

# Características estructurales y funcionales de los transportadores de glutamato: su relación con la epilepsia y el estrés oxidativo

L. Medina-Ceja<sup>a</sup>, H. Guerrero-Cazares<sup>b</sup>, A. Canales-Aguirre<sup>b</sup>,  
A. Morales-Villagrán<sup>a</sup>, A. Feria-Velasco<sup>a</sup>

## CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE LOS TRANSPORTADORES DE GLUTAMATO: SU RELACIÓN CON LA EPILEPSIA Y EL ESTRÉS OXIDATIVO

**Resumen.** Objetivo. Se enfatizan las características estructurales generales, las propiedades funcionales y la distribución de los transportadores de glutamato, así como la participación de éstos en la epilepsia y el estrés oxidativo. Desarrollo. Los transportadores de aminoácidos como el glutamato se consideran proteínas de suma importancia en el sistema nervioso central, ya que participan en la captura del neurotransmisor posterior a su liberación en la hendidura sináptica para finalizar de esta manera su efecto y limitar la excitabilidad mediada por el glutamato. Estas proteínas se incluyen en la familia de los transportadores dependientes de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ . Numerosas evidencias demuestran la participación de los transportadores en varios trastornos neuronales, como la epilepsia y la isquemia cerebral. A este respecto se considera que algún defecto en la estructura de los transportadores podría afectar su función y, por tanto, favorecer la hiperexcitabilidad producida por el glutamato, de tal manera que conduzca a las alteraciones patológicas que se presentan en la epilepsia. Conclusiones. El estudio detallado de la estructura y función de estos transportadores, así como del papel que desempeñan en las enfermedades neurológicas más comunes como la epilepsia, permitirá visualizar con claridad nuevas alternativas terapéuticas para combatir este tipo de afecciones neuronales en el futuro. [REV NEUROL 2007; 45: 341-52]

**Palabras clave.** Epilepsia. Estrés oxidativo. Estructura. Función. Glutamato. Sistema nervioso central. Transportadores de glutamato.

## INTRODUCCIÓN

La comunicación intercelular en el sistema nervioso central (SNC) requiere del control preciso de la duración y la intensidad de acción del neurotransmisor liberado hacia la hendidura sináptica. Después de liberarse en la sinapsis, los neurotransmisores son capaces de activar receptores pre o postsinápticos. Para terminar la transmisión sináptica, los neurotransmisores son inactivados por medio de la degradación enzimática o su captura a través de proteínas denominadas transportadores, los cuales se pueden encontrar en las neuronas y células gliales perisinápticas.

Los transportadores de neurotransmisores se pueden clasificar en transportadores de membrana plasmática y transportadores de membrana vesicular. En particular, la superfamilia de los transportadores de membrana plasmática se puede a su vez dividir en dos familias de acuerdo a su dependencia iónica:

- *Transportadores dependientes de  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$* , como los de dopamina, norepinefrina y serotonina (monoaminas), así como los del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), glicina, prolina y taurina (aminoácidos); también se incluyen en esta familia los de botafina y creatina.

- *Transportadores dependientes de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$* , como los de los aminoácidos excitadores glutamato y aspartato [1]. Estos últimos pertenecen a la familia genética denominada *SLC1* (*solute carrier family*), de acuerdo con la nomenclatura HUGO (*Human Gene Nomenclature Committee database*); en particular, los transportadores de glutamato en el humano se identifican como SLC1A3, SLC1A2, SLCA1, SLC1A6 y SLC1A7 [2].

Esta revisión trata de describir de manera general las características estructurales y funcionales de los transportadores de glutamato, así como su participación en la epilepsia y el estrés oxidativo.

## TRANSPORTADORES DE GLUTAMATO

El glutamato es el principal neurotransmisor excitador del sistema nervioso y podemos encontrarlo en concentraciones elevadas en las terminales nerviosas, así como en bajas concentraciones en el espacio extracelular ( $< 1 \mu\text{M}$ ) [3,4]. El glutamato participa en varios procesos fisiológicos de importancia, como el desarrollo de la plasticidad, la memoria y el aprendizaje, así como en varias patologías, entre las que se encuentran la epilepsia, la isquemia cerebral, el Parkinson y la esquizofrenia [5,6]. El glutamato se sintetiza en el citoplasma y se almacena en vesículas mediante un sistema de captura dependiente de un gradiente electroquímico [7,8]. En condiciones normales se libera por exocitosis hacia la hendidura sináptica, en donde se une a los receptores de glutamato para originar el potencial de acción [9]. Los transportadores de glutamato son los encargados de terminar la acción del glutamato y mantener los niveles extracelulares por debajo de los niveles que causan neurotoxicidad [10].

Las preparaciones con sinaptosomas se emplearon inicialmente para demostrar que el sistema de captura del glutamato depende de  $\text{Na}^+$  [11]. Tanto las neuronas como las células de la

Aceptado tras revisión externa: 27.08.07.

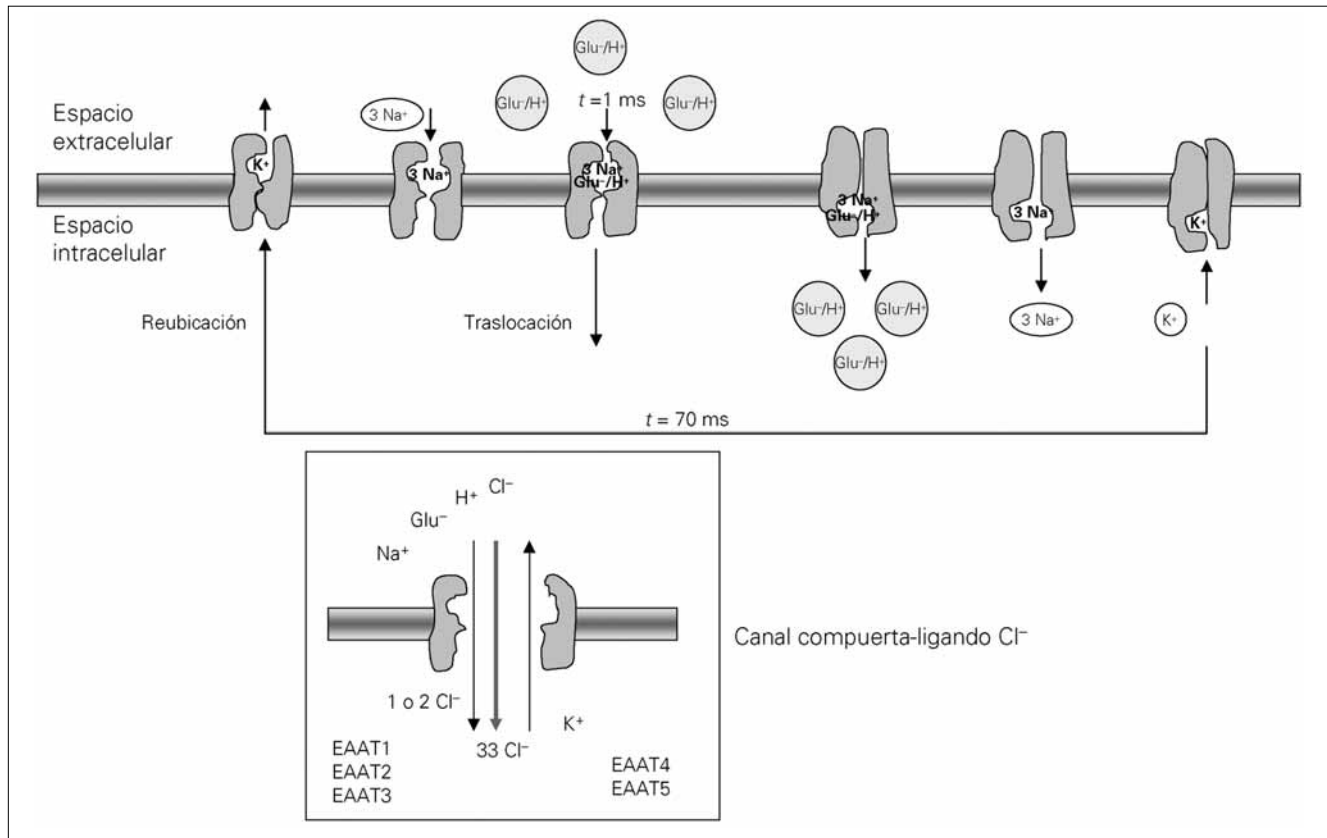
<sup>a</sup> Departamento de Biología Celular y Molecular. <sup>b</sup> Posgrado en Ciencias Biomédicas. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. Nextipac, Zapopan, Jalisco, México.

Correspondencia: Dra. Laura Medina Ceja. Departamento de Biología Celular y Molecular. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. Ctra. Guadalajara-Nogales, km. 15,5. Nextipac, Zapopan, Jalisco, México. Fax: (33) 37771171. E-mail: lmedina@cucba.udg.mx

Agradecimientos. Al Dr. Charles L. Wilson y a María Meléndez, del Departamento de Neurología de la Universidad de California-Los Angeles, por su ayuda en la revisión del contenido del manuscrito.

© 2007, REVISTA DE NEUROLOGÍA





**Figura 2.** Cinética del transporte de glutamato (Glu). El ciclo completo comprende las etapas de traslocación y reubicación. El tiempo promedio de la captura de glutamato es de 1 ms, y del ciclo completo, de 70 ms. En el recuadro se observa una corriente de  $\text{Cl}^-$  evocada por el transporte de glutamato y que esta corriente es más larga para los transportadores EAAT4 y EAAT5 (33  $\text{Cl}^-$  por glutamato transportado) que para EAAT1, EAAT2 y EAAT3 (1 o 2  $\text{Cl}^-$  por glutamato transportado) [12,20,54-56,59].

y TM8, mientras que la región HP2 permanece cerrada. Finalmente, el ciclo se completa con el cierre de la región HP1 para permitir el estado denominado ocluido vacío, seguido de la apertura de la compuerta HP2 [43]. Una mayor descripción de la estructura del transportador  $\text{Glt}_{\text{ph}}$  o de la farmacología molecular de los transportadores de glutamato se puede encontrar en las revisiones de Beart et al [2] y Kanner [44], respectivamente.

#### Dependencia iónica y propiedades del canal compuerta-ligando $\text{Cl}^-$

Con base en estudios relacionados con la estequiometría del transporte de glutamato, de baja ( $K_m > 500 \mu\text{M}$ ) y alta afinidad ( $K_m = 1-100 \mu\text{M}$ ) [45,46], se determinó que el transporte de un glutamato lleva consigo el cotransporte de dos  $\text{Na}^+$  y un intercambio de un  $\text{K}^+$  y un  $\text{OH}^-$  [47,48]. Los transportadores EAAT1 a EAAT5 pueden transportar L-glutamato y L-D-aspartato con alta afinidad. La estequiometría del transportador EAAT3 y EAAT2 es de tres  $\text{Na}^+$  y un  $\text{H}^+$  cotransportado con un glutamato por un  $\text{K}^+$  intercambiado [49,50]. Asimismo, varios estudios han demostrado que los transportadores de glutamato no afectan significativamente la caída del curso temporal de las corrientes excitadoras postsinápticas debido a la rápida desensibilización de los receptores no NMDA [51].

El ciclo completo del transporte de glutamato por los transportadores involucra varias etapas:

- Un paso de traslocación, en el cual la proteína vacía se carga con tres iones  $\text{Na}^+$  y el glutamato/ $\text{H}^+$  para pasar la mem-

brana plasmática y liberarlos en el interior de la célula; este paso se caracteriza por corrientes evocadas por glutamato, altamente dependientes del voltaje. Por ese motivo también se denomina ‘paso de traslocación de carga’.

- El segundo paso es el de la reubicación del transportador, donde el  $\text{K}^+$  se une a la proteína en el interior de la célula y lo libera al exterior para nuevamente tener a la proteína lista para la captura de  $\text{Na}^+$  y glutamato/ $\text{H}^+$  (Fig. 2) [48,52].

Si el ciclo completo no se realiza debido a que no puede entrar al paso de reubicación, el transportador se unirá a  $\text{Na}^+$  y glutamato nuevamente en el interior de la célula y los traslocará en dirección inversa para comportarse como un intercambiador [53]. La constante de tiempo de un ciclo completo del transporte de glutamato es de aproximadamente 70 ms; sin embargo, la unión del glutamato al transportador es sumamente rápida y contribuye a su eliminación en la hendidura sináptica [54,55]. En un trabajo más reciente se ha encontrado que los transportadores toman el glutamato del espacio extrasináptico en 1 ms y que la localización espacial de los transportadores relativo al sitio de liberación del glutamato no afecta el curso temporal del tiempo de transporte [56].

Por su parte, el transportador EAAT4 presenta una conductancia de  $\text{Cl}^-$  intrínseca que es mediada por glutamato, propiedad compartida por otros transportadores de glutamato, como el EAAT1 a EAAT3 [57,58]. El transporte de glutamato por el transportador EAAT5 es independiente de  $\text{Cl}^-$ , mientras que la

entrada de  $\text{Cl}^-$  se relaciona con pasos particulares del ciclo de transporte del glutamato [54,59,60]. En este sentido, los transportadores EAAT4 (cerebelo) y EAAT5 (retina) se caracterizan por presentar una conductancia larga de  $\text{Cl}^-$  (33  $\text{Cl}^-$ /glutamato transportado) [20,61,62] cuando se comparan con los transportadores EAAT1, EAAT2 y EAAT3 (1 o 2  $\text{Cl}^-$ /glutamato transportado) [12,54,59], de manera que tanto EAAT4 como EAAT5 funcionan como proteínas bifuncionales porque pueden actuar como transportadores, así como canales iónicos. La activación de este canal a  $\text{Cl}^-$  se asocia con el paso de traslocación del ciclo de transporte, pero ambas actividades se comportan de manera distinta conformacionalmente y son procesos físicamente separados [6]. Hace poco se ha demostrado con diversas metodologías que las tres subunidades que conforman el transportador de glutamato funcionan independientemente en mediar la captura de glutamato como las corrientes aniónicas, tanto a concentraciones altas como bajas del sustrato, así como la presencia de un canal-compuerta en cada subunidad que se activa por la unión del glutamato [63,64]. El papel de esta conductancia a  $\text{Cl}^-$  es contrarrestar la despolarización que se presenta durante el transporte del sustrato [57]. Los aminoácidos relacionados con la unión o captura de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , glutamato y  $\text{Cl}^-$  se localizan en la región carboxilterminal del modelo de seis dominios transmembranales y se conservan en todos los transportadores de glutamato [29,30,32,33]. Sin embargo, diversos estudios han encontrado que un grupo de aminoácidos del dominio transmembranal TM2 afecta la conductancia aniónica y se localiza cerca del sitio de unión a glutamato. Asimismo, los dominios transmembranales TM7 y TM8 tienen aminoácidos implicados en la localización del acoplamiento al catión y muy cercanos al sitio de unión del glutamato que influyen en la conductancia aniónica, lo que sugiere que estas regiones podrían formar la vía de entrada del transportador y ser compartidas por el glutamato, el acoplamiento a cationes y los iones de  $\text{Cl}^-$  [64-67].

#### **Localización celular y distribución de los transportadores de glutamato**

Los transportadores EAAT1 y EAAT2 se expresan de manera particular en el cerebro [17,18,68], mientras que EAAT3, EAAT4 y EAAT5 se expresan tanto en el cerebro como en otros órganos [16,19,20,68]. La proteína EAAT1 abunda en la capa molecular de la corteza cerebelar [69-71], mientras que su expresión de ARNm es pequeña en el hipocampo y la corteza cerebral [72]. Los niveles de la proteína EAAT2 son altos en regiones cerebrales como la corteza cerebral, el hipocampo, el septo lateral, el tálamo, el estriado, el núcleo *accumbens* y el cerebelo. En estas mismas regiones, EAAT1 y EAAT2 se localizan primariamente en la membrana plasmática de astrocitos y glía de Bergman (cerebelo) [69,70,73-75]. La proteína EAAT2 también se localiza en la vecindad de los cuerpos celulares de los astrocitos del giro temporal medio de humanos [76] y se expresa en subgrupos de neuronas del hipocampo y la corteza [73,75], mientras que la proteína EAAT1 también se ha localizado en las células endocelulares que revisten la cavidad de los ventrículos. Además, el transportador GLT1 (EAAT2), que se localiza en los procesos de los astrocitos y no en el soma, es el que hace contacto con la sinapsis neuronal, por lo que se considera de suma importancia para el mantenimiento de los niveles de glutamato en la hendidura sináptica. De los transportadores de glutamato gliales, el GLT1 participa con más del 90% de la actividad del transporte total del glutamato en el cerebro [77,78]. Existe evidencia di-

recta de conglomerados o agrupamientos de proteínas GLT1 en estos procesos astrocíticos, que modulan la actividad del propio transportador y que son capaces de movilizarse a través de procesos de internalización e inserción para una rápida traslocación al sitio sináptico neurona-astrocito; este mecanismo dinámico sería de suma importancia para el mantenimiento de los niveles de glutamato locales en las sinapsis [79]. Aproximadamente el 80% del transportador EAAT2 se expresa en la membrana plasmática de la célula, mientras que aproximadamente el 70% de EAAT3 se localiza en el citoplasma [80]. Los microdominios lipídicos ricos en colesterol se han asociado con el transportador EAAT2 y en particular se ha encontrado que los agrupamientos de EAAT2 (GLT1) probablemente se ven influidos por una vía dependiente de dinamina y clatrina, mientras que EAAT3 podría interactuar con la caveolina 1/2 [81-83].

Los transportadores EAAT3 y EAAT4 se encuentran solamente en neuronas [13,17,34,35,75,84-87]. En particular, el transportador EAAT3 se localiza tanto en neuronas glutamatérgicas (células granulares del giro dentado y células piramidales del hipocampo y la corteza cerebral) como en neuronas gabérgicas (células de Purkinje en el cerebelo y neuronas espinosas medias del estriado). La proteína EAAT3 se ha observado en la membrana plasmática de somas y dendritas de estas neuronas [88] y en los axones terminales de las células de Purkinje de los núcleos profundos cerebelares [34,35]. EAAT4 se restringe a la membrana plasmática y espinas dendríticas de las células de Purkinje en el cerebelo [35,85,86]. La proteína EAAT4 exhibe una compartimentación parasagital que es perpendicular a la capa de células de Purkinje del cerebelo [86]. Tanto EAAT3 como EAAT4 se localizan predominantemente fuera de las sinapsis, en la membrana perisináptica y en las regiones espinosas que hacen contacto con las células gliales; además, en algunas sinapsis pueden influir en el curso temporal de los eventos sinápticos [89].

En las células de Purkinje, los transportadores neuronales EAAT3 y EAAT4 participan en las siguientes funciones:

- La captura de glutamato y, por tanto, la disminución de la concentración extracelular local de este aminoácido excitador.
- Esta función produce una corriente entrante de  $\text{Cl}^-$  que favorece la hiperpolarización local, de manera que previene la excitación excesiva producida por el glutamato extracelular.
- La acumulación del glutamato en las células provee de sustrato para la síntesis de GABA [35].

En este sentido, los transportadores de glutamato se encuentran estratégicamente distribuidos para controlar los niveles extracelulares de glutamato en el cerebro. El transportador EAAT5 se halla de manera restringida en las neuronas de la retina [20].

Veruki et al [90] han demostrado, con la técnica de registro simultáneo en pares de células conectadas sinápticamente de la retina, un papel importante de los transportadores de glutamato localizados en la terminal presináptica, ya que la captura del glutamato por el transportador genera una conductancia aniónica que hiperpolariza la membrana y favorece la inhibición de la liberación del neurotransmisor y, por tanto, de la transmisión sináptica en estas células. Además, se piensa que los transportadores presinápticos podrían funcionar como sensores de la liberación local de glutamato, así como distal por difusión o fuga del glutamato de las terminales vecinas [91]. La presencia de transportadores de glutamato en la terminal presináptica en el

SNC plantea la idea de un posible mecanismo similar de regulación de la liberación del neurotransmisor.

Una pregunta interesante es si los transportadores de glutamato de las células gliales y las neuronas presentan funciones diferentes. A este respecto, se sabe que las neuronas tienen una concentración intracelular de glutamato de aproximadamente 10 mM y que la concentración extracelular de glutamato es de aproximadamente 1  $\mu$ M, con lo cual se produce un gradiente de glutamato a través de la membrana que es consistente con la capacidad de captura y acumulación de los transportadores de glutamato de alta afinidad. En condiciones normales, estos transportadores se encuentran en equilibrio y tienen poca capacidad para capturar el glutamato. Sin embargo, en las células gliales, el glutamato es capturado de forma continua y rápidamente convertido a glutamina por la glutamina sintetasa de la glía, de tal manera que la concentración de glutamato intracelular en la célula glial es de aproximadamente 50  $\mu$ M, lo que favorece que se mantengan transportando glutamato al interior de las células gliales [53]. Además, numerosas evidencias sugieren, con respecto a la degradación del glutamato a glutamina, un papel interactivo entre los transportadores gliales de glutamato y el metabolismo intermediario que tiene relevancia fisiológica y patológica [92,93].

Con base en lo anterior, es importante considerar el tipo de transportador de glutamato, su localización regional y celular, en el momento de interpretar los resultados bajo diferentes condiciones experimentales; por ejemplo, una reducción en los niveles de expresión del transportador EAAC1 en terminales gárgicas reduciría los niveles de GABA debido a la disminución del transporte de glutamato en la terminal que se toma como precursor del propio GABA y ocasionar crisis [14].

#### **Regulación de la actividad de los transportadores de glutamato**

La actividad funcional de los transportadores de glutamato se ve afectada por su expresión, localización y fosforilación [94]. En varios estudios se ha demostrado que los transportadores de glutamato se regulan a través de proteincinasas, fosfatasa, factores de crecimiento y segundos mensajeros [95-97]. Las secuencias primarias de estos transportadores contienen varios sitios consenso de fosforilación para la proteincinasa A (PKA) y la proteincinasa C (PKC) [24,98]. Por ejemplo, un sitio conservado de fosforilación para PKC se localiza en la primera asa extracelular de EAAT1 a EAAT5, así como un sitio para PKA antes del dominio largo hidrofóbico conservado de EAAT1 a EAAT4 [20].

Lorter et al [94] han encontrado, en cultivos primarios de neuronas, que el transporte de alta afinidad de glutamato puede ser regulado por los procesos de fosforilación de PKA o PKC. La fosforilación por PKC activa el transportador EAAT3 y EAAT2, pero inhibe el transportador EAAT1. Asimismo, EAAT1 y EAAT2 pueden ser regulados de manera creciente a nivel transcripcional por factores solubles neuronales que incluyen el propio glutamato (probablemente actuando en sus receptores a kainato) y el dibutilil cAMP. La relevancia fisiológica de este patrón complejo de regulación a corto y largo plazo del transporte de glutamato permanece aún por definir [1].

El factor de crecimiento derivado de plaquetas (*platelet-derived growth factor*, PDGF) incrementa la expresión en la superficie celular del transportador EAAC1, mientras que el segundo mensajero ácido araquidónico activa una conductancia se-

lectiva de protones en el transportador EAAT4 [99,100]. Otros factores de crecimiento que aumentan el transporte de glutamato son el factor neurotrófico dependiente de la actividad (*activity-dependent neurotrophic factor*, ADNF), el factor de crecimiento fibroblástico básico (*basic fibroblast growth factor*, bFGF) y el factor de crecimiento nervioso (*nerve growth factor*, NGF) [101]. Otro mecanismo que puede regular la expresión de los transportadores de glutamato gliales es el marco de lectura alternativo de sus transcritos. A este respecto se han identificado diversas variantes de lectura del transportador EAAT2 que muestran patrones de expresión distintos dependiendo del tipo de tejido y especie, pero sin diferencias funcionales hasta el momento [102-104]. También se han identificado variantes de lectura para EAAT1 y EAAT3 [105-107].

Varios trabajos han demostrado la existencia de proteínas que interactúan con los diferentes transportadores de glutamato y alteran su nivel de expresión, localización o agrupamiento en la membrana, lo que podría afectar la transmisión sináptica. Entre estas proteínas encontramos a GTRAP3-18 (*glutamate transporter associated protein*), que se une a EAAC1 (EAAT3) y disminuye la afinidad por su sustrato [108]; GTRAP41 y GTRAP48 interactúan con el dominio carboxilterminal intracelular de EAAT4 y modulan la actividad del transporte [109], mientras que el transportador EAAT5 presenta una secuencia a la cual se puede unir la proteína de densidad 95 [20].

#### **TRANSPORTADORES DE GLUTAMATO Y EPILEPSIA**

El glutamato y los trastornos en su transporte pueden relacionarse con el inicio y la progresión de varias enfermedades neurodegenerativas como la esclerosis lateral amiotrófica [110], las enfermedades de Alzheimer, Huntington y Parkinson [111-113], así como la epilepsia [114]. En la epilepsia, el glutamato desempeña un papel importante en la iniciación, propagación y mantenimiento de las crisis [114-118].

El mal funcionamiento de los transportadores de glutamato produce una elevación en los niveles de éste, lo suficiente para inducir la actividad de crisis (Tabla) [119]. Este mal funcionamiento incrementa los niveles del neurotransmisor y permite la sobreestimulación de los receptores ionotrópicos postsinápticos, lo que favorece la hiperexcitabilidad y excitotoxicidad de las neuronas [120].

Así como los transportadores participan en el mantenimiento de los niveles de glutamato extracelular, también podrían desempeñar un papel clave en el curso temporal de la transmisión sináptica en ciertos tipos de sinapsis especializadas [2,121]. El transportador neuronal en la membrana postsináptica contribuye al decline de la fase excitadora del potencial postsináptico [122]. Asimismo, los transportadores localizados en los astrocitos GLT1 y GLAST restringen la activación del receptor de glutamato metabotrópico 1 en las sinapsis excitadoras, que a su vez actúan sobre las interneuronas del estrato lacunosomolecular del hipocampo [123]. Estas alteraciones funcionales de los transportadores pueden en todo caso afectar la modulación de la excitabilidad de las interneuronas de esta región y contribuir a la actividad neuronal anormal observada en diferentes estados patológicos [123]. A este respecto, se ha encontrado también en la región del cerebelo que los transportadores de glutamato gliales participan de una manera importante en la inhibición sináptica sobre las neuronas de Purkinje, limitando la fuga de glutamato y el grado de activación de los receptores de glutamato tipo N-

**Tabla.** Cambios en la expresión de los transportadores de glutamato en diferentes modelos de epilepsia.

Modelos genéticos			
Ratas genéticamente propensas a la epilepsia	GLT1 ARNm	↓	Hipocampo, corteza cerebral, estriado, colículo inferior [98]
GAERS	GLT1 ARNm	↑	Tálamo, núcleos subtalámicos
	GLAST ARNm	↑	Corteza somatosensorial primaria, corteza temporal [62]
	GLT1, GLAST, EAAC1 proteína	↓	Tálamo-corteza (30 días de edad) [100]
Modelos adquiridos			
<i>Kindling</i>	GLT1 ARNm	↑	Estriado [107]
Ácido kainico	GLAST ARNm	↑	Hipocampo [108]
	EAAT3 ARNm	↓	Hipocampo [110]
	EAAT3 proteína	↓	
	EAAT2 ARNm	↑	Hipocampo
	EAAT2 proteína	↑	
FeCl <sub>3</sub>	GLAST ARNm	↑	Hipocampo [111]
60 min	GLT1 ARNm	↑	
	EAAC1 ARNm	↑	
24 h	GLAST ARNm	↓	Hipocampo
	GLT1 ARNm	↓	
	EAAC1 ARNm	↓	
Litio-pilocarpina	EAAC1 ARNm	↑	Hipocampo [113]
Estado epiléptico	GLAST proteína	↓	Hipocampo [114]
	EAAC1 proteína	↓	Corteza entorrinal
Pacientes con epilepsia del lóbulo temporal	EAAT1 ARNm	↓	Hipocampo [66,115,116]
	EAAT1 proteína	↓	
	EAAT2 ARNm	↓	
	EAAT2 proteína	↓	
	EAAT3 proteína	↑	
	Variantes de lectura aberrantes de EAAT 2	↑	Neocorteza, hipocampo [151]
	EAAT1 proteína	↓	Hipocampo [170]
	EAAT2 proteína	↓	

metil D-aspartato (NMDA) presinápticos expresados en las terminales gabérgicas, es decir, estos transportadores regulan la liberación de GABA sobre las neuronas de Purkinje [124].

### **Modelos genéticos de epilepsia y transportadores de glutamato**

Akbar et al [125] han demostrado en ratas genéticamente propensas a la epilepsia que los niveles de ARNm para GLT1 se encuentran reducidos en la región CA<sub>1</sub> del hipocampo, en la corteza cerebral, en el estriado y, más notoriamente, en el colículo inferior. Por su parte, el transportador EAAC1 (EAAT3 en humanos) se encuentra reducido en el estriado, pero no se hallaron di-

ferencias en los niveles de expresión de la proteína GLT1 o EAAC1. En el modelo de ratones *knock-out* para EAAT2 se encontró un aumento en los niveles extracelulares de glutamato y crisis epilépticas espontáneas letales [126].

En un modelo animal semejante a la epilepsia de ausencia en humanos se ha encontrado, por técnicas de hibridación *in situ* para GLT1 y GLAST, un incremento en el ARNm para GLT1 en el tálamo y los núcleos subtalámicos, así como un incremento de ARNm de GLAST en la corteza somatosensorial primaria y temporal, lo que reflejaría una regulación a la alta de la proteína y posiblemente un mecanismo de control para reducir los niveles de glutamato en la corteza hiperexcitada o el tálamo, in-

crementando la recaptura del glutamato [72]. En este mismo modelo de animales se han encontrado, 40 días después del nacimiento, descargas epilépticas que se relacionan con el circuito talamocortical; sin embargo, las alteraciones en la expresión de los transportadores de glutamato se presentan a los 30 días de edad. En esta etapa se da una disminución de las proteínas GLT1, GLAST y EAAC1. Este deterioro en la maduración de los componentes neuronales y gliales del circuito glutamatérgico talamocortical podría contribuir al establecimiento de las crisis epileptiformes en este circuito [127].

Se ha sugerido que, en condiciones patológicas como la isquemia y la epilepsia, la neurotoxicidad generada por el glutamato se propaga debido a una deficiencia del transportador o al transporte inverso del propio glutamato [128-132]. A este respecto, Rothstein et al [110] han demostrado, con el uso de oligonucleótidos antisentido para inhibir la síntesis de algunos transportadores, que la reducción de GLAST o GLT1 (EAAT1 y EAAT2, respectivamente) incrementa los niveles extracelulares de glutamato y produce neurodegeneración, así como parálisis progresiva. En el caso de EAAC1 (EAAT3), sólo produce actividad de crisis.

### **Modelos adquiridos de epilepsia y transportadores de glutamato**

El *kindling* es un modelo de epilepsia parcial compleja donde la estimulación eléctrica de una vía cerebral induce un estado de hiperexcitabilidad permanente [133]. En este modelo, Akbar et al [134] han encontrado que los niveles de ARNm y proteínas GLT1 y GLAST no se ven afectadas, sólo se observa un incremento del ARNm para GLT1 en el estriado de los animales con *kindling*.

En ratas con crisis límbicas recurrentes inducidas con ácido kaínico, se ha observado un aumento en la expresión del ARNm para GLAST en células no neuronales del hipocampo (CA<sub>3</sub> e *hilus* del giro dentado). Esta sobreexpresión de GLAST puede deberse al incremento extracelular de glutamato [135]. En este punto, los trabajos de Duan et al [136] han encontrado en cultivos primarios de astrocitos de ratón que el glutamato produce un incremento rápido dosisdependiente de la captura de glutamato que se asocia con un incremento en la expresión en la superficie celular de GLAST. En este mismo modelo de inducción de crisis por ácido kaínico, otro estudio demostró que el kainato reduce los niveles de ARNm y proteína de EAAT3 (EAAC1 homólogo) en el hipocampo pocas horas después del inicio de las crisis [137]. Por su parte, la expresión de EAAT2 (GLT1 homólogo) se incrementa en la misma región. La regulación diferencial de EAAT3 y EAAT2 en este trabajo puede tener implicaciones significativas en la regulación de la excitabilidad en el hipocampo.

En ratas a las que se les inyectó FeCl<sub>3</sub> en el cuerpo amigdalóide, se demostró un incremento de los ARNm para GLAST, GLT1 y EAAC1 60 minutos después de las crisis epileptiformes y, posteriormente, una disminución en el hipocampo bilateral y la corteza, 24 horas después. Esta regulación a la baja en la fase aguda causaría un aumento en la concentración extracelular de glutamato que produce la excitabilidad y la propagación a otras regiones [138]. En este mismo modelo, los autores encuentran una disminución de la proteína GLAST (30%) y un incremento de EAAC1 con el tratamiento del antiepiléptico zonisamida. Este incremento favorecería la acumulación de glutamato precursor de GABA en las terminales gabérgicas [139]. A este respec-

to, también se ha encontrado que la aplicación crónica del levotiracetam –un potente antiepiléptico, que actúa probablemente reduciendo las corrientes de Ca<sup>2+</sup> tipo N activadas por alto voltaje– en este modelo incrementa la expresión de las proteínas de los transportadores de glutamato GLAST y de GABA GLT1, permitiendo una supresión de la excitación glutamatérgica y un aumento de la inhibición mediada por GABA [140].

En ratas a las cuales se les indujo actividad epileptiforme a temprana edad con la administración de litio-pilocarpina se les encontraron cambios de larga duración en la expresión del transportador EAAC1 (incremento de los niveles de ARNm) en las células granulares del giro dentado del hipocampo [141]. Aunque este efecto puede aumentar la inhibición de las células piramidales excitadoras de CA<sub>3</sub> y ayudar a prevenir las crisis espontáneas en este modelo, no se descarta la posibilidad de que este aumento en el transportador facilite la inhibición de las interneuronas inhibitoras e incremente la excitabilidad de la región de CA<sub>3</sub>, lo que contribuye a aumentar la susceptibilidad de estas mismas ratas a las crisis inducidas por un segundo convulsionante (ácido kaínico) tres meses después [141].

Un trabajo sobre el curso temporal de la expresión de las proteínas de los transportadores de glutamato en el hipocampo en el modelo de crisis espontáneas presentes después de la inducción eléctrica del estado epiléptico [142], demostró un patrón dinámico de expresión, en el cual se presenta una regulación transitoria a la baja de GLAST pero no de GLT1 en la mayoría de las regiones del hipocampo, así como la presencia de una banda de inmunoreactividad a GLAST y GLT1 en la capa interna molecular, donde se aprecia una gran cantidad de astrocitos reactivos. Además, se halló un incremento de EAAC1 en la región de CA<sub>1-3</sub> y la capa de células granulares del giro dentado que sobreviven al estado epiléptico y una regulación a la baja de la expresión de esta proteína en la capa molecular interna, región donde se da la formación de nuevas fibras musgosas. En la corteza entorrinal (capa III) se observó una disminución de EAAC1 debido probablemente a la pérdida neuronal en esta región. Los autores sugieren que la región del giro dentado es más propensa a las crisis cuando se da una regulación a la baja de EAAC1 en la capa molecular interna y cuando la reorganización sináptica empieza a ocurrir [142]. Finalmente, se ha demostrado que durante la privación energética, la captura de glutamato por los transportadores disminuye, hecho que sugiere que el déficit energético crónico afecta al transporte de glutamato para dar paso a la sobreestimulación de los receptores a glutamato, de la cual se ha hablado anteriormente y que está presente en varias enfermedades neurodegenerativas [143].

En relación al conocimiento sobre la patofisiología de las crisis epileptiformes que se presentan durante el desarrollo del cerebro y los transportadores de glutamato, se cuenta con varios estudios en los que, después de la inducción del estado epiléptico al día posnatal 10, se presenta una regulación a la alta del transportador EAAC1 ocurrida en la etapa adulta, como un posible fenómeno de compensación a la presencia de las crisis. Asimismo, se ha encontrado que el bloqueador al transporte de glutamato DL-treo-β-benziloxiaspartato (TBOA) al día posnatal 5 –cuando los transportadores de glutamato están presentes en la neocorteza, pero los receptores de glutamato no se han desarrollado– genera actividad sincrónica lenta mediada por los receptores de glutamato tipo NMDA. Los autores sugieren que los transportadores son importantes para regular la excitabilidad durante el desarrollo de la neocorteza, ya que sin este con-

trol la hiperexcitabilidad generada podría llevar a la presencia de crisis epileptiformes [144,145]. A este respecto, se ha encontrado que la inhibición del transporte de glutamato por TBOA en ratas al día posnatal 5 a 7 produce un patrón de ráfagas paroxísticas recurrentes alternado con períodos de silencio y ausencia de actividad de fondo normal, que podrían deberse a una modulación cíclica de los niveles de glutamato en el espacio extracelular producido por un patrón periódico de liberación de glutamato de las células corticales desenmascarado tras la inhibición de los transportadores de glutamato [146]. Este tipo de patrón se ha hallado en las encefalopatías epilépticas de inicio temprano, lo que sugiere que el transporte deficiente del glutamato a temprana edad podría ser un factor clave en el inicio de la epilepsia [147,148].

### ***Epilepsia humana y transportadores de glutamato***

En varios estudios con pacientes epilépticos del lóbulo temporal se han encontrado cambios en los transportadores EAAT1 (disminución de los niveles de ARNm y proteína), EAAT2 (reducción de ARNm y proteína) y EAAT3 (aumento de proteína) en la región del hipocampo. En los dos primeros casos, la pérdida neuronal en esa región puede contribuir a la disminución encontrada o también se puede considerar como un mecanismo protector si tomamos en cuenta que el transporte inverso de estos transportadores liberaría más glutamato. Con respecto al aumento de EAAT3, podría deberse a un mecanismo compensador por la alta concentración de glutamato durante las crisis [76, 149,150]. Con referencia a las implicaciones de las diferentes variantes del marco de lectura de los transportadores, Hoogland et al [151] han detectado una frecuencia elevada de variantes alteradas del transportador EAAT2 en el cerebro de pacientes con epilepsia.

### **TRANSPORTADORES DE GLUTAMATO Y ESTRÉS OXIDATIVO**

Las especies reactivas de oxígeno son moléculas altamente reactivas con un electrón sin aparear en la órbita exterior. Se generan a través de reacciones bioquímicas de oxidoreducción que ocurren como parte normal del metabolismo celular, por exposición a factores ambientales o contaminantes y radiaciones  $\gamma$ . Las especies reactivas de oxígeno forman parte de reacciones en cadena que sólo pueden terminarse por neutralización, a través de mecanismos enzimáticos o al recombinarse entre sí [152]. Las principales especies reactivas incluyen al anión superóxido ( $O_2^-$ ), al radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ), al radical peroxinitrito ( $NOOO^\cdot$ ) y al peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). La vida media de estas moléculas varía de unos cuantos nanosegundos en los compuestos más reactivos hasta segundos y horas en los radicales más estables [150]. Debido a su corta vida es difícil medirlos *in vivo*. La mitocondria es uno de los principales organelos productores de radicales libres intracelulares. Éstos son necesarios para la síntesis de ATP a partir de ADP y se producen durante el proceso de reducción de  $O_2$  a  $H_2O$  durante la respiración [153].

Las neuronas y las células gliales son ricas en mitocondrias debido a sus altos requerimientos metabólicos, lo que las hace propensas a producir mayores cantidades de radicales libres como derivados de la cadena respiratoria mitocondrial [152]. El cerebro es absolutamente dependiente del metabolismo oxidativo para su supervivencia y particularmente sensible al daño oxidativo debido a su alto nivel de consumo de oxígeno y su eleva-

do contenido de hierro, lípidos, catecolaminas y aminoácidos excitadores, los cuales pueden mediar el estrés oxidativo [154]. Además, posee una baja concentración de antioxidantes endógenos, como las vitaminas E y C [154,155].

Se ha descrito que el estrés oxidativo mitocondrial desempeña un papel importante dentro de numerosos trastornos neurológicos crónicos y agudos [154,156]. Aunque su papel en la epilepsia no se ha logrado esclarecer, diversos estudios han demostrado que el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial se presentan como resultado de crisis epilépticas prolongadas y contribuyen de forma significativa al daño cerebral inducido por las crisis [157,158]. Liang et al [159] demostraron que el estrés oxidativo mitocondrial y la susceptibilidad a las crisis en ratones *knock-out Sod<sup>+/-</sup>* se presenta al tiempo que se observa una disminución en la expresión de los transportadores GLT1 y GLAST. Asimismo, la disminución de la expresión de GLT1 y GLAST se ha observado en la corteza cerebral de ratas con crisis de ausencia genética [160], así como en el hipocampo de ratones con epilepsia [161]. El mecanismo mediante el cual el estrés oxidativo mitocondrial disminuye la expresión de los transportadores de glutamato puede ser el aumento en la producción de  $O_2^-$ , que oxida los transportadores astrogliales [162]. Estos resultados apoyan la hipótesis de que el estrés oxidativo es el primer factor que dispara varios eventos, como la oxidación de los transportadores de glutamato, que desembocan en crisis epilépticas [159].

Los transportadores de glutamato son vulnerables a la acción de oxidantes biológicos y, en consecuencia, presentan una disminución en su función de captura del glutamato [157]. Las especies reactivas de oxígeno se oponen a la eliminación del glutamato del espacio extracelular inhibiendo varias isoformas de los transportadores; además, esta inhibición genera un círculo vicioso que contribuye al aumento del glutamato extracelular hasta sus niveles neurotóxicos [53].

Existe evidencia de que los residuos de cisteína localizados en la estructura de al menos tres subtipos de transportadores son sensibles a las reacciones redox, por lo que se ha descrito una relación entre el daño oxidativo en el cerebro, la excitotoxicidad y el desarrollo de esclerosis lateral amiotrófica [157]. Se ha comunicado que la oxidación de los grupos tioles induce una unión covalente en las moléculas de los transportadores, lo que provoca la formación de oligómeros, que se relacionan con la inhibición oxidativa de los transportadores, la muerte neuronal y el desarrollo de la esclerosis lateral amiotrófica [162-164].

Los transportadores de glutamato poseen un sensor redox y experimentan cambios funcionales en respuesta a la oxidación o reducción de sulfhidrilos reactivos presentes en su estructura, como es el caso de la oxidación tiol ( $SH^-$ ) y la reducción disulfuro, que pueden reducir o incrementar su capacidad de captura, respectivamente [165-168]. A este respecto, en el modelo de epilepsia inducida por la administración en la amígdala de  $FeCl_3$ , se encontró una disminución de los transportadores GLT1 y GLAST, así como una disminución de la capacidad antioxidante en el hipocampo de estos animales, lo que favorece un estado oxidado y el deterioro de la función de los transportadores [169].

### **CONCLUSIONES**

Los transportadores de glutamato son proteínas fundamentales para regular los niveles de este neurotransmisor en la hendidura

sináptica y para el buen funcionamiento de las sinapsis químicas del SNC. Alguna alteración en la estructura, dependencia iónica o propiedad del canal compuerta-ligando  $Cl^-$  del propio transportador por agentes internos o externos podría desencadenar su mal funcionamiento y favorecer el desarrollo de diversas

enfermedades neurológicas, como la epilepsia. Estudios detallados de la estructura, función y participación de los transportadores de glutamato en algunas de estas enfermedades neurológicas podrían ayudar en el futuro a encontrar nuevas alternativas terapéuticas a estas afecciones neurológicas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Masson J, Sagné C, Hamon M, Mestikawi SE. Neurotransmitter transporters in the central nervous system. *Pharmacol Rev* 1999; 51: 439-64.
- Beart PM, O'Shea RD. Transporters for L-glutamate: an update on their molecular pharmacology and pathological involvement. *Br J Pharmacol* 2007; 150: 5-17.
- Fonnum F. Glutamate: a neurotransmitter in the mammalian brain. *J Neurochem* 1984; 42: 1-11.
- Ottersen OP, Storm-Mathisen J. Neurons containing or accumulating transmitter amino acids. In Bjorkklund A, Hokfelt T, Kuhar MJ, eds. *Handbook of chemical neuroanatomy*. Amsterdam: Elsevier; 1984. p. 141-246.
- Amara SG, Fontana AC. Excitatory amino acid transporters: keeping up with glutamate. *Neurochem Int* 2002; 41: 313-8.
- Shigeri Y, Seal RP, Shimamoto K. Molecular pharmacology of glutamate transporters, EAATs and VGLUTs. *Brain Res Rev* 2004; 45: 250-65.
- Balcar VJ. Molecular pharmacology of the  $Na^+$ -dependent transport of acidic amino acids in the mammalian central nervous system. *Biol Pharm Bull* 2002; 25: 291-301.
- Danbolt NC. Glutamate uptake. *Prog Neurobiol* 2001; 65: 1-105.
- Maragakis NJ, Rothstein JD. Glutamate transporters: animal models to neurologic disease. *Neurobiol Dis* 2004; 15: 461-73.
- Choi DW. Bench to bedside: the glutamate connection. *Science* 1992; 258: 241-3.
- Kanner BI, Schuldiner S. Mechanism of transport and storage of neurotransmitters. *CRC Crit Rev Biochem* 1987; 22: 1-38.
- Arriza JL, Fairman WA, Wadiche JI, Murdoch GH, Kavanaugh MP, Amara SG. Functional comparison of three glutamate transporter subtypes cloned from human motor cortex. *J Neurosci* 1994; 14: 5559-69.
- Kanai Y, Bhide PG, DiFiglia M, Hediger MA. Neuronal high-affinity glutamate transporter in the rat central nervous system. *Neuroreport* 1995; 6: 2357-62.
- Rothstein JD, Dykes-Hoberg M, Pardo CA, Bristol LA, Jin L, Kuncl RW, et al. Knockout of glutamate transporter reveals a major role for astroglial transport in excitotoxicity and clearance of glutamate. *Neuron* 1996; 16: 675-86.
- Danbolt NC. The high affinity uptake system for excitatory amino acids in the brain. *Progr Neurobiol* 1994; 44: 377-96.
- Kanai Y, Hediger MA. Primary structure and functional characterization of a high-affinity glutamate transporter. *Nature* 1992; 360: 467-71.
- Pines G, Danbolt NC, Bjoras M, Zhang Y, Bendahan A, Eide L, et al. Cloning and expression of a rat L-glutamate transporter. *Nature* 1992; 360: 464-7.
- Storck T, Schulte S, Hofmann K, Stoffel W. Structure, expression and functional analysis of a  $Na^+$ -dependent glutamate-aspartate transporter from the rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 10955-9.
- Fairman WA, Vandenberg RJ, Arriza JL, Kavanaugh MP, Amara SG. An excitatory amino acid transporter with properties of a ligand-gated chloride channel. *Nature* 1995; 375: 599-603.
- Arriza JL, Eliasof S, Kavanaugh MP, Amara SG. Excitatory amino acid transporter 5, a retinal glutamate transporter coupled to a chloride conductance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 4155-60.
- Arriza JL, Kavanaugh MP, Fairman WA, Wu YN, Murdoch GH, North RA, et al. Cloning and expression of a human neutral amino acid transporter with structural similarity to glutamate transporter gene family. *J Biol Chem* 1993; 268: 15329-32.
- Shafiqat S, Tamarappoo BK, Kilberg MS, Puranam RS, McNamara JO, Guadano-Ferraz A, et al. Cloning and expression of a novel  $Na^+$ -dependent neutral amino acid transporter structurally related to mammalian  $Na^+$ /glutamate cotransporters. *J Biol Chem* 1993; 268: 15351-5.
- Utsunomiya-Tate N, Endou H, Kanai Y. Cloning and functional characterization of a system ASC-like  $Na^+$ -dependent neutral amino acid transporter. *J Biol Chem* 1996; 271: 14883-90.
- Kanai Y, Smith CP, Hediger MA. The elusive transporters with a high affinity for glutamate. *Trends Neurosci* 1993; 16: 365-70.
- Slotboom DJ, Lolkema JS, Konings WN. Membrane topology of the C-terminal half of the neuronal, glial, and bacterial glutamate transporter family. *J Biol Chem* 1996; 271: 31317-21.
- Wahle S, Stoffel W. Membrane topology of the high-affinity L-glutamate transporter (GLAST-1) of the central nervous system. *J Cell Biol* 1996; 135: 1867-77.
- Grunewald M, Bendahan A, Kanner BI. Biotinylation of single cysteine mutants of the glutamate transporter GLT-1 from rat brain reveals its unusual topology. *Neuron* 1998; 21: 623-32.
- Seal RP, Amara SG. A reentrant loop domain in the glutamate carrier EAAT1 participates in substrate binding and translocation. *Neuron* 1998; 21: 1487-98.
- Seal RP, Leighton BH, Amara SG. A model for the topology of excitatory amino acid transporters determined by extracellular accessibility of substituted cysteines. *Neuron* 2000; 25: 695-706.
- Kanner BI, Kavanaugh MP, Bendahan A. Molecular characterization of substrates-binding sites in the glutamate transporter family. *Biochem Soc Trans* 2001; 6: 707-10.
- Grunewald M, Menaker D, Kanner BI. Cysteine-scanning mutagenesis reveals a conformationally sensitive reentrant pore-loop in the glutamate transporter GLT-1. *J Biol Chem* 2002; 277: 26074-80.
- Kanner BI, Borre L. The dual-function of glutamate transporters: structure and molecular characterisation of the substrate binding sites. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1555: 92-5.
- Leighton BH, Seal RP, Shimamoto K, Amara SG. A hydrophobic domain in glutamate transporters forms an extracellular helix associated with the permeation pathway for substrates. *J Biol Chem* 2002; 277: 29847-55.
- Rothstein JD, Martin L, Lavey AI, Dykes-Hoberg M, Jin L, Wu D, et al. Localization of neuronal and glial glutamate transporters. *Neuron* 1994; 13: 713-25.
- Furuta A, Martin LJ, Lin CLG, Dykes-Hoberg M, Rothstein JD. Cellular and synaptic localization of the neuronal glutamate transporters excitatory amino acid transporters 3 and 4. *Neuroscience* 1997; 81: 1031-42.
- Kataoka Y, Morii H, Watanabe Y, Ohomori H. A postsynaptic excitatory amino acid transporter with chloride conductance functionally regulated by neuronal activity in cerebellar Purkinje cells. *J Neurosci* 1997; 17: 7017-24.
- Yernool D, Boudker O, Jin Y, Gouaux E. Structure of a glutamate transporter homologue from *Pyrococcus horikoshii*. *Nature* 2004; 431: 811-8.
- 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; 445: 387-93.
- Eskandari S, Kreman M, Kavanaugh MP, Wright EM, Zampighi GA. Pentameric assembly of a neuronal glutamate transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 8641-6.
- Koch HP, Larsson H. Small-scale molecular motions accomplish glutamate uptake in human glutamate transporters. *J Neurosci* 2005; 25: 1730-6.
- Zhang Y, Bendahan A, Zarbiv R, Kavanaugh MP, Kanner BI. Molecular determinant of ion selectivity of a  $(Na^+ + K^+)$ -coupled rat brain glutamate transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 751-5.
- Zhang Y, Kanner BI. Two serine residues of the glutamate transporter GLT-1 are crucial for coupling the fluxes of sodium and the neurotransmitter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 1710-5.
- Kanner BI. Gate movements in glutamate transporters. *ACS Chem Biol* 2007; 2: 163-6.
- Kanner BI. Structure and function of sodium-coupled GABA and glutamate transporters. *J Membrane Biol* 2006; 213: 89-100.
- Logan WJ, Snyder SH. Unique high affinity uptake systems for glycine, glutamic and aspartic acids in the central nervous tissue of the rat. *Nature* 1971; 234: 297-9.
- Schousboe A. Transport and metabolism of glutamate and GABA in neurons and glial cells. *Int Rev Neurobiol* 1981; 22: 1-45.
- Bouvier M, Szatkowski M, Amato A, Attwell D. The glial cell glutamate uptake carrier countertransports pH-changing anions. *Nature* 1992; 360: 471-4.
- Kanai Y, Nussberger S, Romero FM, Boron WF, Hebert SC, Hediger MA. Electrogenic properties of the epithelial and neuronal high affinity glutamate transporter. *J Biol Chem* 1995; 270: 16561-8.
- Zerangue N, Kavanaugh MP. Flux coupling in a neuronal glutamate transporter. *Nature* 1996; 383: 634-7.

50. Levy LM, Warr O, Attwell D. Stoichiometry of the glial glutamate transporter GLT-1 expressed inducibly in a Chinese hamster ovary cell line selected for low endogenous Na<sup>+</sup>-dependent glutamate uptake. *J Neurosci* 1998; 18: 9620-8.
51. Mennerick S, Zorumski CF. Glial contributions to excitatory neurotransmission in cultured hippocampal cells. *Nature* 1994; 368: 59-62.
52. Nussberger S, Foret F, Hebert SC, Karger BL, Hediger MA. Nonradioactive monitoring of organic and inorganic solute transport into single *Xenopus oocytes* by capillary zone electrophoresis. *Biophys J* 1996; 70: 998-1005.
53. Kanai Y, Trotti D, Berger UV, Hediger MA. The high-affinity glutamate and neutral amino-acid transporter family. In Reith MEA, ed. *Neurotransmitter transporters. Structure, function, and regulation*. Totowa, NJ: Humana Press; 2002. p. 255-311.
54. Wadiche JI, Arriza JL, Amara SG, Kavanaugh MP. Kinetics of a human glutamate transporter. *Neuron* 1995; 14: 1019-27.
55. Clements JD, Lester RA, Tong G, Jahr CE, Westbrook GL. The time course of glutamate in the synaptic cleft. *Science* 1992; 258: 1498-501.
56. Diamond JS. Deriving the glutamate clearance time course from transporter currents in CA1 hippocampal astrocytes: transmitter uptake gets faster during development. *J Neurosci* 2005; 25: 2906-16.
57. Fairman WA, Vandenberg RJ, Arriza JL, Kavanaugh M P, Amara SG. An excitatory amino-acid transporter with properties of a ligand-gated chloride channel. *Nature* 1995; 375: 599-603.
58. Billups B, Rossi D, Attwell D. Anion conductance behavior of the glutamate uptake carrier in salamander retinal glial cells. *J Neurosci* 1996; 16: 6722-31.
59. Sonders MS, Amara SG. Channels in transporters. *Curr Opin Neurobiol* 1996; 6: 294-302.
60. Otis T, Jahr CE. Anion currents and predicted glutamate flux through a neuronal glutamate transporter. *J Neurosci* 1998; 18: 7099-110.
61. Seal RP, Amara SG. Excitatory amino acid transporter: a family in flux. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 431-56.
62. Eliasof S, Arriza JL, Kavanaugh MP, Amara SG. Excitatory amino acid transporters of the salamander retina: identification, localization and function. *J Neurosci* 1998; 18: 698-712.
63. Koch HP, Brown RL, Larsson HP. The glutamate-activated anion conductance in excitatory amino acid transporters is gated independently by the individual subunits. *J Neurosci* 2007; 27: 2943-7.
64. Leary GP, Stone EF, Holley DC, Kavanaugh MP. The glutamate and chloride permeation pathways are colocalized in individual neuronal glutamate transporter subunits. *J Neurosci* 2007; 27: 2938-42.
65. Ryan RM, Mitrovic AD, Vandenberg RJ. The chloride permeation pathway of a glutamate transporter and its proximity to the glutamate translocation pathway. *J Biol Chem* 2004; 279: 20742-51.
66. Kavanaugh MP, Bendahan A, Zerangue N, Zhang Y, Kanner BI. Mutation of an amino acid residue influencing potassium coupling in the glutamate transporter GLT-1 induces obligate exchange. *J Biol Chem* 1997; 272: 1703-8.
67. Borre L, Kanner BI. Coupled, but not uncoupled, fluxes in a neuronal glutamate transporter can be activated by lithium ions. *J Biol Chem* 2001; 276: 40396-401.
68. Nakayama T, Kawakami H, Tanaka K, Nakamura S. Expression of three glutamate transporter subtype mRNAs in human brain regions and peripheral tissues. *Mol Brain Res* 1996; 36: 189-92.
69. Chaudhry FA, Lehre K, Van Lookeren Campagne M, Ottersen OP, Danbolt NC, Storm-Mathisen J. Glutamate transporters in glial plasma membranes: highly differentiated localizations revealed by quantitative ultrastructural immunocytochemistry. *Neuron* 1995; 15: 711-20.
70. Lehre KP, Levy LM, Storm-Mathisen J, Ottersen OP, Danbolt NC. Differential expression of two glial glutamate transporters in the rat brain: quantitative and immunocytochemical observations. *J Neurosci* 1995; 15: 1835-53.
71. Shibata T, Watanabe M, Tanaka K, Wada K, Inoue Y. Dynamic changes in expression of glutamate transporters mRNAs in developing brain. *Neuroreport* 1996; 7: 705-9.
72. Ingram EM, Tessler S, Bowery NG, Emson PC. Glial glutamate transporter mRNAs in the genetically absence epilepsy rat from Strasbourg. *Mol Brain Res* 2000; 75: 96-104.
73. Schmitt A, Asan E, Puschel B, Jons TH, Kugler P. Expression of the glutamate transporter GLT-1 in neural cells of the rat central nervous system: non-radioactive in situ hybridization and comparative immunocytochemistry. *Neuroscience* 1996; 71: 989-1004.
74. Schmitt A, Asan E, Puschel B, Kugler P. Cellular and regional distribution of the glutamate transporter GLAST in the CNS of rats: non-radioactive in situ hybridisation and comparative immunocytochemistry. *J Neurosci* 1997; 17: 1-10.
75. Torp R, Hoyer F, Danbolt NC, Storm-Mathisen J, Ottersen OP. Differential distribution of the glutamate transporters GLT1 and rEAAC1 in rat cerebral cortex and thalamus: an in situ hybridization analysis. *Anat Embryol* 1997; 195: 317-26.
76. Tessler S, Danbolt NC, Faull RLM, Storm-Mathisen J, Emson PC. Expression of the glutamate transporters in human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 1999; 88: 1083-91.
77. Danbolt NC, Storm-Mathisen J, Kanner BI. An [Na<sup>+</sup> + K<sup>+</sup>]coupled L-glutamate transporter purified from rat brain is located in glial cell processes. *Neuroscience* 1992; 51: 295-310.
78. Haugeto O, Ullensvang K, Levy LM, Chaudhry FA, Honoré T, Nielsen M, et al. Brain glutamate transporter proteins form homomultimers. *J Biol Chem* 1996; 271: 27715-22.
79. Zhou J, Sutherland ML. Glutamate transporter cluster formation in astrocytic processes regulates glutamate uptake activity. *J Neurosci* 2004; 24: 6301-6.
80. Sheldon AL, González MI, Robinson MB. A carboxyl-terminal determinant of the neuronal glutamate transporter, EAAC1, is required for platelet-derived growth factor-dependent trafficking. *J Biol Chem* 2006; 281: 4876-86.
81. Zhou J, Sutherland ML. Glutamate transporter cluster formation in astrocytic processes regulates glutamate uptake activity. *J Neurosci* 2004; 24: 6301-6.
82. González E, Nagiel A, Lin AJ, Golan DE, Michel T. Small interfering RNA-mediated down-regulation of caveolin-1 differentially modulates signaling pathways in endothelial cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 40659-69.
83. Butchbach MER, Tian G, Guo H, Lin CLG. Association of excitatory amino acid transporters, especially EAAT2, with cholesterol-rich lipid raft microdomains: importance for excitatory amino acid transporter localization and function. *J Biol Chem* 2004; 279: 34388-96.
84. Velaz-Faircloth M, McGraw TS, Alandro MS, Fremeau RTJ, Kilberg MS, Anderson KJ. Characterization and distribution of the neuronal glutamate transporter EAAC1 in rat brain. *Am J Physiol* 1996; 271: c67-75.
85. Yamada K, Watanabe M, Shibata T, Tanaka K, Wada K, Inoue Y. EAAT4 is a post-synaptic glutamate transporter at Purkinje cell synapses. *Neuroreport* 1996; 7: 2013-7.
86. Nagao S, Kwak S, Kanazawa I. EAAT4, a glutamate transporter with properties of a chloride channel, is predominantly localized in Purkinje cell dendrites, and forms parasagittal compartments in rat cerebellum. *Neuroscience* 1997; 78: 929-33.
87. Tanaka K, Watase K, Manabe J, Watanabe M, Takahashi K, Iwama H, et al. Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1. *Science* 1997; 276: 1699-702.
88. Coco S, Verderio C, Trotti D, Rothstein JD, Voltera A, Matteoli M. Non-synaptic localization of the glutamate transporter EAAC1 in cultured hippocampal neurons. *Eur J Neurosci* 1997; 9: 1902-10.
89. Bergles DE, Diamond JS, Jahr CE. Clearance of glutamate inside the synapse and beyond. *Curr Opin Neurobiol* 1999; 9: 293-8.
90. Veruki ML, Morkve SH, Hartveit E. Activation of a presynaptic glutamate transporter regulates synaptic transmission through electrical signaling. *Nat Neurosci* 2006; 9: 1388-96.
91. Wadiche JI, Von Gersdorff H. Long-distance signaling via presynaptic glutamate transporters. *Nat Neurosci* 2006; 9: 1352-3.
92. Aoyama K, Suh SW, Hamby AM, Liu J, Chan WY, Chen Y, et al. Neuronal glutathione deficiency and age dependent neurodegeneration in the EAAC1 deficient mouse. *Nat Neurosci* 2006; 9: 119-26.
93. Voutsinos-Porche B, Bonvento G, Tanaka K, Steiner P, Welker E, Chatton JY, et al. Glial glutamate transporters mediate a functional metabolic crosstalk between neurons and astrocytes in the mouse developing cortex. *Neuron* 2003; 37: 275-86.
94. Lortet S, Samuel D, Had-Aissouini L, Masmejean F, Kerkerian-LeGoff L, Pisano P. Effects of PKA and PKC modulators on high affinity glutamate uptake in primary neuronal cell cultures from rat cerebral cortex. *Neuropharmacology* 1999; 38: 395-402.
95. Casado M, Zafra F, Aragón C, Giménez C. Activation of high-affinity uptake of glutamate by phorbol esters in primary glial cell culture. *J Neurochem* 1991; 57: 1185-90.
96. Casado M, Bendahan A, Zafra F, Danbolt NC, Aragón C, Giménez C, et al. Phosphorylation and modulation of brain glutamate transporters by protein kinase C. *J Biol Chem* 1993; 268: 27313-7.
97. Robinson MB. Regulated trafficking of neurotransmitter transporters: common notes but different melodies. *J Neurochem* 2002; 80: 1-11.
98. Gegelashvili G, Danbolt NC, Schousboe A. Neuronal soluble factors differentially regulate the expression of the GLT1 and GLAST glutamate transporters in cultured astroglia. *J Neurochem* 1997; 69: 2612-5.
99. Fairman WA, Sonders MS, Murdoch GH, Amara SG. Arachidonic acid elicits a substrate-gated proton current associated with the glutamate transporter EAAT. *Nat Neurosci* 1998; 1: 105-13.
100. Sims KD, Straff DJ, Robinson MB. Platelet-derived growth factor rapidly increases activity and cell surface expression of the EAAC1 sub-

- type of glutamate transporter through activation of phosphatidylinositol 3-kinase. *J Biol Chem* 2000; 275: 5228-37.
101. Guo ZH, Mattson MP. Neurotrophic factors protect cortical synaptic terminals against amyloid and oxidative stress-induced impairment of glucose transport, glutamate transport and mitochondrial function. *Cereb Cortex* 2000; 10: 50-7.
  102. Chen W, Aoki C, Mahadomrongkul V, Gruber CE, Wang GJ, Blitzblau R, et al. Expression of a variant form of the glutamate transporter GLT1 in neuronal cultures and in neurons and astrocytes in the rat brain. *J Neurosci* 2002; 22: 2142-52.
  103. Chen W, Mahadomrongkul V, Berger UV, Bassan M, DeSilva T, Tanaka K, et al. The glutamate transporter GLT1a is expressed in excitatory axon terminals of mature hippocampal neurons. *J Neurosci* 2004; 24: 1136-48.
  104. Sullivan R, Rauen T, Fischer F, Wiessner M, Grewer C, Bicho A, et al. Cloning, transport properties, and differential localization of two splice variants of GLT-1 in the rat CNS: implications for CNS glutamate homeostasis. *Glia* 2004; 45: 155-69.
  105. Vallejo-Illarramendi A, Domercq M, Matute C. A novel alternative splicing form of excitatory amino acid transporter 1 is a negative regulator of glutamate uptake. *J Neurochem* 2005; 95: 341-8.
  106. Matsumoto Y, Enomoto T, Masuko T. Identification of truncated human glutamate transporter. *Tohoku J Exp Med* 1999; 187: 173-82.
  107. Jin XP, Peng JB, Huang F, Zhu YN, Fei J, Guo LH. A mRNA molecule encoding truncated excitatory amino acid carrier 1 (EAAC1) protein (EAAC2) is transcribed from an independent promoter but not an alternative splicing event. *Cell Res* 2002; 12: 257-62.
  108. Lin CI, Orlov I, Ruggiero AM, Dkes-Hoberg M, Lee A, Jackson M, et al. Modulation of the neuronal glutamate transporter EAAC1 by the interacting protein GTRAP3-18. *Nature* 2001; 410: 84-8.
  109. Jackson M, Song W, Liu MY, Jin L, Dykes-Hoberg M, Lin CI, et al. Modulation of the neuronal glutamate transporter EAAT-4 by two interacting proteins. *Nature* 2001; 410: 89-93.
  110. Rothstein JD, Van Kammen M, Levey AI, Martin LJ, Kunczi RW. Selective loss of glial glutamate transporter GLT-1 in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1995; 38: 78-84.
  111. Masliah E, Alford M, De Teresa R, Mallory M, Hansen L. Deficient glutamate transport is associated with neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1996; 40: 759-66.
  112. Beal MF, Kowall NW, Ellison DWM, Mazurek MF, Wartz KJ, Martin JB. Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid. *Nature* 1986; 321: 168-71.
  113. Balandini F, Porter RHP, Greenamyre JT. Glutamate and Parkinson's disease. *Mol Neurobiol* 1996; 12: 73-94.
  114. Miller HP, Levay AI, Rothstein JD, Tzingounis AV, Conn PJ. Alteration in glutamate transporter protein levels in kindling-induced epilepsy. *J Neurochem* 1997; 68: 1564-70.
  115. Morales-Villagrán A, Tapia R. Preferential stimulation of glutamate release by 4-aminopyridine in rat striatum in vivo. *Neurochem Int* 1996; 28: 35-40.
  116. Medina-Ceja L, Morales-Villagrán A, Tapia R. Action of 4-aminopyridine on extracellular amino acids in hippocampus and entorhinal cortex: a dual microdialysis and electroencephalographic study in awake rats. *Brain Res Bull* 2000; 53: 255-62.
  117. Tapia R, Medina-Ceja L, Peña F. On the relationship between extracellular glutamate, hyperexcitation and neurodegeneration, in vivo. *Neurochem Int* 1999; 34: 23-31.
  118. Morales-Villagrán A, Medina-Ceja L. Aminoácidos neurotransmisores y catecolaminas en el proceso convulsivo. *Ciencia* 1996; 47: 68-75.
  119. Watanabe T, Morimoto K, Hirao T, Suwaki H, Watase K, Tanaka K. Amygdala-kindled and pentylene-tetrazole-induced seizures in glutamate transporter GLAST-deficient mice. *Brain Res* 1999; 845: 92-6.
  120. Yi JH, Hazell AS. Excitotoxic mechanisms and the role of astrocytic glutamate transporters in traumatic brain injury. *Neurochem Int* 2006; 48: 394-403.
  121. Overstreet LS, Kinney GA, Liu YB, Bilups D, Slater NT. Glutamate transporters contribute to the time course of synaptic transmission in cerebellar granule cells. *J Neurosci* 1999; 19: 9663-73.
  122. Meldrum BS, Akbar MT, Chapman AG. Glutamate receptors and transporters in genetic and acquired models of epilepsy. *Epilepsy Res* 1999; 36: 189-204.
  123. Huang YH, Sinha SR, Tanaka K, Rothstein JD, Bergles DE. Astrocyte glutamate transporters regulate metabotropic glutamate receptor-mediated excitation of hippocampal interneurons. *J Neurosci* 2004; 24: 4551-9.
  124. Huang H, Bordey A. Glial glutamate transporters limit spillover activation of presynaptic NMDA receptors and influence synaptic inhibition of Purkinje neurons. *J Neurosci* 2004; 24: 5659-69.
  125. Akbar MT, Rattray M, Williams RJ, Chong NWS, Meldrum BS. Reduction of GABA and glutamate transporter messenger RNAs in the severe-seizure genetically epilepsy-prone rat. *Neuroscience* 1998; 85: 1235-51.
  126. Tanaka K, Watase K, Manabe T, Yamada K, Watanabe M, Takahashi K. Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1. *Science* 1997; 276: 1699-702.
  127. Dutuit M, Touret M, Szymocha E, Nehlig A, Belin MF, Didier-Bazés M. Decreased expression of glutamate transporters in genetic absence epilepsy rats before seizure occurrence. *J Neurochem* 2002; 80: 1029-38.
  128. Nicholls D, Attwell D. The release and uptake of excitatory amino acids. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 462-8.
  129. Rothstein JD, Martin LJ, Kunczi RW. Decreased brain and spinal cord glutamate transport in amyotrophic lateral sclerosis. *N Engl J Med* 1992; 326: 1464-8.
  130. Kanai Y, Hediger MA. High affinity glutamate transporters: physiological and pathophysiological relevance in the central nervous system. In Brann DW, Mahesh VB, eds. *Excitatory amino acids*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1995. p. 103-31.
  131. Rossi DJ, Oshima T, Attwell D. Glutamate release in severe brain ischemia is mainly by reverse uptake. *Nature* 2000; 403: 316-21.
  132. García-López M. Transportadores axolemales para la captación de neurotransmisores. *Rev Neurol* 1999; 29: 1056-63.
  133. Goddard GV, McIntyre DC, Leech CK. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Expl Neurol* 1969; 25: 295-330.
  134. Akbar MT, Torp R, Danbolt NC, Levy LM, Meldrum BS, Ottersen OP. Expression of glial glutamate transporters GLT-1 and GLAST is unchanged in the hippocampus in fully kindled rats. *Neuroscience* 1997; 78: 351-9.
  135. Nonaka M, Kohmura E, Yamashita T, Shimada S, Tanaka K, Yoshimine T, et al. Increased transcription of glutamate-aspartate transporter (GLAST/GluT-1) mRNA following kainic acid-induced limbic seizure. *Mol Brain Res* 1998; 55: 54-60.
  136. Duan S, Anderson CM, Stein BA, Swanson RA. Glutamate induces rapid upregulation of astrocyte glutamate transport and cell-surface expression of GLAST. *J Neurosci* 1999; 19: 10193-200.
  137. Simantov R, Crispino M, Hoe W, Broutman G, Tocco G, Rothstein JD, et al. Changes in expression of neuronal and glial glutamate transporters in rat hippocampus following kainate-induced seizure activity. *Mol Brain Res* 1999; 65: 112-23.
  138. Doi T, Ueda Y, Tokumaru J, Mitsuyama Y, Willmore LJ. Sequential changes in glutamate transporter mRNA levels during Fe<sup>2+</sup>-induced epileptogenesis. *Mol Brain Res* 2000; 75: 105-12.
  139. Ueda Y, Doi T, Tokumaru J, Willmore LJ. Effect of zonisamide on molecular regulation of glutamate and GABA transporter proteins during epileptogenesis in rats with hippocampal seizures. *Mol Brain Res* 2003; 116: 1-6.
  140. Ueda Y, Doi T, Nagatomo K, Tokumaru J. Effect of levetiracetam on molecular regulation of hippocampal glutamate and GABA transporters in rats with chronic seizures induced by amygdala FeCl<sub>3</sub> injection. *Brain Res* 2007; 1151: 55-61.
  141. Zhang G, Raol YSH, Hsu FC, Brooks-Kayal AR. Long-term alterations in glutamate receptor and transporter expression following early-life seizures are associated with increased seizure susceptibility. *J Neurochem* 2004; 88: 91-101.
  142. Gorter JA, Van Vliet EA, Proper EA, De Graan PNE, Ghijsen WEJM, Lopes da Silva FH, et al. Glutamate transporters alterations in the reorganizing dentate gyrus are associated with progressive seizure activity in chronic epileptic rats. *J Comp Neurol* 2002; 442: 365-77.
  143. Jabaudon D, Scanziani M, Gahwiler BH, Gerber U. Acute decrease in net glutamate uptake during energy deprivation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 5610-5.
  144. Zhang G, Raol YSH, Hsu FC, Brooks-Kayal AR. Long-term alterations in glutamate receptor and transporter expression following early life seizures are associated with increased seizure susceptibility. *J Neurochem* 2004; 24: 5877-80.
  145. Demarque M, Villeneuve N, Manent JB, Becq H, Represa A, Ben-Ari Y, et al. Glutamate transporters prevent the generation of seizures in the developing rat neocortex. *J Neurosci* 2004; 24: 3289-94.
  146. Milh M, Becq H, Villeneuve N, Ben-Ari Y, Aniksztejn L. Inhibition of glutamate transporters results in a 'suppression-burst' pattern and partial seizures in the newborn rat. *Epilepsia* 2007; 48: 169-74.
  147. Tharp BR. Neonatal seizures and syndromes. *Epilepsia* 2002; 43: 2-10.
  148. Ohtahara S, Yamatogi Y. Epileptic encephalopathies in early infancy with suppression-burst. *J Clin Neurophysiol* 2003; 20: 398-407.
  149. Mathern GW, Mendoza D, Lozada A, Pretorius JK, Dehnes Y, Danbolt NC, et al. Hippocampal GABA and glutamate transporter immunoreactivity in patients with temporal lobe epilepsy. *Neurology* 1999; 52: 453-72.
  150. Proper EA, Hoogland G, Kappen SM, Jansen GH, Rensen MGA, Schrama LH, et al. Distribution of glutamate transporters in the hippocam-

- pus of patients with pharmaco-resistant temporal lobe epilepsy. *Brain* 2002; 125: 32-43.
151. Hoogland G, Van Oort RJ, Proper EA, Jansen GH, Van Rijen PC, Van Veelen CW, et al. Alternative splicing of glutamate transporter EAAT2 RNA in neocortex and hippocampus of temporal lobe epilepsy patients. *Epilepsy Res* 2004; 59: 75-82.
  152. Gotz ME, Kunig G, Riederer P, Youdim MB. Oxidative stress: free radical production in neural degeneration. *Pharmacol Ther* 1994; 63: 37-122.
  153. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239-47.
  154. Beal MF. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1366: 211-23.
  155. Crumpton TL, Seidler FJ, Slotkin TA. Is oxidative stress involved in the developmental neurotoxicity of chlorpyrifos? *Brain Res Dev Brain Res* 2000; 121: 189-95.
  156. Schapira AH. Mitochondrial involvement in Parkinson's disease, Huntington's disease, hereditary spastic paraplegia and Friedreich's ataxia. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1410: 159-70.
  157. Liang LP, Ho YS, Patel M. Mitochondrial superoxide production in kainate-induced hippocampal damage. *Neuroscience* 2000; 101: 563-70.
  158. Kudin AP, Kudina TA, Seyfried J, Vielhaber S, Beck H, Elger CE, et al. Seizure-dependent modulation of mitochondrial oxidative phosphorylation in rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 2002; 15: 1105-14.
  159. Liang LP, Patel M. Mitochondrial oxidative stress and increased seizure susceptibility in Sod2(-/+) mice. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 542-54.
  160. Dutuit M, Touret M, Szymocha R, Nehlig A, Belin MF, Didier-Bazes M. Decreased expression of glutamate transporters in genetic absence epilepsy rats before seizure occurrence. *J Neurochem* 2002; 80: 1029-38.
  161. Ingram EM, Wiseman JW, Tessler S, Emson PC. Reduction of glial glutamate transporters in the parietal cortex and hippocampus of the EL mouse. *J Neurochem* 2001; 79: 564-75.
  162. Trotti D, Danbolt NC, Volterra A. Glutamate transporters are oxidant-vulnerable: a molecular link between oxidative and excitotoxic neurodegeneration? *Trends Pharmacol Sci* 1998; 19: 328-34.
  163. Bruijn LI, Becher MW, Lee MK, Anderson KL, Jenkins NA, Copeland NG, et al. ALS-linked SOD1 mutant G85R mediates damage to astrocytes and promotes rapidly progressive disease with SOD1-containing inclusions. *Neuron* 1997; 18: 327-38.
  164. Trotti D, Rolfs A, Danbolt NC, Brown RH Jr, Hediger MA. SOD1 mutants linked to amyotrophic lateral sclerosis selectively inactivate a glial glutamate transporter. *Nat Neurosci* 1999; 2: 427-33.
  165. Volterra A, Trotti D, Floridi S, Racagni G. Reactive oxygen species inhibit high-affinity glutamate uptake: molecular mechanism and neuropathological implications. *Ann NY Acad Sci* 1994; 738: 153-62.
  166. Volterra A, Trotti D, Racagni G. Glutamate uptake is inhibited by arachidonic acid and oxygen radicals via two distinct and additive mechanisms. *Mol Pharmacol* 1994; 46: 986-92.
  167. Volterra A, Trotti D, Tromba C, Floridi S, Racagni G. Glutamate uptake inhibition by oxygen free radicals in rat cortical astrocytes. *J Neurosci* 1994; 14: 2924-32.
  168. Trotti D, Rizzini BL, Rossi D, Haugeo O, Racagni G, Danbolt NC, et al. Neuronal and glial glutamate transporters possess an SH-based redox regulatory mechanism. *Eur J Neurosci* 1997; 9: 1236-43.
  169. Ueda Y, Doi T, Nagatomo K, Willmore LJ, Nakajima A. Functional role for redox in the epileptogenesis: molecular regulation of glutamate in the hippocampus of FeCl(3)-induced limbic epilepsy model. *Exp Brain Res* 2007; 181: 571-7.
  170. Bjornsen LP, Eid T, Holmseth S, Danbolt NC, Spencer DD, De Lanerolle NC. Changes in glial glutamate transporters in human epileptogenic hippocampus: inadequate explanation for high extracellular glutamate during seizures. *Neurobiol Dis* 2007; 25: 319-30.

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF GLUTAMATE TRANSPORTERS:  
HOW THEY ARE RELATED TO EPILEPSY AND OXIDATIVE STRESS**

**Summary.** Aims. *The article highlights the general structural characteristics, functional properties and distribution of glutamate transporters, as well as the role they play in epilepsy and oxidative stress.* Development. *Transporters of amino acids such as glutamate are considered to be proteins that are extremely important in the central nervous system because they participate in the capture of the neurotransmitter following its release in the synaptic cleft, thus putting an end to its effect and limiting glutamate-mediated excitability. These proteins belong to the family of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> dependent transporters. A growing body of evidence has been gathered to show that these transporters are involved in several neuronal disorders, such as epilepsy and cerebral ischaemia. In this regard, it is considered that some defect in the structure of the transporters could affect their functioning and, therefore, favour the hyperexcitability produced by glutamate; this in turn would lead to the pathological disorders that are found in epilepsy.* Conclusions. *A detailed study of the structure and functioning of these transporters, as well as the role they play in the more common neurological diseases, such as epilepsy, would afford us a clearer view of new therapeutic alternatives with which to fight this kind of neuronal disorder in the future.* [REV NEUROL 2007; 45: 341-52]

**Key words.** *Central nervous system. Epilepsy. Function. Glutamate. Glutamate transporters. Oxidative stress. Structure.*