducido por la presencia de radicales libres como peróxido de hidrógeno (H_2O_2), peroxinitrito (ONOO⁻) o el radical superóxido (O_2^-) (23); la disminución del transporte neto por privación energética (23), o la reversión del transporte por alteración de los gradientes electroquímicos de las membranas celulares.

Por otra parte, en algunas entidades se han demostrado cambios específicos asociados con la patología en cuestión, como la coexpresión de una forma normal y una anormal de EAAT2 en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica, donde la segunda tiene una rata de transporte disminuida e interfiere con la capacidad de recaptura del transportador normal (20). En el caso de la enfermedad de Alzheimer, el aumento de la producción del péptido betaa-

miloide afecta en forma negativa el transporte de glutamato, sin embargo, este efecto puede ser causado indirectamente por la generación de radicales libres inducidos por el péptido (17).

Los estudios realizados en modelos de isquemia cerebral sugieren que los cambios en la expresión de los transportadores para ácido glutámico pueden influir en los fenómenos plásticos observados a corto y a largo plazo en diversas áreas del SNC. En nuestro laboratorio, a través de la utilización de un modelo de isquemia focal por obstrucción de la arteria cerebral media, seguido por la evaluación inmunohistoquímica de la expresión de GLT1 en la corteza cerebral, se demostró la disminución en la expresión del transportador GLT1 en la corteza cerebral del hemisferio contralateral a la lesión (15), lo que estaría relacionado con hiperactividad del hemisferio sano.

Considerando los circuitos asociativos corticales y el sistema tálamo-cortical, el estudio del sistema glutamatérgico en su conjunto y en especial el papel de los transportadores en la homeostasis deben ser motivo de consideración no sólo en neurología, sino en psiquiatría.

Agradecimientos

Las autoras agradecen al doctor Hernán Pimienta J., director del

Centro de Estudios Cerebrales, por la lectura crítica de este manuscrito, y a Colciencias, por el apoyo financiero del proyecto Cambios enfocales en la expresión de transportadores de glutamato en isquemia por oclusión de la arteria cerebral media, algunas de cuyas observaciones y conceptos sirvieron de base para este artículo (código: 1106-04-11990).

Bibliografía

1. James W. The principles of psychology; 1890.
2. Buonomano D. Cortical plasticity: from synapses to maps. *Annu Rev Neurosci* 1998; 21:149-86.
3. Kempter R, Leibold C, Wagner H, Van Hemmen JL. Formation of temporal-feature maps by axonal propagation of synaptic learning. *Proc Nati Acad Sci* 2001;98(7):4166-71.
4. Ottersen OP, Storm-Matisen J. Glutamate. In: *Handbook of chemical neuroanatomy*, 18. Elsevier; 2000.
5. Medina A, Escobar M. Sistema glutamatérgico, primera parte. Sinaptología, homeostasis y muerte celular. *Revista Colombiana de Psiquiatría* 2002; 31 (3): 193-218.
6. Collingridge G. Memories of NMDA receptors and LTP. *Trends in Neuroscience* 1995:54-6.
7. Pérez Y, Morin F, Lacaille JC. A hebbian form of long-term potentiation dependent on mglur1a in hippocampal inhibitory interneurons. *Proc Nati Acad Sci* 2001; 98 (16): 9401-6.
8. Alonso A, De Curtis M, Llinás R. Postsynaptic hebbian and non-hebbian long-term potentiation of synaptic efficacy in the

- entorhinal cortex in slices and in the isolated adult guinea pig brain. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87:9280-4.
9. Grunwald T, Beck H, Lehnertz K, Blumcke I, Pezer N, Kurthen M, et al. Evidence relating human verbal memory to hippocampal N-Methyl-D-aspartate receptors. *Proc Natl Acad Sci* 1999;96(21):12085-9.
10. Harris K. Structure, development and plasticity of dendritic spines. *Current Opinion In Neurobiology* 1999;9(3):343-8.
11. Matus A. Actin-based plasticity in dendritic spines. *Science* 2000;(290):754-7.
12. Matus A. Postsynaptic actin and neuronal plasticity. *Current Opinion in Neurobiology* 1999;9(5):561-5.
13. Medina A, Escobar M, Arango C, Pimienta H. Cambios exofocales en la expresión de parvoalbúmina posterior a isquemia focal. *Salud UIS* 2002;34(3): 179-87.
14. Medina A, Arango C, Ortiz J, Escobar M. Exofocal changes in glial acidic fibrillary protein in an experimental model of focal ischemia. Program No. 96.4. 2002 Abstract Viewer/Itinerary Planner. Washington: Society for Neuroscience; 2002.
15. Medina A, Escobar MI. Selective laminar responses in parvoalbumin, glial fibrillary acidic protein and GLT1 in the cerebral cortex contralateral to a n ischemic lesion. [en prensa]
16. Gegelavishi G, Shousboe A. High affinity glutamate transporters: regulation of expression and activity. *Molecular Pharmacology* 1997;52:6-15.
17. Seal RP, Amara SG. Excitatory amino acid transporters: a family in flux. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 1999;39:431-56.
18. Danbolt NC. Glutamate uptake. *Progress in Neurobiology* 2001;65:1-105.
19. Xu NJ, Bao L, Fan HP, Bao GB, Pu L, Lu YJ, et al. Morphine withdrawal increases glutamate uptake and surface expression of glutamate transporter GLT1 at hippocampal synapses. *J Neurosci* 2003 Jun; 23(11):4775-84.
20. Thai DR. Excitatory amino acid transporter EAAT-2 in tangle-bearing neurons in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 2002 Oct;12(4):405-11.
21. Trotti D, Aoki M, Pasinelli P, Berger UV, Danbolt NC, Brown Jr RH, et al. Amyotrophic lateral sclerosis-linked glutamate transporter mutant has impaired glutamate clearance capacity. *J Biol Chem* 2001; 276(1):576-82.
22. Vallat-Decouvelaere AV, Gray F, Chretien F, Le Pavec G, Dormont D, Gras G. Neurotoxicity and neuroprotection, two aspects of microglial activation in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann Pathol* 2004 Feb;24(1):31-44.
23. Trotti D, Danbolt NC, Volterra A. Glutamate transporters are oxidant-vulnerable: a molecular link between oxidative and excitotoxic neurodegeneration? *Trends Pharmacol Sci* 1998 Aug;19(8):328-34.

Correspondencia: Adriana Medina
Universidad del Valle, Centro de Estudios Cerebrales, Facultad de Salud Cali, Valle del Cauca