Review Article

Glutamate transporters and excitotoxicity in nervous system

Shahraki A (PhD)*[1], Ghahghaei A (PhD)[2], Zakeri Z (PhD)[3]

[1]Assistant Professor of Pharmacology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran. [2]Assistant Professor of Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran. [3]Associate Professor, Department of Internal Medicine, Zahedan University of Medical Sciences and Health Services, Zahedan, Iran.

Abstract

L-glutamate is the major excitatory neurotransmitter in the central nervous system (CNS). It contribute in various physiological conditions such as brain development, synaptic plasticity, memory and learning. However, increasing of the extracellular glutamate concentration and overactivation of glutamate receptors in particular ionotropic subtypes leads to excitotoxicity which is the fundamental pathological pathway of neuronal injury. Due to lack of extracellular enzymatic destruction, the removal of released glutamate is achieved through the excitatory amino acid transporters (EAATs) which are distributed in glia that tightly surround the synaptic clefts, as well as in neurons. EAATs which known as Na+-dependent high-affinity glutamate transporters are the main responsible for maintaining extracellular glutamate concentration below excitotoxic levels. Moreover another membrane transporters regulating the flux of glutamate in different areas of the CNS. This system is cystine-glutamate exchanger (XCG-) that is Na+-independent system. Dysfunction of EAATs has been implicated in both acute insults e.g. stroke, trauma and chronic neurological and neuropsychiatric disorders e.g. amyotrophic lateral sclerosis, epilepsy, schizophrenia and Alzheimer's disease. Therefore, the purpose of this review article is to explain the pathway of glutamate biosynthesis, its release into CNS, discribing and elaborating Glutamate transporters, activites and their role in excitoxcity in CNS.

Keywords: Glutamate, Glutamate transporters, Nervous system, Excitotoxicity, Glia cells

*** Corresponding Author: Shahraki A (PhD), E-mail: ashahraki@science.usb.ac.ir**

Received 27 February 2011 **Revised** 6 July 2011 **Accepted** 6 July 2011

This paper should be cited as: Shahraki A, Ghahghaei A, Zakeri Z. [Glutamate transporters and excitotoxicity in nervous system]. J Gorgan Uni Med Sci. 2011; 13(3): 1-15. [Article in Persian]

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / پاییز ۱۳۹۰ / دوره ۱۳ / شماره ۳ (پی در پی ۳۹) / صفحات ۱ تا ۱۵

مروری

انتقال دهنده‌های گلوتامات و سمیت تحریکی در دستگاه عصبی

دکتر علی شهرکی*[۱]، دکتر آرزو قهقایی[۲]، دکتر زهرا ذاکری[۳]

۱- استادیار فارماکولوژی ، گروه زیست شناسی ، دانشکده علوم ، دانشگاه سیستان و بلوچستان. ۲- استادیار بیوشیمی ، گروه زیست شناسی ، دانشکده علوم ، دانشگاه سیستان و بلوچستان. ۳-دانشیار گروه داخلی ، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان.

چکیده

ال-گلوتامات نوروترانسمیتر عمده تحریکی در دستگاه عصبی مرکزی است که در بسیاری از شرایط فیزیولوژیک نظیر تکامل مغز، انعطاف‌پذیری سیناپسی، حافظه و یادگیری دخالت دارد. با این حال افزایش غلظت گلوتامات خارج سلولی و فعالیت بیش از حد گیرنده‌های گلوتامات، به‌ویژه گیرنده‌های یونوتروپیک آن باعث سمیت تحریکی می‌گردد که مسیر پاتولوژیک اصلی برای آسیب به سلول‌های عصبی می‌باشد. به‌دلیل عدم تخریب آنزیمی گلوتامات در فضای خارج سلولی، خارج‌سازی گلوتامات آزاد شده در اثر فعالیت نورون‌ها به‌واسطه انتقال‌دهنده‌های اسیدهای آمینه تحریکی صورت می‌گیرد. انتقال‌دهنده‌های مذکور که در سلول‌های گلیال احاطه کننده فضای سیناپس و در سلول‌های عصبی وجود دارند؛ تحت عنوان انتقال‌دهنده‌های وابسته به سدیم و با تمایل بالای گلوتامات خوانده می‌شوند و مسؤول اصلی حفظ غلظت گلوتامات خارج سلولی در مقادیری کمتر از مقادیر ایجادکننده سمیت تحریکی می‌باشند. علاوه بر این گروه دیگری از انتقال دهنده‌های غشایی تحت عنوان معاوضه‌کننده‌های سیستین-گلوتامات می‌باشند که غیروابسته به سدیم بوده و انتقال گلوتامات را در نواحی ویژه‌ای از دستگاه عصبی مرکزی تنظیم می‌کنند. شواهد حاکی از آن است که اختلال در انتقال‌دهنده‌های گلوتامات در اختلالات حاد عصبی نظیر سکته و ضربه و اختلالات مزمن آن نظیر (Amyotrophic Lateral Sclerosis) ALS ، صرع، اسکیزوفرنی و بیماری آلزایمر دخالت دارد. در این مقاله نحوه سنتز و آزادسازی گلوتامات در دستگاه عصبی مرکزی، توصیف و تشریح انتقال‌دهنده‌های گلوتامات، فعالیت آنها و ارتباطشان با یکدیگر و نقش انتقال‌دهنده‌های مذکور در سمیت تحریکی مرور شده است.

کلید واژه‌ها : *گلوتامات ، انتقال‌دهنده‌های گلوتامات ، دستگاه عصبی ، سمیت تحریکی ، سلول‌های گلیال*

---

* نویسنده مسؤول : دکتر علی شهرکی ، پست الکترونیکی ashahraki@science.usb.ac.ir

نشانی : زاهدان ، دانشگاه سیستان و بلوچستان ، دانشکده علوم ، گروه زیست شناسی ، تلفن ۰۵۴۱-۸۰۵۶۳۳۲ ، نمابر ۲۴۴۶۵۶۵

وصول مقاله : ۸۹/۱۲/۸ ، اصلاح نهایی : ۹۰/۴/۱۵ ، پذیرش مقاله : ۹۰/۴/۱۵

مقدمه

گلوتامات (اسیدگلوتامیک) یک اسیدآمینه غیرضروری دی‌کربوکسیلیک است که در ساختارهای مختلف مغز انسان و حیوانات به عنوان نوروترانسمیتر عمده تحریکی حضور داشته و در اثرات فیزیولوژیک متعددی نظیر تکامل مغز، انعطاف‌پذیری سیناپسی، حافظه و یادگیری مشارکت دارد. بیشترین ذخیره گلوتامات در پایانه‌های عصبی است که در حدود ۱۰۰ mM آن در وزیکول‌های سیناپسی و ۱۰ mM آن در سیتوپلاسم وجود دارد. غلظت خارج سلولی گلوتامات در مقادیر بسیارکم و بین ۴-۰/۵ µM و در مایع مغزی –نخاعی ۱۰-۱ µM متفاوت است. غلظت آن در فضای سیناپس براساس فعالیت نورونی بین ۱۰۰۰-۲ mM است. گلوتامات نمی‌تواند از سد مغزی خونی عبور کند و لذا در میتوکندری‌های سلول‌های عصبی از گلوکز یا از گلوتامین ساخته می‌شود (۳-۱). توانایی گلوتامات برای مشارکت در وظایف وسیع و متنوع به دلیل گیرنده‌های بسیار زیادی است که برای انتقال سیگنال آن در دسترس می‌باشد. یک دسته از این گیرنده‌ها به‌صورت کانال‌های یونی هستند که تحت عنوان گیرنده‌های یونوتروپیک گلوتامات خوانده می‌شوند و براساس ویژگی‌های فارماکولوژیکی و الکتروفیزیولوژیکی به سه زیر واحد شامل گیرنده‌های NMDA ، AMPA و کینات تقسیم می‌شوند. دسته دیگر گیرنده‌های گلوتامات گیرنده‌های متابوتروپیک هستند که مستقیماً کانال‌های یونی را فعال نمی‌کنند؛ بلکه از طریق پروتئین‌های- G سیستم‌های پیک دوم را در نورون‌ها فعال می‌سازند. تاکنون هشت زیر واحد از گیرنده‌های متابوتروپیک گلوتامات شناسایی شده است که براساس توالی اسیدهای آمینه، مکانیسم‌های انتقال سیگنال‌ها و ویژگی‌های فارماکولوژیکی به سه گروه عمده I ، II و III تقسیم می‌شوند. این گیرنده‌ها براساس نوع زیرواحد به‌صورت پیش‌سیناپسی یا پس‌سیناپسی واقع شده‌اند و آزادسازی گلوتامات و سایر نوروترانسمیترها را تنظیم می‌کنند (۶-۴).

افزایش غلظت گلوتامات در فضای سیناپس و مایع خارج سلولی از طریق روند سمیت تحریکی منجر به آسیب سلول‌های عصبی می‌گردد. اساس مولکولی این سمیت سلولی به خوبی شناخته نشده است؛ ولی این توافق کلی وجود دارد که تجمع یون‌های کلسیم داخل سلول‌های عصبی از طریق گیرنده‌های NMDA مرحله کلیدی برای گسترش مرگ سلول‌های عصبی در اثر گلوتامات می‌باشد. در حالی که افزایش Ca^{2+} از طریق کانال‌های کلسیم یا کانال‌های وابسته به ولتاژ غیرسمی بوده است. به همین دلیل گیرنده‌های یونوتروپیک برای جنبه‌های مکانیسمی و درمانی مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند (۷و۸). تنظیم انتقال سیناپسی و مقادیر گلوتامات در فضای سیناپس به‌وسیله انتقال دهنده‌های گلوتامات صورت می‌گیرد. انتقال گلوتامات یک روند پیوسته وابسته به سدیم و پتاسیم است که قادر است غلظت گلوتامات داخل سلولی را تا ۱۰۰۰۰ برابر در مقایسه با گلوتامات خارج سلولی افزایش دهد. این انتقال دهنده‌ها در سراسر دستگاه عصبی مرکزی انسان و دیگر بافت‌ها قرار دارند. مطالعات فیزیولوژیک دهه اخیر حاکی از آن است که انتقال‌دهنده‌های گلوتامات غلظت گلوتامات در سیناپس را به حدی پائین نگه می‌دارند تا مانع حساسیت‌زدایی و یا سمیت تحریکی گردد. مطالعات جدید درباره بیولوژی انتقال‌دهنده‌های مذکور بیان می‌کنند که اختلال در فعالیت آنها ممکن است در بیماری‌های عصبی نقش داشته باشد (۱۱-۹). لذا مقاله مروری حاضر به بررسی سنتز و آزادسازی گلوتامات در دستگاه عصبی مرکزی، تشریح انتقال دهنده‌های گلوتامات، فعالیت و ارتباطشان با یکدیگر و دخالت انتقال‌دهنده‌های مذکور در سمیت تحریکی و اختلالات عصبی می‌پردازد. در انتها نیز معاوضه کننده سدیم – کلسیم به عنوان پروتئین متناوب دیگری که ممکن است در سمیت تحریکی نقش داشته باشد؛ بررسی شده است.

در مجموع از ۵۸ مقاله چاپ شده سال‌های ۲۰۱۰-۲۰۰۵ موجود در بانک‌های اطلاعاتی Springer link و Pub Med توسط جستجوی کلید واژه‌های گلوتامات، سمیت تحریکی، انتقال دهنده‌های گلوتامات در دستگاه عصبی مرکزی، انتقال دهنده‌های گلوتامات و سمیت تحریکی، بیوسنتز گلوتامات و سلول‌های گلیال استفاده گردید.

سنتز و آزادسازی گلوتامات در مغز

به‌دلیل این که سد مغزی – خونی نسبت به گلوتامات نفوذپذیر نمی‌باشد؛ بخش عمده گلوتامات در دستگاه عصبی

مرکزی از گلوکز، یا گلوتامین به‌وسیله سلول‌های گلیال ساخته می‌شود و در اختیار سلول‌های عصبی قرار می‌گیرد. در واقع اسکلت کربنی گلوتامات و گلوتامین به‌وسیله گلوکز تامین می‌شود که به‌وسیله انتقال‌دهنده‌های اختصاصی‌اش به‌طور آزاد از سد مغزی – خونی عبور می‌کند. اسیدهای آمینه تامین‌کننده نیتروژن گروه آمینی برای سنتز گلوتامات هم اسیدهای آمینه دارای زنجیره هیدروکربنی منشعب نظیر لوسین، ایزولوسین و والین هستند. این اسیدهای آمینه به‌صورت آزادانه از سد مغزی - خونی عبور می‌کنند (۴و۱۲).

چرخه گلوتامات – گلوتامین مسیر متابولیک مرکزی گلوتامات در مغز میباشد که در سال ۱۹۶۹ به‌وسیله برل و کلارک کشف شد. این چرخه با آزادسازی گلوتامات وابسته به کلسیم شروع می‌شود که در نتیجه آن غلظت گلوتامات در فضای سیناپس به میزان ۲۵-۲۰ بار افزایش می‌یابد. بعد از دیپلاریزاسیون غشای پس‌سیناپسی گلوتامات باید از فضای سیناپس خارج شود تا زمینه برای ایمپالس بعدی فراهم شود. انتقال گلوتامات به بخش‌های خارج نورونی که عمدتاً آستروسیت‌ها هستند؛ مهم‌ترین روش این خارج‌سازی می‌باشد. بخش کمی از این گلوتامات آستروسیتی داخل مویرگ‌های خونی آزاد می‌شود؛ در حالی که بخش اعظم آن تبدیل به گلوتامین می‌شود که فعالیت نوروترانسمیتری ندارد. این تبدیل به‌وسیله آنزیم گلوتامین سنتتاز صورت می‌گیرد (شکل یک). مطالعات هیستوشیمیایی نشان داده است که پروسه مذکور در میکروزوم‌های آستروسیتی صورت می‌گیرد. این واکنش نیاز به آمونیاک دارد که به‌وسیله خون فراهم می‌شود یا در اثر متابولیسم مغز تشکیل می‌شود.

$$\text{Glutamate} + NH^3 + ATP \xrightarrow{\text{glutamine synthetase}} \text{Glutamine} + ADP + H^3PO^4$$

گلوتامین سنتتاز نقش کلیدی برای سم‌زدایی آمونیاک در دستگاه عصبی مرکزی و بافت‌های محیطی دارد. بعد از این که گلوتامین به‌وسیله آستروسیت‌ها ساخته شد؛ از غشای سیتوپلاسمی آستروسیت‌ها عبور می‌کند و وارد سیتوپلاسم نورون‌ها می‌شود که در آنجا وارد مسیر سیتو پلاسم – میتوکندری می‌شود. گلوتامین از غشای خارجی میتوکندری به فضای بین غشایی میتوکندری وارد می‌شود و در آنجا تحت تاثیر آنزیم گلوتامیناز تبدیل به گلوتامات می‌شود.

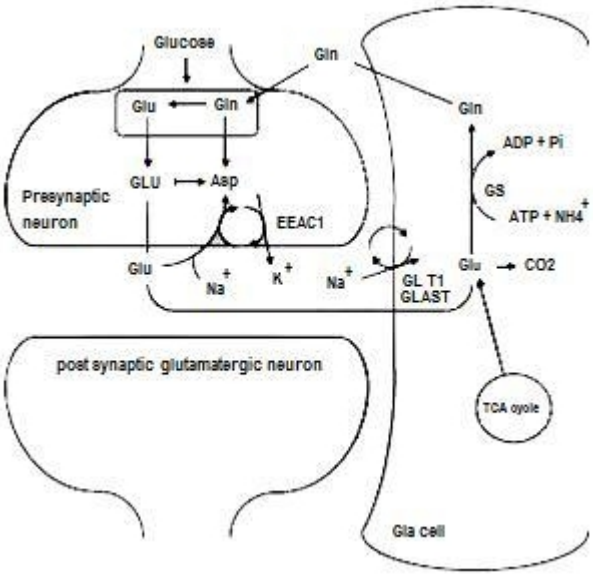
$$\text{Glutamine} \xrightarrow{\text{glutaminase}} \text{Glutamate} + NH3$$

به‌علاوه گلوتامات به ماتریکس میتوکندری به صورت معاوضه با آسپارتات منتقل می‌شود. در ماتریکس آنزیم آسپارتات ترانسفراز میتوکندری باعث انتقال گروه آمینی به گلوتامات می‌شود و تشکیل α-ketoglutarate می‌دهد. این ترکیب دوباره از هر دو غشای میتوکندری به صورت معاوضه با مالات و به‌وسیله انتقال دهنده اسیددی‌کربوکسیلیک به سیتوپلاسم نورون منتقل می‌شود. در سیتوپلاسم تحت تاثیر آسپارتات آمینوترانسفراز تبدیل به گلوتامات می‌شود. گلوتامات به‌وسیله انتقال‌دهنده‌های وزیکولی به وزیکول‌های سیناپسی منتقل شده و در آنجا ذخیره می‌شود و چرخه گلوتامات- گلوتامین در این بخش خاتمه می‌یابد (۱و۱۴-۱۲).

آسپارتات آمینوترانسفراز و گلوتامیناز عمده‌ترین عوامل تولید گلوتامات در مغز هستند؛ لیکن آنزیم‌های دیگری نظیر گلوتامات دی‌هیدروژناز میتوکندری هم در سنتز گلوتامات از آلفا-کتوگلوتارات و یون‌های آمونیوم دخالت دارند. GABA آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز نیز در سنتز گلوتامات از آلفا-کتوگلوتارات نقش دارند. اگرچه وجود این واکنش‌ها در مغز به خوبی تایید شده است؛ اما ارتباط آنها با سنتز و آزادسازی گلوتامات همچنان ناشناخته باقی مانده است (۱و۱۵).

اگرچه نورون‌های گلوتاماتی به مقدار زیادی در مغز و طناب نخاعی توزیع شده‌اند؛ ولی نواحی هیپوکامپ، لایه‌های خارجی قشر مغز و جسم ژلاتینوزا (substantia gelatinosa) در طناب نخاعی غنی از نورون‌های گلوتاماترژیک هستند. ذخیره نوروترانسمیتری گلوتامات که مربوط به نورون‌های گلوتاماترژیک می‌باشد؛ ۴۵-۳۵ درصد گلوتامات مغز را تشکیل می‌دهد. اما باقیمانده گلوتامات ذخیره متابولیک موجود در مغز می‌باشد که در سنتز GABA، متابولیسم عمومی و سنتز پروتئین در سلول‌های عصبی و سلول‌های گلیال مشارکت دارد. همچنین گلوتامات در سم‌زدایی آمونیاک و

کنترل تعادل اسمزی دخالت دارد و جزء اصلی گلوتاتیون و اسید فولیک می‌باشد. گلوتامات در کشت‌های‌های سلولی باعث سنتز سیتوکین‌ها می‌شود. اثر سینرژیستیک گلوتامات و سیتوکین‌ها ممکن است در پاتوژنز آسیب مغز و طناب نخاعی دخالت داشته باشد. هرگونه اختلال در مقادیر طبیعی گلوتامات در مغز می‌تواند اثرات عمیقی در رفتار و سایر جنبه‌های عملکرد مغز داشته باشد (۱و۱۶).



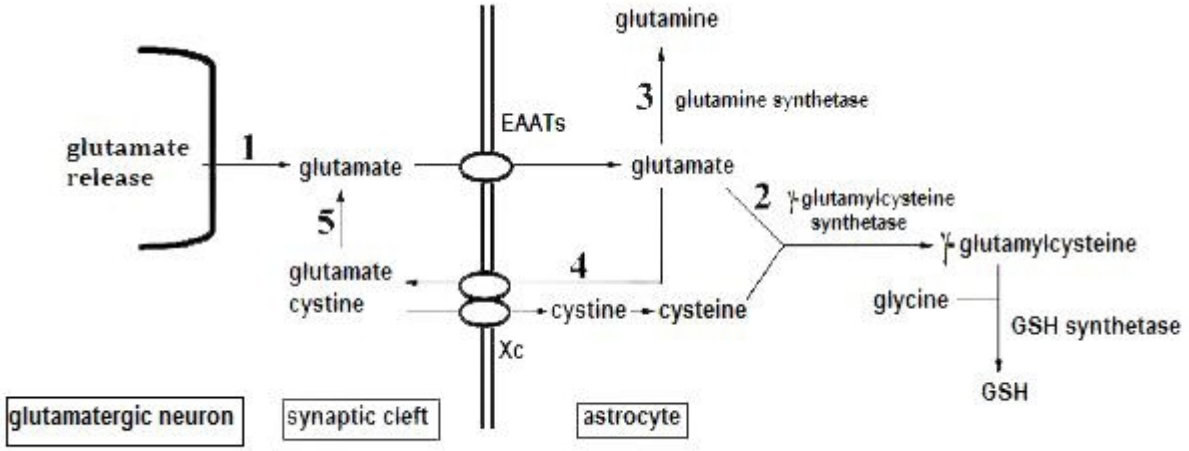
شکل ۱ : دیاگرام فوق به‌صورت شماتیک چرخه گلوتامات/گلوتامین در سیناپس را نشان می‌دهد. در سلول‌های عصبی گلوتامات از گلوکز یا گلوتامین ساخته می‌شود. گلوتامات آزاد شده در فضای سیناپس با گیرنده‌های پس‌سیناپسی واکنش می‌دهد و به‌وسیله سلول‌های گلیال از فضای سیناپس خارج می‌شود. سلول‌های آستروگلیال سیستم خارج‌سازی با تمایل بالاتری برای گلوتامات نسبت به سلول‌های عصبی داشته و دارای آنزیم گلوتامین سنتتاز هستند. در اثر فعالیت این آنزیم گلوتامات تبدیل به گلوتامین می‌شود که فاقد فعالیت نوروترانسمیتری است و می‌تواند دوباره به سلول‌های عصبی منتقل شود و در آنجا تبدیل به گلوتامات شود (۱).

انتقال‌دهنده‌های گلوتامات

خاتمه یافتن اثر سیستم نوروترانسمیتری گلوتاماترژیک با خارج‌سازی گلوتامات از فضای خارج سلولی به‌واسطه انتقال دهنده‌های مولکولی موجود در غشای سلول‌های گلیال احاطه کننده سیناپس و موجود در پایانه‌های پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپسی صورت می‌گیرد. انتقال‌دهنده‌های اسیدآمینه تحریکی(Excitatory amino acid transporters: EAATs) مسؤول اصلی خارج‌سازی گلوتامات و نگهداری غلظت خارج سلولی آن در مقادیری کمتر از مقادیر سمیت تحریکی در دستگاه عصبی مرکزی می‌باشند. انتقال گلوتامات از طریق انتقال‌دهنده‌های EAAT دارای ویژگی الکتروژنیک نیز می‌باشد. چرا که گلوتامات به‌صورت ترمودینامیکی و هم انتقالی حداقل با دو یون Na^+ و یک پروتون و انتقال در جهت مخالف با یک یون K^+ جابجا می‌شود. لذا انتقال دهنده‌های مذکور به‌عنوان انتقال دهنده‌های وابسته به Na^+ و دارای تمایل زیاد به گلوتامات شناخته می‌شوند. این سیستم انتقالی با کانال Cl^- نیز در ارتباط است که در باره عملکرد آن توصیف چندانی صورت نگرفته است (۱۰و۱۷و۱۸).

دو سیستم پروتئینی عمده که اثرات سیگنالی و پاتولوژیک گلوتامات را در دستگاه عصبی مرکزی تحت تاثیر قرار می‌دهند؛ عبارت از انتقال‌دهنده‌های اسیدآمینه تحریکی وابسته به سدیم یا EAATs و سیستم معاوضه کننده گلوتامات / سیستین (Glutamate/cystine exchanger system: Sxc-) می‌باشند. در حالی که زیر واحدهای EAAT با ورود سریع و کارآمد گلوتامات به سلول‌های عصبی و گلیال دسترسی گیرنده‌های گلوتامات به گلوتامات را محدود می‌سازند و Sxc- مسیری را فراهم می‌کند تا گلوتامات از سلول‌ها به محیط خارج سلولی منتقل شود (۱۱).

انتقال‌دهنده‌های EAAT در سراسر دستگاه عصبی مرکزی و دیگر بافت‌های بدن قرار دارند. تاکنون ۵ انتقال‌دهنده با تمایل بالای گلوتامات و وابسته به سدیم از بافت‌های پستانداران و انسان کلون شده است که عبارت از EAAT1-5 می‌باشد. مطالعات ایمینوهیستوشیمیایی مشخص کرده است که EAAT1 و EAAT2 اغلب در آستروسیت‌ها قرار دارند. در حالی که EAAT3 و EAAT4 در غشاهای نورونی توزیع شده‌اند. این انتقال‌دهنده‌ها به ندرت در غشاهای پیش‌سیناپسی دیده می‌شوند و عمدتاً غشاهای پس‌سیناپسی و جسم سلولی نورون‌ها هستند. EAAT5 در سلول‌های عقده‌ای شبکیه و در گیرنده‌های نوری و سلول‌های دوقطبی آن قرار دارد (۱۰و۱۹). براساس موقعیت تشریحی انتقال‌دهنده‌های گلوتامات غیرفعال‌سازی گلوتامات ممکن است؛ به‌صورت پس‌سیناپسی یا در غشاهای آستروگلیال صورت گیرد. اما در ناحیه هیپوکامپ که غنی از اعصاب گلوتاماترژیک است؛ شواهد محدودی وجود دارد که غیرفعال ساختن گلوتامات به‌وسیله انتقال‌دهنده‌های آن به صورت پیش‌سیناپسی یا پس‌سیناپسی



شکل ۲ : برگرداندن گلوتامات و سیستین در مغز. گلوتامات که از نورون‌های گلوتاماترژیک آزاد می‌شود [۱]؛ به وسیله انتقال‌دهنده‌های EAAT به آستروسیت‌ها منتقل می‌شود. آنگاه گلوتامات می‌تواند در ساخت گلوتاتیون به‌کار رود [۲] ؛ یا تبدیل به گلوتامین شود و به نورون‌ها منتقل شود [۳] و یا به‌وسیله-XC استفاده شود [۴] تا تجمع سیستین (سیستئین) را تسهیل کند. گلوتاماتی که به‌وسیله -XC از سلول خارج می‌شود؛ دوباره به‌وسیله انتقال‌دهنده‌های EAAT به آستروسیت‌ها برگردانده می‌شود[۵]. در نتیجه باعث حفظ اختلاف غلظت گلوتامات می‌شود که برای معاوضه سیستین با گلوتامات ضروری است (۲۰).

صورت می‌گیرد. اما در بخش‌های قدامی مغز انتقال دهنده‌های آستروگلیال مسیر عمده فیزیولوژیک برای غیرفعال ساختن سیناپسی گلوتامات می‌باشد (۱۰و۲۱).

انتقال‌دهنده‌های گلوتامات (EAATs) به سرعت گلوتامات آزاد شده در فضای سیناپس را به‌وسیله نورون‌های گلوتاماترژیک به آستروسیت‌ها و بافت‌های مجاور منتقل می‌کنند. در آستروسیت‌ها این گلوتامات می‌تواند به عنوان یک سوبسترا برای سنتز گلوتاتیون به کار رود یا تبدیل به گلوتامین شود تا بعداً به نورون‌های پیش‌سیناپسی منتقل شود یا می‌تواند به‌وسیله معاوضه کننده گلوتامات / سیستین با سیستین معاوضه شود (شکل ۲).

ویژگی انتقال‌دهنده‌های EAAT گلوتامات به این صورت است که ابتدا گلوتامات و یون‌های ضروری به جایگاه خودشان که در بخش خارجی غشای سلول قرار دارد؛ متصل می‌شوند. آنگاه تغییر شکل فضایی در پروتئین انتقال‌دهنده باعث چرخش آن می‌شود؛ به طوری که گلوتامات به بخش داخلی سلول دسترسی می‌یابد. در مورد انتقال‌دهنده‌های EAAT انتقال یک مولکول گلوتامات با حرکت سه یون Na^+ و یک یون H^+ به داخل سلول همراه خواهد بود. جالب توجه این که اطلاعات کریستالوگرافی عنوان کرده است که حداقل ۲یون سدیم برای اتصال مورد نیاز است. در حالی که یون سوم ممکن است ارتباط بسیار نزدیک‌تری با مرحله انتقال داشته باشد. چرخش مجدد انتقال‌دهنده که اجازه می‌دهد؛ جایگاه اتصال به فضای خارج سلولی برگردد؛ با خارج ساختن یک یون K^+ همراه است. ایجاد اختلاف غلظت Na^+ و K^+ در سلول‌های دستگاه عصبی مرکزی اجازه می‌دهد که غلظت گلوتامات در داخل سلول ۵ برابر بیشتر از خارج سلول باشد و راهی برای نگهداری غلظت گلوتامات خارج سلولی در مقادیر کم که منجر به سمیت تحریکی نگردد را فراهم می‌سازد (۲۲و۲۳).

اتصال یون‌های Na^+ به جایگاه خودشان در انتقال‌دهنده‌های گلوتامات منجر به انتقال گلوتامات می‌شود. بخش Y403 در انتقال دهنده گلوتامات GLT–1 در موش صحرایی (معادل EAAT2 در انسان) اولین بخشی بود که مشخص شد؛ برای اتصال یون‌های Na^+ به‌کار می‌رود. به‌علاوه مشخص شده است؛ زمانی که به‌جای یون Na^+، لیتیوم یا سزیوم جایگزین شود؛ همچنان قادر خواهد بود که گلوتامات را انتقال دهد. در مورد GLT–1 مشخص شده است که لیتیوم زمانی که جایگزین یک یون Na^+ و نه جایگزین هر سه یون Na^+ گردد؛ می‌تواند گلوتامات را انتقال دهد. ولی در مورد EAAT-3 زمانی که لیتیوم جایگزین هر سه یون Na^+ گردد؛ باز هم توانایی انتقال گلوتامات را خواهد داشت (۲۴).

طی بیش از سی سال تقریباً تمام داروهایی که برای اثر روی انتقال دهنده‌های EAAT طراحی شده‌اند؛ آنالوگ‌های ساختمانی گلوتامات، ال – آسپارتات و دی – آسپارتات بوده‌اند. لذا در حال حاضر ترکیبات مهارکننده متعددی برای انتقال‌دهنده‌های EAAT در دسترس می‌باشند که قوی‌ترین آنها مربوط به دو گروه از ترکیباتی است که آنالوگ‌های آسپارتات می‌باشند و شامل بتا- ترئو- هیدروکسی آسپارتات (B-THA) و ال- آسپارتات- بتا هیدروکسامات می‌باشند.

B-THA یک مهارکننده مؤثر برگرداندن گلوتامات در برش‌های بافتی، سیناپس‌ها و کشت‌های آستروسیتی می‌باشد. مطالعات نشان داده است این ترکیب به عنوان مهارکننده رقابتی تمام ۵ نوع انتقال‌دهنده‌های گلوتامات عمل می‌کند. جالب توجه این که B-THA فعالیت‌های وسیعی دارد. به‌طوری که می‌تواند به‌عنوان سوبسترا عمل کند و از عرض غشای پلاسمایی عبور کند. بنابراین براساس جریان‌های ایجاد شده به‌وسیله سوبسترا، B-THA در انتقال دهنده‌های EAAT3 و EAAT4 شبیه گلوتامات بوده و در EAAT1 و EAAT2 در حدود ۷۰-۳۰ درصد همانند گلوتامات فعال می‌باشد و برای EAAT5 به‌عنوان یک مهارکننده غیرسوبسترا می‌باشد (۹و۱۱و۲۵).

از طرفی تحقیقات نشان داده است که آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام نظیر سفتریاکسون (Ceftriaxone) به‌دلیل افزایش فعالیت انتقال دهنده گلوتامات GLT-1 منجر به کاهش گلوتامات خارج سلولی در ناحیه نوکلئوس اکامبنس موش صحرایی به مدت ۲۰ روز پس از قطع تزریق داخل صفاقی دارو شده است. این اثر دارو با تاخیر در از دست دادن قدرت عضلانی و وزن بدن در موش‌های صحرایی مبتلا به ALS (Amyotrophic lateral sclerosis) برای بیش از شش هفته بعد از تجویز دارو هم‌خوانی داشته است. لذا به نظر می‌رسد آنتی‌بیوتیک‌های مذکور برای درمان اختلالات عصبی نتایج رضایت‌بخشی را به‌همراه داشته باشند. لیکن لازمست در این زمینه تحقیقات بیشتری صورت پذیرد (۲۶).

سیستم معاوضه کننده گلوتامات/سیستین (Sxc-)

Sxc- در بسیاری از سلول‌های دستگاه عصبی مرکزی نظیر آستروسیت‌ها، میکروگلیاها، سلول‌های مولر شبکیه و نورون‌های نابالغ کورتکس شناسایی شده است. علاوه براین در فیبروبلاست‌ها، ماکروفاژها، هپاتوسیت‌ها و سلول‌های اندوتلیال وجود دارد. این انتقال‌دهنده یک معاوضه کننده اجباری است که یک اسیدآمینه داخل سلولی را با یک اسیدآمینه خارج سلولی معاوضه می‌کند. فعالیت آن وابسته به کلر بوده و وابسته به سدیم نمی‌باشد. اگرچه هنوز مشخص نشده است که آیا یون‌های Cl^- به صورت هم انتقالی جابجا می‌شوند یا خیر؟ اثر عمده این انتقال‌دهنده ورود ال- سیستین و همزمان با آن خروج ال- گلوتامات از سلول است. بنابراین از اختلاف غلظتی که به‌وسیله انتقال‌دهنده‌های EAAT گلوتامات ایجاد شده است؛ به عنوان نیروی انتقال‌دهنده استفاده می‌کند و ال- سیستین تجمع یافته در خارج سلول را به داخل سلول منتقل می‌کند (۱۱).

در شرایط فیزیولوژیک سیستم Sxc-، سیستین را به داخل سلول‌ها منتقل می‌کند و به‌همراه آن گلوتامات را به خارج از سلول و به صورت غیروابسته به سدیم منتقل می‌کند (۲۲). وقتی سیستین وارد سلول‌ها شد؛ سریعاً و به‌طور خودبخودی به سیستئین احیا می‌شود که این ترکیب هم برای سنتز گلوتاتیون که ترکیب آنتی‌اکسیدان ضروری برای دفاع سلول می‌باشد؛ به‌کار می‌رود. گلوتاتیون یک تری‌پپتید متشکل از سه اسیدآمینه گلوتامات، سیستئین و گلیسین است که تحت تاثیر آنزیم‌های گاماگلوتامیل سیستئین سنتتاز و گلوتاتیون سنتتاز ساخته می‌شود. نقش اصلی گلوتاتیون به‌عنوان ترکیب جاروکننده رادیکال‌های آزاد در بافت‌های مختلف و به‌ویژه در شبکیه دارای اهمیت فراوانی می‌باشد. زیرا مصرف اکسیژن این بافت بالا بوده و حاوی مقدار زیادی اسیدچرب غیراشباع است و در معرض نور قرار دارد؛ لذا فوق‌العاده به اکسیداسیون حساس می‌باشد (۲۷و۲۸).

Sxc- از لحاظ عملکرد یک انتقال‌دهنده ویژه می‌باشد. زیرا هم ورود ال- سیستین و هم خروج ال- گلوتامات با نقش‌های فیزیولوژیک خاصی در دستگاه عصبی مرکزی همراه است. اغلب مطالعات روی Sxc- روی اثرات آن به‌عنوان یک عامل تامین‌کننده سیستئین داخل سلولی برای نگهداری مقادیر مناسب ترکیب آنتی‌اکسیدان گلوتاتیون (GSH) متمرکز بوده است. اگرچه هر دو نوع سلول عصبی و گلیال نیاز به سیستئین

داخل سلولی برای سنتز گلوتاتیون دارند؛ به‌نظر می‌رسد که پیش‌ساز خارج‌سلولی و روش ورود آن برای تامین سیستئین در هر کدام از این سلول‌ها متفاوت باشد. عنوان می‌شود که نورون‌ها برای تامین مقادیر گلوتاتیون خود به مقدار زیادی وابسته به -Sxc می‌باشد که برگرداندن سیستین در آستروسیت‌ها را به‌عهده دارد. آنگاه از آستروسیت‌ها به‌صورت سیستئین و یا گلوتاتیون خارج شده و به نورون‌ها منتقل می‌شود. نقش -Sxc در سنتز گلوتاتیون با این حقیقت تایید می‌شود که سمیت ایجاد شده به‌وسیله کوئیسکلات در بعضی از سلول‌ها در اثر مهار این انتقال‌دهنده و به‌دنبال آن وقوع استرس اکسیداتیو می‌باشد و ناشی از سمیت تحریکی به‌واسطه گیرنده‌های اسیدهای آمینه تحریکی نبوده است (۱۱).

Sato و همکاران در سال ۱۹۹۹ CDNA انتقال‌دهنده -Sxc را جدا کردند و دریافتند که این انتقال‌دهنده از دو بخش پروتئینی تشکیل شده است که شامل آنتی‌ژن سطحی 4F2 با زنجیره سنگین و یک پروتئین جدیدی که تحت عنوان xCT خوانده می‌شود. xCT دارای ۱۲ قطعه می‌باشد که از عرض غشاء عبور می‌کند. در حالی که به نظر می‌رسد آنتی‌ژن 4F2 با زنجیره سنگین دارای یک قطعه عبوری از عرض غشاء باشد. در آنالیز نورتون بلات mRNA مربوط به xCT در مغز موش مشخص شد؛ ولی در قلب، کبد، ریه وکلیه آشکار نشد. مطالعات بعدی Sato و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان داد که سیستم -Sxc در پرده مننژ و در نواحی مغز که با بطن مغزی در ارتباط هستند؛ بیان شده است. لذا گمان می‌رود که این انتقال‌دهنده در نگهداری حالت ردوکس (به‌عنوان مثال نسبت سیستین / سیستئین) در مایع مغزی نخاعی دخالت داشته باشد (۲۹و۳۰). مطالعات زیادی در مورد انتقال دهنده‌های گلوتامات در شبکیه و لنز چشم صورت گرفته است که در ادامه به بررسی آن می‌پردازیم.

انتقال‌دهنده‌های گلوتامات در شبکیه و عدسی چشم

تعداد زیادی از انتقال‌دهنده‌های غشایی که جریان گلوتامات را در نواحی ویژه‌ای از دستگاه عصبی مرکزی و از جمله شبکیه تنظیم می‌کنند؛ شناسایی شده است. این سیستم‌ها شامل سیستم غیروابسته به سدیم -Sxc و سیستم وابسته به سدیم یا همان EAAT می‌باشند (۳۱و۳۲). Oliveira و همکاران در سال ۲۰۱۰ برای اولین بار ویژگی‌ها و ارتباط این دو سیستم با یکدیگر را در شبکیه بررسی کردند. مطالعات آنها نشان داد که در شبکیه هر دو مکانیسم انتقالی گلوتامات وابسته به سدیم و غیروابسته به سدیم به‌طور نسبتاً یکسانی وجود دارند. به طوری که حدود ۴۸درصد کل انتقال گلوتامات در شبکیه غیروابسته به سدیم است که در سایر نقاط دستگاه عصبی مرکزی چنین وضعیتی مشاهده نشده است (۲۸). در سلول‌های گلیال و کشت‌های نورونی که از بخش‌های مختلف دستگاه عصبی مرکزی نظیر مخچه، هیپوکامپ و کورتکس انجام شده است؛ بخش غیروابسته به سدیم کمتر از ۵درصد کل انتقال گلوتامات را به‌عهده داشته است. در حالی که بخش وابسته به سدیم مسؤول انتقال ۹۵درصد باقیمانده بوده است (۳۳).

نکته جالب توجه دیگر در مطالعات Oliveira و همکاران این بود که به هنگام اضافه کردن ۵۰۰ µM سیستئین در کشت سلول‌های شبکیه کاهش گلوتاتیون داخل سلولی مشاهده شد که این کاهش در هر دو بخش انتقالی وابسته به سدیم و غیروابسته به سدیم وجود داشته است. دو فرضیه برای چنین کاهشی قابل طرح می‌باشد که شامل موارد زیر است.

الف) سیستم انتقالی -Sxc سیستئین موجود در محیط کشت را به داخل سلول منتقل می‌کند و آنگاه گلوتاتیون اضافی را در فضای خارج سلولی آزاد می‌کند. به‌نظر می‌رسد که این فرضیه دارای احتمال وقوع بیشتری است.

ب) سیستم انتقالی -Sxc سیستئین را به داخل سلول و گلوتامات را به خارج سلول منتقل می‌کند که در نتیجه میزان گلوتاتیون داخل سلولی کاهش می‌یابد (۲۸). جالب توجه این که افزایش گلوتامات در کشت‌های آستروسیت موش صحرایی نیز باعث افزایش آزادسازی گلوتاتیون در فضای خارج سلولی می‌شود که به نظر می‌رسد این افزایش یک مکانیسم محافظت‌کننده مهم نورونی در برابر سمیت تحریکی گلوتامات خواهد بود (۳۴).

در مورد عدسی چشم نیز گلوتاتیون از طریق دو مکانیسم اصلی برای این عضو تامین می‌شود که در آنجا دارای نقش آنتی‌اکسیدانی بوده و محافظت آن را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو به‌عهده دارد. مکانیسم اول دریافت گلوتاتیون

موجود در گردش خون می‌باشد که به‌وسیله مکانیسم‌های انتقالی وابسته به Na^+ و غیروابسته به آن صورت می‌گیرد و مکانیسم دوم بیوسنتز گلوتاتیون در ناحیه کورتکس عدسی چشم می‌باشد. مطالعات نشان داده است که بیشترین میزان گلوتاتیون در لایه سلولی اپی‌تلیال و ناحیه خارجی کورتکس لنز می‌باشد. با افزایش سن و در دوران کهولت کاهش مقادیر گلوتاتیون لنز ممکن است در اثر تغییر در سنتز گلوتاتیون یا سیستم‌های انتقالی آن صورت گیرد. با این حال مطالعات Rathbun و Bovis (۳۵) نشان داد که تغییر در سنتز گلوتاتیون دلیل غیرمحتمل برای کاهش مقادیر گلوتاتیون در لنز بوده است. اگرچه فعالیت آنزیم اختصاصی سنتز گلوتاتیون با افزایش سن کاهش یافته بود؛ ولی این کاهش فعالیت چندان مسؤول کاهش مقادیر گلوتاتیون نبوده است. لذا به احتمال زیاد تغییر در انتقال گلوتاتیون یا اسیدهای آمینه پیش‌ساز آن نقش اصلی برای تغییر مقادیر گلوتاتیون را به‌عهده دارد (۲۰).

مطالعات Lim و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان داد که در لایه‌های خارجی کورتکس لنز چشم انتقال‌دهنده‌های -Sxc و EAAT4 و EAAT5 ممکن است با هم عمل کنند تا برای سنتز گلوتاتیون، سیستئین را فراهم کنند. در مرکز لنز انتقال دهنده‌های EAAT وجود نداشته؛ ولی -Sxc در این ناحیه وجود دارد که خود حاکی از آنست که -Sxc می‌تواند از طریق یک مسیر دریافت گلوتامات جداگانه‌ای اثر کند تا سیستئین را در جایی که می‌تواند به‌طور بالقوه به‌عنوان یک ترکیب با جرم مولکولی کم اثر آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال کند؛ فراهم نماید (۲۰).

نوع دیگری از انتقال‌دهنده‌های گلوتاماتی تحت عنوان انتقال‌دهنده‌های گلوتاماتی وزیکولی (vGLUT) (Vesicular glutamate transporters) نیز وجود دارند که در غشای وزیکول‌های سیناپسی حضور داشته و برای انتقال آنیون گلوتامات به داخل وزیکول‌های سیناپسی از اختلاف غلظت یون H^+ استفاده می‌کنند که به‌وسیله آنزیم H+ - ATPase واکوئلی ایجاد می‌شود. تاکنون سه نوع آن شناسایی شده است که قطعات عبوری آنها از عرض غشاء در حدود ۹۰ درصد شبیه به هم هستند و شامل vGLUT1-3 می‌باشند. تفاوت‌های عمده‌ای بین این نوع انتقال‌دهنده‌ها با انتقال‌دهنده‌های گلوتاماتی موجود در غشای سلول وجود دارد که شامل موارد زیر است.

الف) تمایل بسیار کمتری برای گلوتامات نسبت به انتقال دهنده‌های گلوتاماتی غشای سلول دارند.

ب) فعالیت آنها به اختلاف غلظت یون Na^+ وابسته نیست.

ج) هم گلوتامات و هم آسپارتات به‌عنوان سوبسترا انتقال دهنده‌های گلوتاماتی غشای سلولی هستند. در حالی که انتقال دهنده‌های گلوتاماتی وزیکولی قادر به شناسایی و انتقال آسپارت نمی‌باشند (۳۶).

انتقال‌دهنده‌های گلوتامات و سمیت تحریکی

مرگ سلول‌های عصبی در اثر سمیت تحریکی به‌واسطه فعال شدن طولانی مدت گیرنده‌های گلوتامات آغاز می‌شود. طی دوره ایسکمی مغز، فعال‌شدن گیرنده‌های گلوتامات در اثر افزایش بیش‌از حد و طولانی غلظت‌های گلوتامات خارج سلولی اتفاق می‌افتد که یکی از دلایل آن اختلال در انتقال گلوتامات می‌باشد.

به‌نظر می‌رسد معمول‌ترین اختلال در انتقال گلوتامات کاهش تعداد پروتئین‌های انتقال‌دهنده آن باشد. مکانیسم دقیق کاهش تعداد این پروتئین‌ها شناخته نشده است؛ ولی عوامل مختلفی نظیر گونه‌های واکنش‌زای اکسیژن مطرح هستند که در پایان همین مبحث به آنها اشاره خواهد شد. کاهش این پروتئین‌ها در بیماری‌های حاد نورودژنراتیو نظیر ایسکمی و هیپوکسی (۳۷) و در بیماری‌های مزمن نورودژنراتیو نظیر بیماری آلزایمر، پارکینسون، هانتینگتون و ALS گزارش شده است. سلول‌های عصبی هم از لحاظ آناتومیکی و هم از لحاظ متابولیکی به مقدار زیادی با سلول‌های گلیال در ارتباط هستند. همین ارتباط قوی باعث می‌شود که سلول‌های گلیال نقش عمده‌ای در بقای سلول‌های عصبی در ایسکمی و سمیت تحریکی داشته باشند. از سه نوع سلول‌های گلیال موجود در دستگاه عصبی مرکزی یعنی آستروسیت‌ها، اولیگودندروسیت‌ها و میکروگلیاها، نقش آستروسیت‌ها در سمیت تحریکی و ایسکمی به میزان بیشتری شناسایی شده است. در شرایط مختلف آستروسیت‌ها می‌توانند مرگ نورونی ناشی از سمیت تحریکی را محدود سازند و یا این که در آن مشارکت داشته باشند (۳۸و۳۹).

خارج‌سازی گلوتامات از فضای خارج‌سلولی مهم‌ترین مکانیسم شناخته شده‌ای است که آستروسیت‌ها به‌وسیله آن بقای سلول‌های عصبی را طی دوره ایسکمی تحت تاثیر قرار می‌دهند. پاکسازی گلوتامات ار فضای خارج سلولی عمدتاً به‌وسیله انتقال‌دهنده‌های گلوتاماتی وابسته به سدیم صورت می‌گیرد که در غشای آستروسیت‌ها وجود دارد. دو زیرواحد عمده انتقال‌دهنده‌های گلوتامات در آستروسیت‌ها بیان شده است. این انتقال‌دهنده‌ها برای اولین بار از مغز موش‌های صحرایی کلون شده و تحت عنوان انتقال‌دهنده‌های گلوتامات و آسپارتات گلیال (Glial glutamate and aspartate transporter) (GLAST) و انتقال‌دهنده‌های گلوتامات گلیال (GLT-1) (Glial glutamate transporter) نامگذاری شدند. همولوگ انسانی این انتقال‌دهنده‌ها پروتئین‌های EAAT1 و EAAT2 می‌باشند. در کشت سلول‌های عصبی کورتکس، حساسیت این سلول‌ها در کشت‌های حاوی تعداد اندک آستروسیت‌ها نسبت به گلوتامات ۱۰۰ برابر بیشتر از کشت‌های دارای تعداد زیادی از آستروسیت‌ها می‌باشد (۴۰). این وضعیت حاکی از آنست که برداشتن گلوتامات به‌وسیله آستروسیت‌ها می‌تواند یک عامل محدودکننده در سمیت گلوتامات برای نورون‌ها باشد. ظرفیت برداشتن گلوتامات به‌وسیله آستروسیت‌ها می‌تواند به‌طور دینامیکی تنظیم شود. در کشت‌های نورونی آستروسیت‌ها می‌توانند در پاسخ به افزایش غلظت گلوتامات خارج سلولی به‌سرعت ظرفیت انتقال گلوتامات را از طریق جابجایی انتقال‌دهنده‌های گلوتامات از فضای داخل سلولی به غشای پلاسمایی خود افزایش دهند (۴۱). با توجه به این که تولید انرژی در چنین شرایطی با مشکل مواجهه است؛ این روند نمی‌تواند به‌خوبی از عهده خارج‌سازی گلوتامات در شرایط ایسکمی برآید. به عبارت دیگر ظرفیت انتقال گلوتامات به‌وسیله آستروسیت‌ها کاهش می‌یابد. وقایع کلیدی در مرگ سلول‌های عصبی ناشی از سمیت تحریکی بهم‌خوردن همئوستاز کلسیم داخل سلولی و تولید گونه‌های واکنش‌زای اکسیژن می‌باشد. گونه‌های واکنش‌زای اکسیژن به‌خصوص در شرایط بعد از ایسکمی تشکیل می‌شوند و شامل سوپراکسید، اکسید نیتریک، پراکسی نیتریت و پراکسید هیدروژن هستند. گونه‌های واکنش‌زای اکسیژن مخصوصاً پراکسی نیتریت عملکرد انتقال‌دهنده‌های گلوتامات را تحت تاثیر قرار می‌دهد که احتمالاً از طریق واکنش با گروه‌های اختصاصی سولفیدریل پروتئین خواهد بود. این ترکیبات می‌توانند بسیاری از بخش‌های مهم سلولی را آسیب برسانند که یکی از مهم‌ترین این بخش‌ها آسیب به DNA است که آنهم به نوبه خود باعث مرگ نکروتیک و اپوپتوتیک سلولی می‌شود. آراشیدونیک اسید و اندوتلین-۱ و عنصر روی نیز در زمان ایسکمی آزاد می‌شوند و می‌توانند خارج‌سازی گلوتامات به‌وسیله آستروسیت‌ها را کاهش داده یا مهار کنند (۳۸و۴۲).

البته در سمیت تحریکی به‌واسطه تولیداکسید نیتریک و سوپراکسید فعالیت بعضی نوروترانسمیترهای دیگر مثل آدنوزین نیز کاهش می‌یابد. حدود ۲۰ سال است که آدنوزین به‌عنوان یک ترکیب محافظت‌کننده اعصاب شناخته شده است. اثرآن به‌دلیل هیپرپلاریزاسیون مستقیم سلول‌های عصبی، کاهش آزادسازی گلوتامات و کاهش مقادیرکلسیم داخل سلولی می‌باشد. مطالعات ما روی برش‌های هیپوکامپ نشان داد که اکسیدنیتریک و سوپراکسید باعث کاهش اثرات این ترکیب محافظت کننده نورونی می‌شوند. لذا از این طریق هم ممکن است اثرات آسیب‌رساننده رادیکال‌های آزاد در دستگاه عصبی مرکزی اتفاق افتد (۴۵-۴۳).

بی‌نظمی تاخیری کلسیم

در مواردی که مدت زمان حضور گلوتامات در محیط کشت طولانی بوده است (بیشتر از ۵ دقیقه)؛ افزایش اولیه کلسیم با مرحله دوم افزایش Ca^{2+} داخل سلولی همراه بوده است. این افزایش ثانویه کلسیم داخل سلولی در کشت‌های نورونی طناب نخاعی دیده شده است و تحت عنوان بی‌نظمی تاخیری کلسیم (Delayed calcium deregulation: DCD) خوانده می‌شود (۴۶). بعدها این حالت در کشت‌های نورون‌های کورتکس، استریتوم، هیپوکامپ و مخچه نیز مشاهده شد. جالب توجه این که از دست دادن توانایی نگهداری کلسیم در غلظت پایین در داخل سلول نه‌تنها در زمان حضور گلوتامات اتفاق می‌افتد؛ بلکه در تعدادی از مطالعات معلوم شده است که DCD در نورون‌ها مدتی بعد از اتمام حضور گلوتامات سمی نیز گسترش یافته است (۲و۴۶).

اطلاعات محدودی در باره تاثیر مقادیر بالای کلسیم داخل سلولی روی وقایع داخل سلولی وجود دارد. به‌هرحال افزایش بدون کنترل Ca^{2+} داخل سلول‌های عصبی طی حضور گلوتامات نظیر DCD باعث یکسری وقایع داخل سلولی می‌شود که منجر به مرگ سلولی می‌گردد. نشان داده شده است که DCD ممکن است باعث تغییراتی در ساختمان غشای پلاسمایی گردد. به‌عنوان مثال غشاء پلاسمایی نسبت به رنگ‌های غیرقابل نفوذ، نفوذپذیر می‌شود. علاوه بر این گسترش DCD باعث تغییراتی در شکل هسته و حالت کروماتین می‌شود (۴۷). عامل داخل سلولی دیگر که باعث مرگ سلول‌های عصبی در زمان حضور گلوتامات می‌شود؛ افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و گسترش استرس اکسیداتیو است. در سلول‌های گرانولی مخچه تولید گونه‌های واکنش‌زای اکسیژن به مقدار زیادی بعد از گسترش DCD افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که DCD باعث فعال‌شدن فسفولیپاز A2 ، تشکیل آراشیدونیک اسید و به‌دنبال آن فعال شدن NADPH اکسیداز و تولید O^{2-} می‌شود. بنابراین DCD یکی از سیگنال‌های کلیدی برای افزایش تولید گونه‌های واکنش‌زای اکسیژن بعد از تجویز گلوتامات سمی می‌باشد (۲).

براساس مطالعات Bano و همکاران که در سال ۲۰۰۵ با استفاده از کالپاستاتین (مهارکننده پروتئازهای کالپین)انجام شد؛ مشخص گردید DCD در اثر شکستن و تجزیه یکی از ایزوفرم‌های معاوضه کننده Na^{+}/Ca^{2+} در غشای سلول به‌وسیله کالپین‌ها رخ می‌دهد. به‌علاوه نشان داده شده است که مهار کالپین‌ها طی مدت تجویز گلوتامات Ca^{2+} داخل سلولی را تغییر نمی‌دهد (۴۸). از طرفی براساس مطالعات مختلف Vergun و همکاران در سال ۱۹۹۹ (۴۹) و Alano و همکاران در سال ۲۰۰۲ (۵۰) DCD در نتیجه عدم توانایی میتوکندری برای نگهداری Ca^{2+} رخ می‌دهد. لذا به‌نظر می‌رسد که گسترش DCD سیگنالی برای فعال‌شدن بیشتر کالپین‌ها (احتمالاً در بعضی بخش‌های داخل سلولی) و شکستن ایزوفرم سوم معاوضه کننده Na^{+}/Ca^{2+} می‌شود.

افزایش ورود کلسیم به داخل سیتوپلاسم باعث افزایش یون Ca^{2+} در میتوکندری‌ها نیز می‌شود. یون‌های کلسیم از طریق گرادیان الکتروشیمیایی پروتونی که به‌وسیله زنجیره انتقال الکترون ایجاد می‌شود؛ در ماتریکس میتوکندری از این زنجیره جدا می‌شوند. ورود یون‌های کلسیم گرادیان الکتروشیمیایی را کاهش می‌دهد و در نتیجه باعث کاهش سنتز ATP می‌شود. علاوه بر این سنتز گونه‌های واکنش‌زای اکسیژن در میتوکندری‌ها آنزیم ATPase - Ca^{2+} را مهار می‌کند و لذا توانایی غشاء سلول برای خارج ساختن یون‌های Ca^{2+} را کاهش می‌دهد. این روند به نوبه خود باعث افزایش بیشتر یون‌های Ca^{2+} در میتوکندری‌ها می‌شود. وقتی غلظت به میزان آستانه‌ای برسد؛ منافذ انتقالی نفوذپذیر میتوکندری‌ها به‌طور غیرقابل برگشتی باز می‌شوند. آنگاه آزادسازی بیشتر کلسیم، سیتوکروم C و عامل فعال‌کننده پلاکت‌ها از میتوکندری‌ها باعث جداشدن زنجیره انتقال الکترونی میتوکندری از سنتز ATP می‌شود. آزادسازی Ca^{2+} از میتوکندری‌ها باعث فعال‌شدن کالپین‌ها، اندونوکلئوازها و نیتریک اکسید سینتاز وابسته به کلسیم – کالمودولین می‌شود. اکسیدنیتریک هم باعث آسیب به DNA می‌شود (۵۱).

ترکیبات مختلفی نظیر آنتاگونیست‌های گیرنده‌های NMDA، مهارکننده‌های آزادسازی گلوتامات، آنتی‌اکسیدان‌ها، پاروکننده‌های رادیکال‌های آزاد و مهارکننده‌های آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز در برابر سمیت تحریکی دارای اثر محافظت کننده نورونی بوده‌اند. با این حال تعداد محدودی از این ترکیبات در درمان اختلالات عصبی ناشی از سمیت تحریکی موفقیت‌آمیز بوده‌اند. به همین دلیل اخیراً هدف‌های متناوب دیگری برای کاهش آسیب‌های سمیت تحریکی مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند که یکی از مهم‌ترین آنها معاوضه کننده‌های سدیم-کلسیم می‌باشد.

معاوضه کننده سدیم-کلسیم و سمیت تحریکی

یکی از راه‌های جدید و متناوب برای کاهش سمیت تحریکی که اخیراً مورد توجه قرار گرفته است؛ پروتئین غشایی معاوضه کننده سدیم-کلسیم (NCX) (Sodium-calcium exchanger) است. این پروتئین در غشای سلولی، میتوکندری‌ها و شبکه آندوپلاسمی وجود دارد و یک یون کلسیم را در ازای سه یون سدیم جابجا می‌کند. در شرایط فیزیولوژیک مهم‌ترین عامل فعال‌کننده این معاوضه‌کننده‌ها

اختلاف غلظت یون‌های سدیم است که به‌وسیله پمپ سدیم/ پتاسیم ایجاد می‌شود. با این حال برای حرکت یون‌ها برگشت‌پذیر است و غلظت بالای یون‌های Na^+ در داخل سلول می‌تواند باعث ورود Ca^{2+} و خروج Na^+ از سلول گردد. در شرایط سمیت تحریکی ورود یون‌های Na^+ از طریق گیرنده‌های NMDA ممکن است برای عملکرد معکوس NCX کفایت کند تا باعث تجمع کلسیم در سلول‌های عصبی گردد. این پدیده زمانی رخ می‌دهد که پمپ سدیم/ پتاسیم غیرفعال باشد. تحقیقات مختلف عنوان می‌کنند که NCX در ایسکمی دارای نقش دوگانه است. در اختلالات شدید که پمپ سدیم/ پتاسیم غیرفعال است؛ مهار NCX ، ممکن است مانع ورود کلسیم به داخل سلول و در نتیجه دیپلاریزاسیون شدید سلول شود. اما در اختلالات خفیف ممکن است لازم باشد تا NCX همئوستاز کلسیم را تا زمانی که پمپ سدیم/ پتاسیم به برقراری اختلاف غلظت Na^+ کمک می‌کند؛ برقرار سازد. براساس مطالعات انجام شده روی حیوانات آزمایشگاهی استفاده از مهارکننده‌های NCX هم دارای اثرات محافظت‌کننده نورونی و هم بدتر کردن وضعیت سکته بعد از ایجاد آن بوده است. بنابراین مطالعات بیشتری باید صورت گیرد تا مشخص شود که مهارکننده‌های NCX در چه شرایطی اثرات محافظت کننده نورونی و در چه شرایطی اثرات تخریب کننده نورونی را به‌همراه خواهند داشت (۵۲و۵۳).

اختلال در عملکرد انتقال‌دهنده‌های گلوتامات و بیماری‌های عصبی

ارتباط بین کاهش یا از دست دادن انتقال دهنده‌های گلوتامات و افزایش مقادیر گلوتامات خارج سلولی و اثرات نوروتوکسیک آن را به روش‌های مختلفی می‌توانیم مورد بررسی قرار دهیم. مهم‌ترین روش تولید موش‌های تراریخت (knock out) می‌باشد که فاقد زیرواحدهای خاصی از انتقال دهنده‌های گلوتامات باشند. چنین موش‌هایی در مطالعات زیادی بررسی شده‌اند و در اثر آن فنوتیپ‌های متعددی از قبیل تشنج‌ها، از دست دادن تعادل حرکتی و اختلال در متابولیسم اسیدآمینه رخ داده است (۵۴).

روش دیگر برای مطالعه کاهش انتقال‌دهنده‌های گلوتامات استفاد از روش آنتی‌سنس الیگونوکلئوتیدها می‌باشد تا انتقال دهنده‌های گلوتامات را در حیوانات بالغ کاهش دهیم. کاهش بعضی از زیرواحدهای انتقال‌دهنده‌های گلوتامات به این روش باعث مدل‌هایی از بیماری‌های عصبی نظیر ALS و صرع شده است که در واقع به‌دلیل افزایش گلوتامات در فضای سیناپس و اثرات سمی متعاقب آن رخ داده است. سیستم‌های کشت سلولی هم شواهد جدیدی فراهم کرده است که نشان می‌دهد گونه‌های واکنش‌زای اکسیژن در مهار فعالیت انتقال‌دهنده‌های های گلوتامات نقش دارد. در اثر این مهار فعالیت گلوتامات خارج سلولی افزایش می‌یابد و از طرفی در اثر فعال‌سازی گیرنده‌های گلوتامات یکسری واکنش‌های آبشاری شروع می‌شوند که به نوبه خود باعث افزایش بیشتر تشکیل گونه‌های واکنش‌زای اکسیژن می‌شود. مدل‌های هیپوکسیک نیز در تحقیقات ایجاد شده‌اند که نشان می‌دهند؛ نقصان یا تخلیه مقادیر ATP باعث کاهش فعالیت انتقال‌دهنده‌های گلوتامات شده و در واقع منجر به حرکت برعکس گلوتامات و خروج گلوتامات به طرف فضای سیناپس می‌شود. این پروسه سبب بروز اثرات نوروتوکسیک گلوتامات می‌شود و ممکن است در افزایش مرگ سلولی نقش داشته باشد (۱۰).

کاربرد انتقال‌دهنده‌های گلوتامات برای تشخیص و درمان بیماری‌های عصبی

Lin و همکاران در سال ۱۹۹۸ مشخص کردند که قطعات جهش‌یافته mRNA در مایع مغزی نخاعی ۶۶ درصد از بیماران مبتلا به ALS وجود داشته است؛ ولی در گروه کنترل مبتلا به سایر بیماری‌ها و بیماری‌های غیرعصبی وجود نداشته است. جالبتر این که این قطعات جهش‌یافته در مراحل اولیه بیماری قابل تشخیص بودند. لذا با استفاده از PCR و نمونه‌گیری مایع مغزی نخاعی امکان تشخیص به موقع بیماری فراهم خواهد بود (۵۵). در مراحل درمانی هم اخیراً تعدادی از پروتئین‌ها شناسایی شده‌اند که انتقال‌دهنده‌های گلوتامات را تنظیم می‌کنند. به نظر می‌رسد این پروتئین‌ها در تحریک یا مهار انتقال‌دهنده‌های گلوتامات قدرت بالایی دارند. انجام تحقیقات بیشتر روی این پروتئین‌ها ممکن است روش‌های درمانی جدید برای تنظیم انتقال گلوتامات و اثرات درمانی مناسب را فراهم نماید. بخش اعظم جهت‌گیری‌های آینده ممکن است روی تولید اگونیست‌های انتقال‌دهنده‌های گلوتامات متمرکز باشد تا

افزایش خارج‌سازی گلوتامات از فضای سیناپس. استفاده از ژن‌درمانی برای رساندن ژن‌های مناسب به سلول‌های خاصی با سرعت زیادی در حال گسترش است. ژن‌درمانی برای بیان بیشتر انتقال‌دهنده‌های گلوتامات به سلول‌های هدف خاصی ممکن است؛ به‌کار گرفته شود. لذا انتقال گلوتامات از فضای خارج‌سلولی به افزایش تعداد انتقال‌دهنده‌های گلوتامات در سلول‌های عصبی و گلیال امکان‌پذیر خواهد بود (۱۰و۱۱).

استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها برای جلوگیری از آسیب انتقال‌دهنده‌های گلوتامات نیز ممکن است؛ روش هیجان‌انگیزی برای جلوگیری از تجمع گلوتامات در سیناپس باشد. به هر حال مطالعه این انتقال دهنده‌ها در آغاز راه است و شناخت بیولوژی آنها برای گسترش روش‌های مناسب تنظیم فعالیت این انتقال‌دهنده‌ها در آینده از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخورداراست (۵۶و۵۷).

نتیجه‌گیری

گلوتامات نوروترانسمیتر تحریکی عمده در دستگاه عصبی مرکزی پستانداران است و در مکانیسم‌های انعطاف‌پذیری سیناپسی، حافظه و مرگ سلول‌های عصبی و گلیال اهمیت ویژه‌ای دارد. در شرایطی که مقادیر گلوتامات خارج سلولی در دستگاه عصبی مرکزی از مقادیر نرمال بالاتر رود؛ گیرنده‌های گلوتامات را بیش از حد فعال می‌کند و باعث شروع یکسری وقایع داخل سلولی در نورون پس‌سیناپسی و سلول‌های مجاور سیناپس می‌شود که نهایتاً منجر به مرگ سلول‌های مذکور از طریق سمیت تحریکی می‌گردد. این سمیت تحریکی منجر به بروز تعدادی از بیماری‌های نورودژنراتیو می‌شود. عنوان می‌شود که اختلال در فعالیت انتقال‌دهنده‌های گلوتامات و از جمله کاهش انتقال‌دهنده‌های گلوتامات در مرگ سلول‌های عصبی و گلیال طی دوره سمیت تحریکی از اهمیت بالایی برخوردار است. البته این انتقال‌دهنده‌ها با انتقال‌دهنده‌های وزیکولی که گلوتامات را به وزیکول‌های سیناپسی منتقل می‌کنند؛ کاملاً متفاوت هستند. شناسایی انتقال‌دهنده‌های مختلف گلوتامات و مکانیسم‌های تنظیم عملکرد و بیان انتقال‌دهنده‌های مذکور به شناخت بهتر پاتولوژی بیماری‌های عصبی مختلف کمک خواهد کرد. به‌علاوه توسعه روش‌های درمانی که انتقال‌دهنده‌های گلوتامات به‌عنوان جایگاه هدف آنها باشد؛ نویدبخش یافتن راه‌های مؤثری برای درمان اختلالات مختلف عصبی نظیر سکته، صرع، اسکیزوفرنی، بیماری آلزایمر و ALS خواهد بود که در سال‌های اخیر مورد توجه زیادی قرار گرفته است.

References

1. Farooqui A, Ong WY, Horrocks L. Neurochemical aspects of excitotoxicity. Chap 1. 1st. New York: Spriger-verlag. 2008; pp:3-20.

2. Bolshakov AP. Glutamate neurotoxicity: Perturbations of ionic homeostasis, mitochondrial dysfunction, and changes in cell functioning. Neurochemical Journal. 2008; 2(3): 135-45.

3. Waagepetersen HS, Sonnewald U, Schousboe A. Glutamine, glutamate, and GABA: metabolic aspects. In: Oja SS, Saransaari P, Schousboe A. Handbook of neurochemistry and molecular neurobiology, amino acids and peptides in the nervous system. Chap 1. 3rd. New York: Springer Science and Business media LLC. 2007; pp: 2-21.

4. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. Pharmacology. 5th. London: Churchill Livingston. 2003; pp: 490-502.

5. Niswender CM, Conn PJ. Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2010;50:295-322.

6. Shahraki A, Stone TW. Interactions between adenosine and metabotropic glutamate receptors in the rat hippocampal slice. Br J Pharmacol. 2003 Mar;138(6):1059-68.

7. Shahraki A. [Ionotropic Glutamate Receptors and their Role in Neurological Diseases]. J Kerman Univ Med Sci 2010;17(4): 361-78. [Article in Persian]

8. Sattler R, Xiong Z, Lu WY, Hafner M, MacDonald JF, Tymianski M. Specific coupling of NMDA receptor activation to nitric oxide neurotoxicity by PSD-95 protein. Science. 1999 Jun; 284(5421):1845-8.

9. Beart PM, O'Shea RD. Transporters for L-glutamate: an update on their molecular pharmacology and pathological involvement. Br J Pharmacol. 2007 Jan;150(1):5-17.

10. Maragakis NJ, Rothstein JD. Glutamate transporters in neurologic disease. Arch Neurol. 2001 Mar;58(3):365-70.

11. Bridges RJ, Patel SA. Pharmacology of Glutamate Transport in the CNS: Substrates and Inhibitors of Excitatory Amino Acid Transporters (EAATs) and the Glutamate/Cystine Exchanger System xc-. In: Napier S, Bingham M. Topics in Medicinal Chemistry: Transporters as Targets for Drugs. New York: Springer. 2009; pp: 187-222.

12. Kurbat MN. L-glutamate: A modern view on a well-known amino acid. Neurochem J. 2009; 3(3): 173-8.

13. McKenna MC, Hopkins IB, Lindauer SL, Bamford P. Aspartate aminotransferase in synaptic and nonsynaptic

mitochondria: differential effect of compounds that influence transient hetero-enzyme complex (metabolon) formation. Neurochem Int. 2006 May-Jun;48(6-7):629-36.

14. Bellocchio EE, Reimer RJ, Fremeau RT Jr, Edwards RH. Uptake of glutamate into synaptic vesicles by an inorganic phosphate transporter. Science. 2000 Aug; 289(5481):957-60.

15. Bauer D, McCullmsmith RE, Meador-Woodruff JH. A role for glutamate receptors, transporters, and interacting proteins in cortical dysfunction in schizophrenia. In: O'Donell P. Cortical deficits in schizophrenia from genes to function. Chap 6. 1st. New York: Springer Science and Business media LLC. 2008; pp:113-48.

16. De A, Krueger JM, Simasko SM. Glutamate induces the expression and release of tumor necrosis factor-alpha in cultured hypothalamic cells. Brain Res. 2005 Aug 16;1053(1-2):54-61.

17. O'Shea RD. Roles and regulation of glutamate transporters in the central nervous system. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2002 Nov;29(11):1018-23.

18. Bridges RJ, Esslinger CS. The excitatory amino acid transporters: pharmacological insights on substrate and inhibitor specificity of the EAAT subtypes. Pharmacol Ther. 2005 Sep; 107(3):271-85.

19. Pow DV, Barnett NL. Developmental expression of excitatory amino acid transporter 5: a photoreceptor and bipolar cell glutamate transporter in rat retina. Neurosci Lett. 2000 Feb; 280(1):21-4.

20. Lim J, Lam YC, Kistler J, Donaldson PJ. Molecular characterization of the cystine/glutamate exchanger and the excitatory amino acid transporters in the rat lens. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2005 Aug;46(8):2869-77.

21. Danbolt NC. Glutamate uptake. Prog Neurobiol. 2001 Sep; 65(1):1-105.

22. Boudker O, Ryan RM, Yernool D, Shimamoto K, Gouaux E. Coupling substrate and ion binding to extracellular gate of a sodium-dependent aspartate transporter. Nature. 2007 Jan; 445(7126):387-93.

23. Groeneveld M, Slotboom DJ. Na(+):aspartate coupling stoichiometry in the glutamate transporter homologue Glt(Ph). Biochemistry. 2010 May; 49(17):3511-3.

24. Jiang J, Amara SG. New views of glutamate transporter structure and function: advances and challenges. Neuropharmacology. 2011 Jan;60(1):172-81.

25. Shigeri Y, Shimamoto K, Yasuda-Kamatani Y, Seal RP, Yumoto N, Nakajima T, et al. Effects of threo-beta-hydroxyaspartate derivatives on excitatory amino acid transporters (EAAT4 and EAAT5). J Neurochem. 2001 Oct;79(2):297-302.

26. Rasmussen BA, Baron DA, Kim JK, Unterwald EM, Rawls SM. β-Lactam antibiotic produces a sustained reduction in extracellular glutamate in the nucleus accumbens of rats. Amino Acids. 2011 Feb;40(2):761-4.

27. Bender AS, Reichelt W, Norenberg MD. Characterization of cystine uptake in cultured astrocytes. Neurochem Int. 2000 Aug-Sep;37(2-3):269-76.

28. Oliveira KR, Herculano AM, Crespo-López ME, do Nascimento JL. Pharmacological characterization of glutamate Na+-independent transport in retinal cell cultures: implications in the glutathione metabolism. Neurochem Int. 2010 Jan;56(1):59-66.

29. Sato H, Tamba M, Ishii T, Bannai S. Cloning and expression of a plasma membrane cystine/glutamate exchange transporter composed of two distinct proteins. J Biol Chem. 1999 Apr; 274(17):11455-8.

30. Sato H, Tamba M, Okuno S, Sato K, Keino-Masu K, Masu M, et al. Distribution of Cystine/Glutamate Exchange Transporter, System xc−, in the Mouse Brain. J Neurosci. 2002 Sep; 22(18):8028-33.

31. Palacín M, Estévez R, Bertran J, Zorzano A. Molecular biology of mammalian plasma membrane amino acid transporters. Physiol Rev. 1998 Oct;78(4):969-1054.

32. McBean GJ. Cerebral cystine uptake: a tale of two transporters. Trends Pharmacol Sci. 2002 Jul;23(7):299-302.

33. Wang GJ, Chung HJ, Schnuer J, Pratt K, Zable AC, Kavanaugh MP, High affinity glutamate transport in rat cortical neurons in culture. Mol Pharmacol. 1998 Jan;53(1):88-96.

34. Frade J, Pope S, Schmidt M, Dringen R, Barbosa R, Pocock J,et al. Glutamate induces release of glutathione from cultured rat astrocytes--a possible neuroprotective mechanism? J Neurochem. 2008 May;105(4):1144-52.

35. Rathbun WB, Bovis MG. Activity of glutathione peroxidase and glutathione reductase in the human lens related to age. Curr Eye Res. 1986 May;5(5):381-5.

36. Liguz-Lecznar M, Skangiel-Kramska J. Vesicular glutamate transporters (VGLUTs): the three musketeers of glutamatergic system. Acta Neurobiol Exp (Wars). 2007;67(3):207-18.

37. Chen JC, Hsu-Chou H, Lu JL, Chiang YC, Huang HM, Wang HL, et al. Down-regulation of the glial glutamate transporter GLT-1 in rat hippocampus and striatum and its modulation by a group III metabotropic glutamate receptor antagonist following transient global forebrain ischemia. Neuropharmacology. 2005 Oct; 49(5):703-14.

38. Kauppinen TM, Swanson RA. The role of Glia in excitotoxicity and stroke. In: Lajtha A, Chan PH. Handbook of neurochemistry and molecular neurobiology. Chap 9. 3rd. Heidelberg: Springer-Verlag. 2007; p:B9.

39. Sattler R, Rothstein JD. Regulation and dysregulation of glutamate transporters. Handb Exp Pharmacol. 2006;(175):277-303.

40. Rosenberg PA, Aizenman E. Hundred-fold increase in neuronal vulnerability to glutamate toxicity in astrocyte-poor cultures of rat cerebral cortex. Neurosci Lett. 1989 Aug; 103(2):162-8.

41. Robinson MB. Regulated trafficking of neurotransmitter transporters: common notes but different melodies. J Neurochem. 2002 Jan;80(1):1-11.

42. Nørgaard-Nielsen K, Gether U. Zn2+ modulation of neurotransmitter transporters. Handb Exp Pharmacol. 2006; (175):1-22.

43. Stone TW. Adenosine, neurodegeneration and neuroprotection. Neurol Res. 2005 Mar;27(2):161-8.

44. Shahraki A, Stone TW. Blockade of presynaptic adenosine A1 receptor responses by nitric oxide and superoxide in rat hippocampus. Eur J Neurosci. 2004 Aug; 20(3):719-28.

45. Shahraki A, Fukunari A, Stone TW. The mechanism of inhibition by xanthine of adenosine A1-receptor responses in rat hippocampus. Neurosci Lett. 2004 Jul 29;365(3):162-6.

46. Ward MW, Rehm M, Duessmann H, Kacmar S, Concannon CG, Prehn JH. Real time single cell analysis of Bid cleavage and Bid translocation during caspase-dependent and neuronal caspase-independent apoptosis. J Biol Chem. 2006 Mar 3;281(9):5837-44.

47. Vesce S, Kirk L, Nicholls DG. Relationships between superoxide levels and delayed calcium deregulation in cultured cerebellar granule cells exposed continuously to glutamate. J Neurochem. 2004 Aug;90(3):683-93.

48. Bano D, Young KW, Guerin CJ, Lefeuvre R, Rothwell NJ, Naldini L,et al. Cleavage of the plasma membrane Na+/Ca2+ exchanger in excitotoxicity. Cell. 2005 Jan 28;120(2):275-85.

49. Vergun O, Keelan J, Khodorov BI, Duchen MR. Glutamate-induced mitochondrial depolarisation and perturbation of calcium homeostasis in cultured rat hippocampal neurones. J Physiol. 1999 Sep; 519 Pt 2:451-66.

50. Alano CC, Beutner G, Dirksen RT, Gross RA, Sheu SS. Mitochondrial permeability transition and calcium dynamics in striatal neurons upon intense NMDA receptor activation. J Neurochem. 2002 Feb;80(3):531-8.

51. Bauer D, McCullusmith RE, Meador-Woodruff JH. Possible mechanisms of neural injury caused by glutamate and its receptors. In: Farooqui A, Ong WY, Horrochs L. Neurochemical aspects of excitotoxicity. Chap 7. 1st. New York: Spriger-verlag. 2008; pp:137-60.

52. Lau A, Tymianski M. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. Pflugers Arch. 2010 Jul;460(2):525-42.

53. Pignataro G, Tortiglione A, Scorziello A, Giaccio L, Secondo A, Severino B, et al. Evidence for a protective role played by the Na+/Ca2+ exchanger in cerebral ischemia induced by middle cerebral artery occlusion in male rats. Neuropharmacology. 2004 Mar; 46(3):439-48.

54. Tanaka K, Watase K, Manabe T, Yamada K, Watanabe M, Takahashi K,et al. Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1. Science. 1997 Jun; 276(5319):1699-702.

55. Lin CL, Bristol LA, Jin L, Dykes-Hoberg M, Crawford T, Clawson L, Rothstein JD. Aberrant RNA processing in a neurodegenerative disease: the cause for absent EAAT2, a glutamate transporter, in amyotrophic lateral sclerosis. Neuron. 1998 Mar;20(3):589-602.

56. Janaky R, Cruz-Aguado R, Oja SS, Shaw CA. Gluthation in the nervous system: roles in neural function and health and implications for neurological disease. In: Oja SS, Saransaari P, Schousboe A. Handbook of neurochemistry and molecular neurobiology, Amino acids and peptides in the nervous system. 3rd. New York: Springer Science and business media LLC. 2007; pp: 347-400.

57. Mysona B, Dun Y, Duplantier J, Ganapathy V, Smith SB. Effects of hyperglycemia and oxidative stress on the glutamate transporters GLAST and system xc- in mouse retinal Müller glial cells. Cell Tissue Res. 2009 Mar;335(3):477-88.