

## Células gliales y actividad sináptica: control traduccional del acople metabólico

Esther López-Bayghen, Arturo Ortega

**Introducción.** Consideradas tradicionalmente como células de soporte, las células gliales constituyen la inmensa mayoría de las células cerebrales al superar en número a las neuronas por un factor de diez. Poco se conoce de su participación en la fisiología cerebral, a pesar de su ubicación privilegiada, envolviendo las sinapsis. Las células de la estirpe glial participan en la formación de la denominada barrera hematoencefálica y representan una conexión entre la concentración de metabolitos en el compartimiento sistémico y el líquido cefalorraquídeo.

**Desarrollo.** En este artículo analizamos los fenómenos moleculares desencadenados por el ácido glutámico en las células gliales y su participación en el acople metabólico establecido entre estas células y las neuronas.

**Conclusiones.** El control de la traducción selectiva de ARN mensajero constituye la base molecular del acople entre la liberación sostenida de glutamato, la captura de este neurotransmisor y la producción y liberación de glutamina por las células gliales.

**Palabras clave.** Acople metabólico. Glía. Glutamato. Receptores. Traducción. Transportadores.

### Introducción

Menospreciadas durante décadas, las células gliales constituyen la población celular más abundante del sistema nervioso central. Su localización, como interfase entre los vasos sanguíneos y las neuronas, así como la expresión de receptores y transportadores para neurotransmisores, ha llevado a postular su participación en la función sináptica. Hoy día existe una nueva perspectiva de la función cerebral que reconoce que las neuronas son algo más que generadores de ráfagas de información y que se comunican a través de potenciales graduales. Más importante aún es que el concepto de las células gliales como reguladoras del microambiente neuronal ha ido evolucionando al concepto de células capaces de comunicarse entre sí y con las neuronas de una manera dinámica y cooperativa [1].

Durante el desarrollo, las células gliales participan en la regulación del crecimiento neuronal, la diferenciación y la sinaptogénesis. Esta interacción persiste en la etapa adulta ya que las células gliales son capaces de responder a las corrientes iónicas y a la mayoría de los neurotransmisores, además de que están acopladas eléctricamente vía uniones comunicantes. Al regular las concentraciones extracelulares de  $K^+$  provocan cambios sutiles en los potenciales de membrana de las neuronas que circundan. Concomitantes con los flujos de  $K^+$ , los flujos de  $H^+$  (pH) y  $Ca^{2+}$  son candidatos a participar en la comunicación glía-neurona [2].

La asociación de las células gliales con los vasos sanguíneos, que aportan los sustratos energéticos y remueven los metabolitos, permite postular a estas células como reguladores potenciales de la función cerebral porque expresan de manera exclusiva enzimas para el almacenamiento de energía, la regulación del pH y el manejo del neurotransmisor glutamato [3]. Al demostrarse la expresión de la mayoría de los receptores a neurotransmisores en las células gliales, se ha fortalecido el concepto de su papel como detectores de la actividad sináptica. No obstante, la localización y presencia de receptores gliales no es evidencia absoluta de su participación en la transmisión sináptica; sin embargo, al menos en el caso concreto del neurotransmisor glutamato, las células gliales participan en la remoción del neurotransmisor del espacio sináptico y en su reciclaje [4].

Se requiere la expresión diferencial de genes para la plasticidad sináptica. El concepto de plasticidad se refiere a la capacidad de responder de manera diferente a un mismo estímulo de acuerdo con una estimulación previa. En esta propiedad se fundamentan los mecanismos moleculares de las funciones superiores. En este contexto, es bien conocido que tanto la traducción como la transcripción son esenciales para el establecimiento de la memoria a largo plazo [5]. Aunque la mayoría de los estudios se han enfocado a la regulación de la transcripción, el control de la traducción de los ARN mensajeros (ARNm) es imprescindible para los cambios plásticos de larga duración, tal como sucede en la potenciación a largo

Departamento de Genética y Biología Molecular. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional. México DF, México.

#### Correspondencia:

Dr. Arturo Ortega. Departamento de Genética y Biología Molecular. CINVESTAV-IPN. Apartado Postal 14-740. México DF, 07360, México.

#### E-mail:

arortega@cinvestav.mx

#### Aceptado tras revisión externa:

18.03.10.

#### Cómo citar este artículo:

López-Bayghen E, Ortega A. Células gliales y actividad sináptica: control traduccional del acople metabólico. Rev Neurol 2010; 50: 607-15.

© 2010 Revista de Neurología

plazo [6]. El control traduccional ofrece la ventaja de responder rápidamente a los estímulos extracelulares y favorece la síntesis de proteínas de manera selectiva; además, funciona como un interruptor energético porque la traducción es la función celular que más energía demanda, por lo que su regulación implica un nuevo balance energético [7].

En los últimos años, utilizando el sistema de cultivos primarios de células gliales de Bergmann de cerebelo de embriones de pollo, hemos podido establecer que las células gliales se activan a consecuencia de la actividad glutamatérgica. El neurotransmisor desencadena una serie de fenómenos moleculares encaminados a preservar el flujo de información entre las neuronas a las que envuelven. En la presente comunicación, revisamos estos fenómenos y los presentamos en el contexto de las células gliales en general y de la neurotransmisión glutamatérgica en particular.

### Células gliales

Existen dos tipos de células gliales: microglía y macroglía. Las células macrogliales comprenden los oligodendrocitos y los astrocitos. Los oligodendrocitos son células especializadas en la formación de la capa de mielina que rodea los axones de algunas neuronas. Por su parte, los astrocitos participan en la formación de la barrera hematoencefálica, la supervivencia y la diferenciación neuronales, la regulación de la concentración de iones, el volumen extracelular, la regeneración, la migración neuronal y la captura de glucosa, entre otras muchas funciones [2]. En las primeras etapas del desarrollo, la denominada glía radial es uno de los primeros tipos gliales en aparecer. Estas células presentan una morfología bipolar y expresan marcadores específicos como tenascina y vimentina, fundamentales para determinar los patrones de migración neuronal [8]. A partir del nacimiento, estas células inician un proceso denominado 'conversión astrocítica', pierden su morfología bipolar, además de la expresión de vimentina, y aumenta la expresión de la proteína ácida fibrilar de la glía (GFAP). Esta conversión es reversible y regulada por factores secretados por las neuronas [9].

Tanto en el cerebelo como en la retina hay poblaciones de glía radial que permanecen en el individuo adulto: las células de Müller en la retina y las células de Bergmann en el cerebelo [10]. Ambos tipos celulares rodean sinapsis glutamatérgicas; las células de Müller circundan dos sinapsis, las establecidas entre las células bipolares y el fotorreceptor, y las formadas por las células ganglionares y las

mencionadas células bipolares [11]. Por otra parte, las células de Bergmann envuelven las sinapsis formadas por los axones de las células granulares (también llamadas fibras paralelas) y las dendritas de las células de Purkinje [12].

### Acople metabólico neurona-glía

La glucosa proveniente de la sangre representa la principal fuente de energía para el cerebro y, por ende, es el componente energético del cual depende la actividad neuronal. Esta aseveración ha sido la base para el dogma del metabolismo cerebral durante décadas. La expresión de los transportadores de glucosa en todos los tipos celulares del cerebro ha apoyado este principio. Las células endoteliales que forman los capilares, al igual que los astrocitos, expresan el transportador de glucosa GLUT-1. Las neuronas expresan el transportador de glucosa GLUT-3. No obstante, en algunas circunstancias, otras sustancias pueden servir como fuentes alternas o bien complementarias de energía para las células del cerebro. Entre esas sustancias se encuentran los monocarboxilatos, que incluyen lactato, piruvato y cuerpos cetónicos como el acetoacetato y el  $\beta$ -hidroxibutirato. Desde hace algunos años se ha comprobado que los monocarboxilatos pueden representar una fuente de energía, principalmente durante el desarrollo cerebral [13]. Incluso se ha sugerido que el lactato puede ser formado en el parénquima cerebral por las células gliales de acuerdo con la actividad sináptica y ser utilizado eficientemente por las neuronas. Este acople se ha denominado 'lanzadera astrocito/neurona/lactato' y, por medio de ésta, las células gliales proveen a las neuronas de energía suplementaria en períodos de intensa actividad o bien en episodios de hipoglicemia [14].

La capacidad de las células gliales para liberar cantidades elevadas de lactato fue comunicada por Walz y Mukerji en 1990 [15]. Posteriormente, Dringen et al, en 1993, informaron que el lactato liberado por las células gliales es utilizado por las neuronas. Paralelamente, se demostró que el glutamato estimula la glicólisis [16]. De manera relevante se probó que este efecto es mediado por los transportadores GLAST y GLT-1 y la subunidad  $\alpha_2$  de la ATPasa de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , que se expresa de manera selectiva en los procesos que rodean a las sinapsis [17].

Desde el punto de vista metabólico, el lactato es el compuesto final de la ruta y únicamente puede utilizarse como fuente de energía al convertirlo en piruvato, una reacción catalizada por la lactato deshidrogenasa (LDH), de la que existen diferentes

isoformas (1 a la 5). La isoforma más eficiente en catalizar la producción de piruvato es la LDH tipo 1 expresada en neuronas. En las células productoras de lactato, como las células musculares y las células gliales, se expresa la LDH tipo 5 [18]. El transporte de lactato es mediado por una familia de 14 diferentes transportadores de monocarboxilatos, de los cuales sólo se ha demostrado la capacidad de transporte en los primeros cuatro miembros, identificados por las siglas MCT-1 a 4 [19].

## Receptores glutamatérgicos

El ácido glutámico es el principal neurotransmisor excitador en el sistema nervioso central. Está presente en prácticamente todas las áreas del cerebro y sus receptores se encuentran ampliamente distribuidos y expresados en la gran mayoría de las células gliales del cerebro. Aunque su participación en la neurotransmisión resulta controvertida, es evidente que estos receptores se activan durante la transmisión sináptica [20].

La activación de los receptores glutamatérgicos origina cambios en la fisiología celular a corto, medio y largo plazo. A corto plazo, la permeabilidad membranar cambia, por lo que hay un flujo diferencial de iones; a medio plazo, múltiples sistemas enzimáticos se alteran y la tasa de traducción de algunos ARNm cambia; a largo plazo, la transcripción de genes se modifica. La ocurrencia de estos fenómenos depende en gran medida de la cinética de activación de los receptores, así como de la remoción del neurotransmisor, tarea de los sistemas de captura de glutamato de alta afinidad, dependientes de sodio y que se expresan tanto en neuronas como en células gliales. La ocupación de los receptores a glutamato modifica el patrón de expresión de genes y, por tanto, el repertorio proteico celular al controlar la transcripción y el proceso de la traducción. Es evidente que la actividad sináptica está ligada a la regulación de la expresión genética tanto en neuronas como en células gliales, y que estos patrones de expresión diferencial de genes en respuesta a la actividad participan en el establecimiento de las denominadas funciones superiores, como el aprendizaje y la memoria [21].

Los receptores glutamatérgicos se han dividido en dos grandes grupos de acuerdo con su estructura y el sistema de traducción empleado. Los receptores ionotrópicos están formados por 4-5 subunidades que constituyen un canal iónico, mientras que los receptores metabotrópicos constan de una sola subunidad; recientemente se ha demostrado la

formación de dímeros que se encuentran acoplados a proteínas G triméricas [22].

Los receptores ionotrópicos se han subdividido según sus propiedades electrofisiológicas, farmacológicas y la homología entre sus secuencias en subfamilias. La primera subdivisión depende de un criterio farmacológico bien establecido, su activación por el N-metil-D-aspartato (NMDA). Este criterio, conformado a mediados de la década de los cincuenta, concuerda perfectamente con el criterio molecular; sin embargo, la variedad molecular y el ensamblaje diferencial de las subunidades que componen estos receptores rebasa ampliamente la variedad farmacológica. Molecularmente se han descrito tres subfamilias de receptores NMDA y tres de receptores no NMDA [22].

Los receptores NMDA son canales iónicos abiertos por ligando y regulados por voltaje. En condiciones de reposo, el canal está bloqueado por  $Mg^{2+}$  de una manera dependiente de voltaje. Además, el canal requiere glicina para activarse eficientemente; asimismo es regulado por poliaminas y  $Zn^{2+}$ . Los receptores NMDA están formados por cuatro subunidades y por lo menos una de estas subunidades debe ser la subunidad NR1 [22].

Los receptores no NMDA están formados por dos subgrupos, los receptores al ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-isoxazol propiónico (AMPA) y los receptores kainato (KA). La familia de los receptores AMPA está formada por cuatro subunidades denominadas GluR1, GluR2, GluR3 y GluR4. Estas subunidades pueden ensamblarse entre sí y generar canales con diferentes propiedades electrofisiológicas. Además, cada subunidad presenta dos variantes de corte y empalme alternativo, las isoformas denominadas *flip/flop*. Por otra parte, el ARNm de la subunidad GluR2 puede ser editado por la adenosina deaminasa tipo 2 (ADAR2), cuyo sustrato es una adenosina no apareada en una estructura del ARN que no presenta estructura de dúplex. La desaminación de la adenina la transforma en inosina, con la consecuente modificación del anticodón correspondiente, lo que durante el proceso de la traducción origina el cambio de una glutamina por un arginina en el segmento reentrante TMII y provoca un cambio en la selectividad del poro iónico, haciendo que el canal sea más permeable a sodio. Es de esta manera que los receptores que contienen al menos una subunidad GluR2 son preferentemente permeables a sodio [22].

Los receptores KA están constituidos por dos subfamilias, los receptores KA de baja afinidad y los receptores KA de alta afinidad. Las subunidades GluR5, GluR6 y GluR7 constituyen los receptores de

baja afinidad, ya que en ensayos de unión de [ $^3\text{H}$ ]-KA presentan una constante de afinidad de alrededor de 80 nM. Al coensamblarse, éstos forman canales iónicos funcionales. Dentro de esta familia génica se encuentra la denominada proteína de unión a KA (KBP), que no forma canales funcionales ni al coensamblarse con las otras subunidades. Los receptores de alta afinidad corresponden a las subunidades KA-1 y KA-2, que en ensayos de unión presentan una afinidad de 5 nM, pero que por sí solas no forman canales funcionales. Sin embargo, al coexpresarse con las subunidades GluR5, GluR6 o GluR7, cambian los parámetros cinéticos del canal iónico, por lo que se dice que son subunidades moduladoras [23].

Los receptores metabotrópicos son proteínas de siete segmentos transmembranales acoplados a proteínas G y presentan un extremo aminoterminal extenso. La homología con otros receptores acoplados a proteínas G (GPCR) es baja, de hecho constituyen una familia génica diferente de la cual también es miembro el receptor de  $\text{Ca}^{2+}$ . De acuerdo con su secuencia, los receptores glutamatérgicos metabotrópicos se han dividido en tres grupos. El grupo I está constituido por mGluR1 y mGluR5. Al expresarse en sistemas heterólogos, estos receptores se acoplan al metabolismo de los fosfoinosítidos. Presentan cuatro variantes de procesamiento (dos por cada subunidad) y son activados preferencialmente por el ácido quisquálico y por otros agonistas tales como la 3,5-dihidroxifenilglicina (DHPG). Al parecer es necesario que formen homodímeros para activarse [24]. El grupo II está formado por las subunidades mGluR2 y mGluR3; estos receptores están acoplados a proteínas G; al parecer no presentan isoformas por corte y empalme alternativo y su principal agonista es el ácido 2R, 4R-4-amino pirrolidon-2,4-dicarboxílico (2R, 4R-4-ACPD). Al grupo III pertenecen las subunidades mGluR4, mGluR6 y mGluR8, y aunque también están acoplados a la inhibición de la adenilato ciclasa, su agonista principal es el ácido L-amino-4-fosfonobutírico (L-AP4).

### En células gliales también existen receptores glutamatérgicos

Los receptores AMPA se han descrito en la mayoría de las preparaciones de cultivos de células gliales examinadas hasta la fecha [25]. En contraste, la expresión de los receptores NMDA parece restringida a sólo algunas células gliales, particularmente a las células de glía radial [26]. En rebanadas de cerebro ha sido posible encontrar la expresión de estos receptores tanto en neuronas como en células gliales [27,28].

Los receptores metabotrópicos están también presentes en las células gliales y sus niveles de expresión están regulados en el desarrollo. Por otra parte, su expresión varía según la estructura cerebral estudiada. Los tres grupos de receptores metabotrópicos se han detectado en cultivos de células gliales [25].

### Transportadores de glutamato

La remoción del glutamato del espacio sináptico es efectuada por proteínas integrales de membrana denominadas transportadores de glutamato. Éstos utilizan el gradiente electroquímico para poder introducir este aminoácido al interior celular. Hasta la fecha se han caracterizado cinco subtipos de transportadores de glutamato, denominados transportadores de aminoácidos excitadores (EAAT-1 a 5). Estos transportadores presentan patrones de distribución y propiedades cinéticas diferentes en las distintas regiones del cerebro. Los transportadores EAAT-1 y EAAT-2, conocidos como GLAST y GLT-1, respectivamente, se expresan casi de forma exclusiva en células gliales [29]. GLAST se expresa abundantemente en el cerebelo, mientras que GLT-1 está presente sobre todo en el cerebro anterior. Los transportadores EAAT-3 y EAAT-4 son de expresión neuronal. Particularmente, EAAT-4 se expresa en las células de Purkinje en el cerebelo, mientras que EAAT-3 es abundante en neuronas corticales. Por otra parte, la expresión de EAAT-5 es casi exclusiva de la retina. De manera general, los transportadores glutamatérgicos comparten varias características, como su peso molecular, en el rango de 65 a 77 kDa y que varía de acuerdo con el grado de glicosilación; aunque presentan una homología del 50% en su estructura, sus propiedades y su regulación son diferentes. Por ejemplo, mientras que para GLT-1 se conocen las consecuencias funcionales de su fosforilación (un incremento en su actividad de captura de glutamato), no ha podido caracterizarse el efecto de la fosforilación de GLAST. La mutación 'sitiodirigida' de los residuos que se fosforilan en GLAST no impide la disminución en su actividad. Al parecer, las diversas cinasas actúan sobre las moléculas responsables de la inserción o remoción de los transportadores en la membrana plasmática [30].

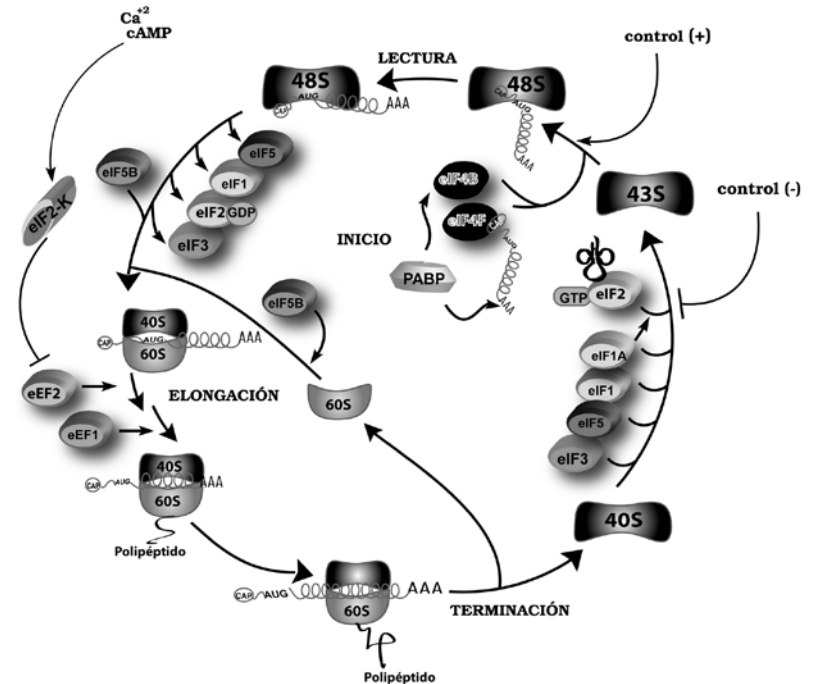
En las células gliales de Bergmann, la captura de glutamato se efectúa por el transportador GLAST [31]. El glutamato afecta la actividad de transporte a corto plazo, efecto que es independiente de la activación de los receptores [32]. Adicionalmente, la transcripción del gen *chglast* es regulada por los receptores glutamatérgicos [33].

## Regulación de la traducción

La traducción es el proceso por el cual la información contenida en el ARNm se convierte en una secuencia polipeptídica. Este proceso se ha dividido en tres etapas básicas: el inicio, la elongación y la terminación. En la figura 1 se muestra un esquema simplificado del proceso. La regulación de la traducción de proteínas se lleva a cabo en varios niveles: iniciación, elongación, terminación, estructura del ARNm, entrada interna al ribosoma y poliadenilación citoplasmática [34]. Básicamente, el control de la traducción es regulado por la fosforilación de algunos de los componentes de la maquinaria traduccional [34]. Con respecto a la regulación del inicio de la traducción mediada por el *cap* (modificación postranscripcional del extremo 5' de la mayoría de los ARNm eucarióticos), la fosforilación de los factores eucarióticos de inicio eIF4E, eIF4G y eIF4B, cuya función es unir el ARNm a las subunidades ribosomales, regula su actividad de una manera tal que sus niveles de fosforilación correlacionan directamente con el estado traduccional y, por tanto, con el crecimiento celular. Diversos estímulos, como las infecciones víricas, los choques térmicos, los factores de crecimiento, las hormonas y algunos neurotransmisores, alteran el estado de fosforilación de estos factores [34]. Adicionalmente, la fosforilación de los factores relacionados con el reclutamiento del Met-*t*-RNA al ribosoma participa en el control traduccional de manera relevante. La fosforilación de la subunidad  $\alpha$  de eIF2 en Ser 51 impide su reciclaje al bloquear el intercambio de GDP por GTP, evitando la formación del complejo ternario Met-*t*-RNA-GTP-eIF2 e inhibiendo la síntesis proteica. Hasta la fecha se han descrito cuatro proteincinasas que fosforilan este factor: PKR (proteincinasa regulada por ARN), HRI (cinasa regulada por el inhibidor hemo), PERK (cinasa 3 del factor eIF2- $\alpha$ ) y GCN2 (cinasa no reprimible del factor 2), todas ellas activadas por factores de estrés como las infecciones víricas, el plegamiento incorrecto de proteínas en el retículo endoplásmico y la falta de aminoácidos. Otro factor relacionado con eIF2, también regulado por fosforilación, es eIF2B, que intercambia GDP por GTP de eIF2; al ser fosforilado en la subunidad  $\epsilon$  por la glicógeno sintetasa 3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) se inhibe su función [35].

Otro punto de control en la iniciación es la fosforilación del complejo 4E-BP que modula la integridad del complejo eIF4F, responsable del reconocimiento y del posicionamiento del ribosoma en el codón de inicio del ARNm a ser traducido. El factor 4E-BP compite por la unión de eIF4E con el eIF4G

**Figura 1.** Traducción eucarionte, etapas y actores. eEF2: factor 2 de la elongación; eEF2K: cinasa de factor de elongación 2, dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulina tipo III; eEF2: factor de elongación 2; eIF: factores eucarióticos de inicio, del 1 al 5; PABP: proteína de unión al poli-A; ribosomas denotados como 40, 43, 48 y 60 S; CAP: 7-metil-guanosina en 5' del ARNm; cAMP: AMP cíclico.



para formar el complejo eIF4F. La unión entre 4E-BP y eIF4E es regulada por la fosforilación del primero. Cuando 4E-BP se encuentra hipofosforilado, se une a eIF4E inhibiendo la traducción, mientras que la forma hiperfosforilada evita la unión de eIF4E, permitiendo la formación del complejo eIF4F y la síntesis de proteínas. La fosforilación de 4E-BP está regulada por vías de señalización que incluyen las cinasas ERK y PI3K y el complejo 1 de la cinasa blanco de rapamicina (mTORC1) [36].

El segundo nivel de control de la traducción ocurre en el proceso de elongación de la cadena polipeptídica. La fosforilación del factor 2 de la elongación (eEF2), encargado de la traslocación del peptidil-tRNA del sitio aminoacil al sitio peptidil del ribosoma, inhibe su función [37,38]. La cinasa involucrada es la cinasa de eEF2 (eEF2K), inicialmente conocida como cinasa dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulina tipo III, por su dependencia de estos dos cofactores. Esta enzima es regulada a su vez por mTORC1, que la fosforila cerca del sitio de unión de calmodulina

inhibiendo su función. Adicionalmente también es fosforilada por PKA, p70<sup>S6K</sup> y p90<sup>RSK1</sup> [34]. La inhibición de la elongación se asocia a la traducción de ARNm con extremos 5'-UTR complejos [39].

El tercer nivel de regulación de la traducción se refiere a la secuencia y plegamiento de los ARNm. Este control permite ajustar la tasa de síntesis de proteínas específicas en respuesta a diferentes condiciones. Existen múltiples ejemplos de este tipo de control; los más importantes son los ARNm conocidos como 5'-TOP, que presentan un segmento de oligopirimidinas (extremo 5'), y los ARNm con secuencias ricas en elementos ARE (elementos ricos en AU), en el extremo 3' [39].

No existe aún consenso en cuanto a la consecuencia de la fosforilación de los factores de terminación. Este proceso requiere la participación de dos factores de liberación, eRF1, el cual reconoce los tres codones de paro y cataliza la reacción de terminación, y eRF3, que estimula la actividad de eRF1 de una manera dependiente de GTP. Además de una posible regulación por fosforilación, la secuencia nucleotídica río abajo del codón de terminación influye en el proceso, así como las proteínas que se unen a estas secuencias [7].

Adicionalmente al inicio de la traducción dependiente del *cap*, que se regula como ya se apuntó, existe un pequeño grupo de ARN que son capaces de reclutar la subunidad 40S del ribosoma a un sitio interno de entrada, que generalmente se localiza justo río arriba del codón de inicio; este modo de traducción es independiente de *cap*.

Finalmente, la traducción de algunos otros ARNm puede regularse por la poliadenilación de su extremo 3' no traducido (3'-UTR) en una secuencia consenso conocida como 'elemento de poliadenilación citoplasmática' (CPE). A esta secuencia se une la proteína de unión a CPE, abreviada como CPEB, la cual normalmente reprime la traducción al interactuar con la proteína Maskin, que une a eIF4E inhibiendo su asociación con eIF4G [39]. La fosforilación de CPEB por la cinasa Aurora libera esta represión. La proteína CPEB fosforilada se asocia con el factor de poliadenilación específica (CPSF) y este complejo recluta la poli-A polimerasa al extremo 3'-UTR para iniciar la poliadenilación. El segmento de poli-A es reconocido entonces por la proteína de unión al poli-A (PABP), la cual se asocia al *cap*, desplazando la proteína Maskin de eIF4E, lo que permite su interacción con eIF4G e inicia la traducción. Esta forma de regulación es importante en el contexto del control traduccional ejercido por el glutamato en las neuronas, específicamente en la traducción en las dendritas. La estimulación

de receptores glutamatérgicos del subtipo NMDA estimula la cinasa Aurora, la cual fosforila a CPEB e induce la traducción del ARNm de la cinasa dependiente de Ca<sup>2+</sup>/calmodulina tipo II (CaMKII) [40].

### Control traduccional, receptores glutamatérgicos y células gliales

La expresión de genes es modificada por la estimulación de receptores glutamatérgicos en múltiples modelos de aprendizaje, plasticidad sináptica e isquemia, durante el envejecimiento y en alteraciones neurológicas, como la epilepsia, la esquizofrenia y la enfermedad de Alzheimer. La transcripción selectiva de genes en respuesta a este aminoácido depende en gran medida de la fosforilación o traslocación al núcleo de factores de transcripción, modulados por proteincinasas activadas por la señalización glutamatérgica. En ese contexto, los genes de respuesta temprana como *c-fos*, *c-jun* y algunos otros intervienen en la regulación de los genes de respuesta tardía que son regulados por glutamato [41].

En células gliales, el tratamiento con glutamato induce cambios en el patrón de expresión de genes. Por ejemplo, en cultivos primarios de astrocitos, la activación de receptores glutamatérgicos promueve la unión al ADN de factores de transcripción inducibles como *c-fos*, induce la síntesis y liberación de factores de crecimiento, aumenta la densidad de receptores para factores neurotróficos como el receptor 1 del factor de crecimiento de fibroblastos, o bien reprime la expresión de algunos receptores como mGluR5 [42].

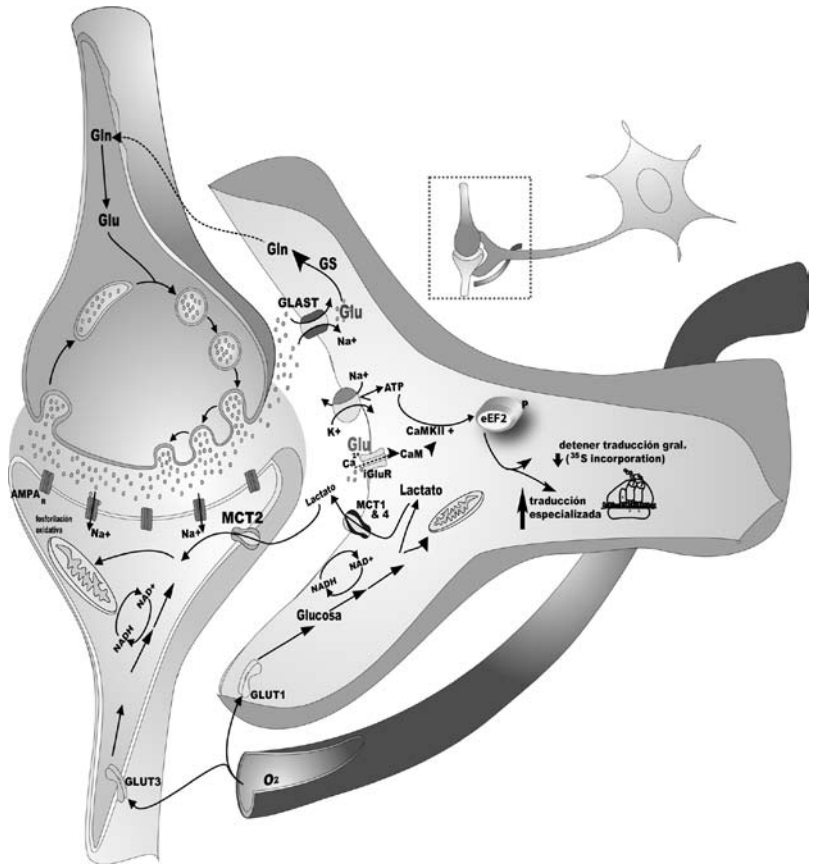
Una de las hipótesis más aceptadas es que la plasticidad neuronal se inicia con la transcripción de genes de respuesta temprana, cuyos productos regulan a su vez, la transcripción de los genes directamente involucrados en la comunicación sináptica, tales como receptores, transportadores, transductores de señales y canales iónicos [41]. El control traduccional es una manera adicional de regulación de la expresión de proteínas. Por ejemplo, la síntesis de proteínas en las dendritas es necesaria para la potenciación y la depresión a largo plazo en el hipocampo. Ambos fenómenos son dependientes de la estimulación de receptores glutamatérgicos tanto de tipo ionotrópico como metabotrópico. Entre los ARNm que se traducen en las dendritas está el de la cinasa dependiente de CaMKII. Los mecanismos que acoplan la actividad sináptica a la síntesis de proteínas en dendritas no se han caracterizado por completo. La ruta de las cinasas activadas por mitógenos (MAPK) es requerida por los receptores

NMDA para inducir la fosforilación de eIF-4E en dendritas. Las cinasas Aurora, mTOR y p70<sup>S6K</sup> participan también en esta regulación [43].

En el cerebelo, las células gliales de Bergmann responden de manera rápida a la actividad sináptica de las fibras paralelas [44]. La activación de receptores glutamatérgicos regula la incorporación de [<sup>35</sup>S]-metionina en las proteínas, de una manera bifásica, dependiente del tiempo y de la dosis [45]. En un inicio, el glutamato reduce la incorporación de [<sup>35</sup>S]-metionina; a los 15 minutos de exposición, la inhibición es de un 75%. Eventualmente, la incorporación regresa de forma paulatina a niveles basales después de 60 minutos de tratamiento con este neurotransmisor. Esta cinética de regulación sugiere que el glutamato inhibe la etapa de elongación de la traducción, pues una recuperación rápida de la tasa de incorporación de [<sup>35</sup>S]-metionina en proteínas requiere que los polirribosomas no se desagreguen [39]. En efecto, el tratamiento con glutamato origina una fosforilación de eEF-2 que depende del tiempo y de la dosis. Es importante mencionar que la elongación se detiene una vez fosforilado este factor [38]. El análisis electroforético de las proteínas sintetizadas durante el tratamiento con el aminoácido marcado muestra que a los 15 minutos, aunque la síntesis global de proteínas está disminuida, algunos polipéptidos se sintetizan [45]. Una explicación a esta aparente discrepancia es el hecho de que los factores de inicio de la traducción, factores limitantes de este proceso en condiciones normales, dejan de serlo al estar abatida la elongación y los ARNm atrapados en los polirribosomas [46]. En tales circunstancias, los factores de inicio de la traducción son capaces de unirse a los ARNm con estructuras 5'-UTR complejas, ARNm que se traducen muy poco o nada en condiciones basales, pues los factores de inicio se unen preferentemente a 5'-UTR, que no forman estructuras secundarias estables [46].

En la corteza cerebelosa, el glutamato liberado por las fibras paralelas es capturado por las células gliales de Bergmann vía el transportador GLAST [31]. En estas células se convierte a glutamina y se libera hacia las neuronas que, por medio de la glutaminasa, lo transforman en glutamato para su reutilización en la neurotransmisión, completando así el ciclo conocido como 'lanzadera glutamato/glutamina' (Fig. 2). El gen de la glutamina sintetasa consta de aproximadamente 10 kb y se organiza en siete exones y seis intrones. En el cerebro existen dos ARNm que difieren en la longitud de su extremo 5'-UTR. Estas dos variantes son el resultado del corte y empalme alternativo de un exón extra que se encuentra en el primer intrón del gen [47]. Tal como

**Figura 2.** Acople metabólico neurona-glia. Gln: glutamina; Glu: glutamato; GLUT: transportador de glucosa tipos 1 y 3; MCT: transportador de monocarboxilatos (tipos 1, 2 y 4); AMPA<sub>R</sub>: receptor ionotrópico a glutamato tipo AMPA; GS: glutamina sintetasa; iGluR: receptor ionotrópico a glutamato; CaM: calmodulina; eEF2: factor de elongación 2; GLAST: transportador de glutamato dependiente de sodio.



se apuntó, la heterogeneidad del extremo 5'-UTR sugiere una regulación traduccional. La variación en secuencia, longitud y estructura secundaria modifica tanto la entrada al ribosoma como la identificación del codón de inicio. En el caso de la glutamina sintetasa, la variante con el extremo 5'-UTR largo es la más abundante en el cerebro y se traduce con una eficiencia veinte veces menor que en el caso de la isoforma con el 5'-UTR corto [48]. Sin embargo, en períodos de alta actividad neuronal, los niveles y la actividad de la glutamina sintetasa en las células gliales aumentan, precisamente cuando la elongación de polipéptidos ha disminuido [49].

Es posible especular que la actividad neuronal glutamatérgica, al aumentar los niveles extracelulares de glutamato, desencadena la captura del neu-

rotransmisor en las células gliales y la activación de los receptores glutamatérgicos en estas mismas células. En consecuencia, la síntesis proteica se detiene a nivel de la elongación en el comportamiento glial, fenómeno molecular que permite la traducción del ARNm de la glutamina sintetasa, necesaria para el reciclamiento del neurotransmisor en las neuronas (Fig. 2).

Es muy probable que este tipo de regulación traccional dependiente de la actividad sináptica en las células gliales abarque a otros genes. Actualmente, en nuestro laboratorio nos centramos en probar tipos de control de la expresión genética, por lo que identificar otros genes glía-específicos que por una parte modifiquen su expresión a consecuencia de la actividad sináptica y que intervengan además en el acople con las neuronas, es una prioridad.

#### Bibliografía

- Lopez-Bayghen E, Rosas S, Castelán F, Ortega A. Cerebellar Bergmann glia: an important model to study neuron-glia interactions. *Neuron Glia Biol* 2007; 3: 155-67.
- Giaume C, Kirchhoff F, Matute C, Reichenbach A, Verkhratsky A. Glia: the fulcrum of brain diseases. *Cell Death Differ* 2007; 14: 1324-35.
- Wolburg-Buchholz K, Mack AF, Steiner E, Pfeiffer F, Engelhardt B, Wolburg H. Loss of astrocyte polarity marks blood-brain barrier impairment during experimental autoimmune encephalomyelitis. *Acta Neuropathol* 2009; 118: 219-33.
- Bringmann A, Pannicke T, Biedermann B, Francke M, Iandiev I, Grosche J, et al. Role of retinal glial cells in neurotransmitter uptake and metabolism. *Neurochem Int* 2009; 54: 143-60.
- Inoue N, Nakao H, Migishima R, Hino T, Matsui M, Hayashi F, et al. Requirement of the immediate early gene *vesl-1S/homer-1a* for fear memory formation. *Mol Brain* 2009; 2: 7.
- Hoefler CA, Klann E. mTOR signaling: at the crossroads of plasticity, memory and disease. *Trends Neurosci* 2010; 33: 67-75.
- Jackson RJ, Hellen CU, Pestova TV. The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11: 113-27.
- Yang HY, Lieska N, Shao D, Kriho V, Pappas GD. Proteins of the intermediate filament cytoskeleton as markers for astrocytes and human astrocytomas. *Mol Chem Neuropathol* 1994; 21: 155-76.
- Cameron RS, Rakic P. Glial cell lineage in the cerebral cortex: a review and synthesis. *Glia* 1991; 4: 124-37.
- Morest DK, Silver J. Precursors of neurons, neuroglia, and ependymal cells in the CNS: what are they? Where are they from? How do they get where they are going? *Glia* 2003; 43: 6-18.
- Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, Francke M, Wiedemann P, Skatchkov SN, et al. Muller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res* 2006; 25: 397-424.
- Somogyi P, Eshhar N, Teichberg VI, Roberts JD. Subcellular localization of a putative kainate receptor in Bergmann glial cells using a monoclonal antibody in the chick and fish cerebellar cortex. *Neuroscience* 1990; 35: 9-30.
- Nehlig A, Coles JA. Cellular pathways of energy metabolism in the brain: is glucose used by neurons or astrocytes? *Glia* 2007; 55: 1238-50.
- Pellerin L, Bouzier-Sore AK, Aubert A, Serres S, Merle M, Costalat R, et al. Activity-dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: an update. *Glia* 2007; 55: 1251-62.
- Walz W, Mukerji S. Simulation of aspects of ischemia in cell culture: changes in lactate compartmentation. *Glia* 1990; 3: 522-8.
- Dringen R, Gebhardt R, Hamprecht B. Glycogen in astrocytes: possible function as lactate supply for neighboring cells. *Brain Res* 1993; 623: 208-14.
- Cholet N, Pellerin L, Magistretti PJ, Hamel E. Similar perisynaptic glial localization for the Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase alpha 2 subunit and the glutamate transporters GLAST and GLT-1 in the rat somatosensory cortex. *Cereb Cortex* 2002; 12: 515-25.
- Tholey G, Roth-Schechter BF, Mandel P. Activity and isoenzyme pattern of lactate dehydrogenase in neurons and astroblasts cultured from brains of chick embryos. *J Neurochem* 1981; 36: 77-81.
- Pellerin L, Bergersen LH, Halestrap AP, Pierre K. Cellular and subcellular distribution of monocarboxylate transporters in cultured brain cells and in the adult brain. *J Neurosci Res* 2005; 79: 55-64.
- Bordey A, Sontheimer H. Modulation of glutamatergic transmission by Bergmann glial cells in rat cerebellum in situ. *J Neurophysiol* 2003; 89: 979-88.
- Hsieh H, Boehm J, Sato C, Iwatsubo T, Tomita T, Sisodia S, et al. AMPAR removal underlies Abeta-induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron* 2006; 52: 831-43.
- Watkins JC, Jane DE. The glutamate story. *Br J Pharmacol* 2006; 147 (Suppl 1): S100-8.
- Henley JM. Kainate-binding proteins: phylogeny, structures and possible functions. *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15: 182-90.
- Pin JP, Kniazeff J, Goudet C, Bessis AS, Liu J, Galvez T, et al. The activation mechanism of class-C G-protein coupled receptors. *Biol Cell* 2004; 96: 335-42.
- Gallo V, Ghiani CA. Glutamate receptors in glia: new cells, new inputs and new functions. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21: 252-8.
- López T, López-Colomé AM, Ortega A. NMDA receptors in cultured radial glia. *FEBS Lett* 1997; 405: 245-8.
- Lipton SA. NMDA receptors, glial cells, and clinical medicine. *Neuron* 2006; 50: 9-11.
- Lopez-Juarez A. Receptores y transportadores en la glía de Bergmann: posibles funciones en la fisiología del cerebelo. *Rev Neurol* 2008; 47: 527-35.
- Robinson MB. Acute regulation of sodium-dependent glutamate transporters: a focus on constitutive and regulated trafficking. *Handb Exp Pharmacol* 2006; 175: 251-75.
- Robinson MB. Signaling pathways take aim at neurotransmitter transporters. *Sci STKE* 2003; 2003: pe50.
- Ruiz M, Ortega A. Characterization of an Na<sup>+</sup>-dependent glutamate/aspartate transporter from cultured Bergmann glia. *Neuroreport* 1995; 6: 2041-4.
- González ML, Ortega A. Regulation of high-affinity glutamate uptake activity in Bergmann glia cells by glutamate. *Brain Res* 2000; 866: 73-81.
- López-Bayghen E, Ortega A. Glutamate-dependent transcriptional regulation of GLAST: role of PKC. *J Neurochem* 2004; 91: 200-9.
- Proud CG. Signalling to translation: how signal transduction pathways control the protein synthetic machinery. *Biochem J* 2007; 403: 217-34.
- Mascher H, Andersson H, Nilsson PA, Ekblom B, Blomstrand E. Changes in signalling pathways regulating protein synthesis in human muscle in the recovery period after endurance exercise. *Acta Physiol (Oxf)* 2007; 191: 67-75.
- Liao XH, Majithia A, Huang X, Kimmel AR. Growth control via TOR kinase signaling, an intracellular sensor of amino acid and energy availability, with crosstalk potential to proline metabolism. *Amino Acids* 2008; 35: 761-70.
- Horman S, Browne G, Krause U, Patel J, Vertommen D, Bertrand L, et al. Activation of AMP-activated protein kinase leads to the phosphorylation of elongation factor 2 and an inhibition of protein synthesis. *Curr Biol* 2002; 12: 1419-23.
- Barrera I, Hernández-Kelly LC, Castelán F, Ortega A. Glutamate-dependent elongation factor-2 phosphorylation in Bergmann glial cells. *Neurochem Int* 2008; 52: 1167-75.



39. Proud CG. mTORC1 signalling and mRNA translation. *Biochem Soc Trans* 2009; 37: 227-31.
40. Huang YS, Jung MY, Sarkissian M, Richter JD. N-methyl-D-aspartate receptor signaling results in Aurora kinase-catalyzed CPEB phosphorylation and alpha CaMKII mRNA polyadenylation at synapses. *EMBO J* 2002; 21: 2139-48.
41. Miyamoto E. Molecular mechanism of neuronal plasticity: induction and maintenance of long-term potentiation in the hippocampus. *J Pharmacol Sci* 2006; 100: 433-42.
42. Aguirre A, López-Bayghen E, Ortega A. Glutamate-dependent transcriptional regulation of the *chkb* gene: signaling mechanisms. *J Neurosci Res* 2002; 70: 117-27.
43. Bramham CR, Wells DG. Dendritic mRNA: transport, translation and function. *Nat Rev Neurosci* 2007; 8: 776-89.
44. Balakrishnan S, Bellamy TC. Depression of parallel and climbing fiber transmission to Bergmann glia is input specific and correlates with increased precision of synaptic transmission. *Glia* 2009; 57: 393-401.
45. González-Mejía ME, Morales M, Hernández-Kelly LC, Zepeda RC, Bernabé A, Ortega A. Glutamate-dependent translational regulation in cultured Bergmann glia cells: involvement of p70S6K. *Neuroscience* 2006; 141: 1389-98.
46. Park S, Park JM, Kim S, Kim JA, Shepherd JD, Smith-Hicks CL, et al. Elongation factor 2 and fragile X mental retardation protein control the dynamic translation of *Arc/Arg3.1* essential for mGluR-LTD. *Neuron* 2008; 59: 70-83.
47. Avisar N, Shifan L, Ben-Dror I, Havazelet N, Vardimon L. A silencer element in the regulatory region of glutamine synthetase controls cell type-specific repression of gene induction by glucocorticoids. *J Biol Chem* 1999; 274: 11399-407.
48. Shin D, Park S, Park C. A splice variant acquiring an extra transcript leader region decreases the translation of glutamine synthetase gene. *Biochem J* 2003; 374: 175-84.
49. Lehmann C, Bette S, Engele J. High extracellular glutamate modulates expression of glutamate transporters and glutamine synthetase in cultured astrocytes. *Brain Res* 2009; 1297: 1-8.

### Glial cells and synaptic activity: translational control of metabolic coupling

**Introduction.** Traditionally regarded as supportive cells, glial cells have been barely studied in the context of brain physiology. No attention has been paid to the fact that these cells outpace neurons by an estimated factor of ten, and more importantly that they surround synapses. Moreover, cells of glial lineage influence the formation of the so-called brain blood barrier representing a link between the concentration of metabolites in the systemic compartment and the cerebrospinal fluid.

**Development.** Using as a model system the cerebellar glutamatergic synapses, in this contribution, we analyze the molecular transactions triggered by glutamate within glial cells that are involved neuronal-glia metabolic coupling.

**Conclusions.** A tight coupling between sustained neuronal glutamate release, glial glutamate uptake, glial glutamine production and release is based on the control of the translation of selective mRNAs.

**Key words.** Glia. Glutamate. Metabolic coupling. Receptors. Translation. Transporters.