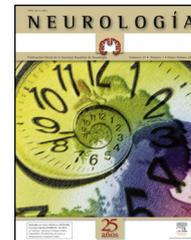




# NEUROLOGÍA

[www.elsevier.es/neurologia](http://www.elsevier.es/neurologia)



## REVISIÓN

### Astrocitos en las enfermedades neurodegenerativas (I): función y caracterización molecular

T. Guillamón-Vivancos<sup>a</sup>, U. Gómez-Pinedo<sup>a,\*</sup> y J. Matías-Guiu<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Medicina Regenerativa, Instituto de Neurociencias, IdISSC, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

<sup>b</sup> Servicio de Neurología, Instituto de Neurociencias, IdISSC, Hospital Clínico San Carlos, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

Recibido el 10 de diciembre de 2012; aceptado el 15 de diciembre de 2012

Accesible en línea el 1 de marzo de 2013

#### PALABRAS CLAVE

Astrocito;  
Neurodegeneración;  
Proteína ácida fibrilar  
glial;  
Astrocytosis;  
Glía;  
Enfermedades  
neurodegenerativas

#### KEYWORDS

Astrocyte;  
Neurodegeneration;  
Glial fibrillary acidic  
protein;  
Astrocytosis;  
Glia;  
Neurodegenerative  
diseases

#### Resumen

**Introducción:** Los astrocitos han sido considerados como células de sostén en el SNC. Sin embargo, hoy día se sabe que participan de forma activa en muchas de las funciones del SNC y que pueden tener un papel destacado en las enfermedades neurodegenerativas.

**Desarrollo:** Se revisan las funciones del astrocito en el desarrollo y plasticidad del SNC, en el control sináptico, regulación del flujo sanguíneo, energía y metabolismo, en la barrera hematoencefálica, regulación de los ritmos circadianos, metabolismo lipídico y secreción de lipoproteínas y en la neurogénesis. Asimismo, se revisan sus marcadores y el papel de la astrogliosis.

**Conclusión:** Los astrocitos tienen un papel activo en el SNC. Su conocimiento parece esencial para comprender los mecanismos de las enfermedades neurodegenerativas.

© 2012 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

#### Astrocytes in neurodegenerative diseases (I): Function and molecular description

#### Abstract

**Introduction:** Astrocytes have been considered mere supporting cells in the CNS. However, we now know that astrocytes are actively involved in many of the functions of the CNS and may play an important role in neurodegenerative diseases.

**Development:** This article reviews the roles astrocytes play in CNS development and plasticity; control of synaptic transmission; regulation of blood flow, energy, and metabolism; formation of the blood-brain barrier; regulation of the circadian rhythms, lipid metabolism and secretion of lipoproteins; and in neurogenesis. Astrocyte markers and the functions of astrogliosis are also described.

**Conclusion:** Astrocytes play an active role in the CNS. A good knowledge of astrocytes is essential to understanding the mechanisms of neurodegenerative diseases.

© 2012 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

\* Autor para correspondencia.

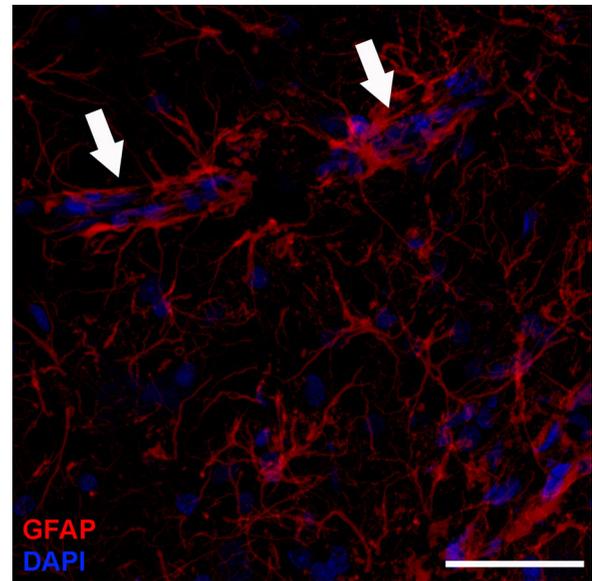
Correo electrónico: [ulisesalfonso.gomez@salud.madrid.org](mailto:ulisesalfonso.gomez@salud.madrid.org) (U. Gómez-Pinedo).

## Introducción

Las células de la glía constituyen la mayor parte de las células del sistema nervioso. La glía (del griego glía, que significa «unión», «pegamento») se conserva a lo largo de la evolución y su proporción en el sistema nervioso parece estar correlacionada con el tamaño del animal: por ejemplo, es del 25% en la mosca de la fruta, del 65% en el ratón, del 90% en el ser humano y de hasta el 97% en elefante<sup>1</sup>. Las células gliales se clasifican, según su morfología, función y localización, en: 1) microglía, las únicas células gliales de origen inmunitario, que llegan al cerebro a través de la sangre durante el desarrollo temprano; 2) astrocitos, y 3) células de Schwann y oligodendrocitos, que forman capas de mielina alrededor de los axones en el sistema nervioso periférico y central, respectivamente. Algunos autores describen un tipo especial de células gliales, la glía-NG2, que recibe input sináptico directamente de las neuronas<sup>2</sup>. Los astrocitos son las células gliales más abundantes (constituyen el 25% del volumen cerebral)<sup>3</sup>. Mientras que la función de la microglía y la de los oligodendrocitos es ampliamente conocida (defensa local y mielinización, respectivamente), la de los astrocitos es más enigmática. Aunque desde su descripción por Ramón y Cajal y más tarde por Río-Ortega se habían considerado tradicionalmente como simples células de soporte, en los últimos años se ha reconsiderado su función. A medida que se avanzó en su conocimiento se estableció que eran elementos necesarios para mantener el microambiente que permite el correcto funcionamiento, y en los últimos 20 años se les ha atribuido una gran variedad de funciones específicas. La caracterización molecular de estas células ha puesto de manifiesto que desempeñan un papel fundamental en la transmisión de información en el sistema nervioso. En esta revisión, que consta de 2 partes, se pretende analizar el papel que los astrocitos pueden tener en los mecanismos potenciales de las enfermedades neurodegenerativas más frecuentes.

## Morfología y organización de los astrocitos

En función de su morfología, fenotipo antigénico y localización, los astrocitos se clasifican en 2 grandes grupos: protoplásmicos y fibrosos. Los astrocitos protoplásmicos se encuentran en la sustancia gris y sus procesos envuelven tanto sinapsis —alrededor de 100.000 cada astrocito<sup>4</sup>— como vasos sanguíneos (fig. 1). Presentan una morfología globosa, con varias ramas principales que dan lugar a procesos muy ramificados con distribución uniforme. Los astrocitos fibrosos se localizan en la sustancia blanca y contactan con los nodos de Ranvier y con los vasos sanguíneos. Su ramificación es menor y sus procesos más alargados, a modo de fibras. Aunque los astrocitos ocupan lugares discretos y sus proyecciones no se solapan en el cerebro adulto, análisis de microscopía electrónica revelan que ambos subtipos establecen uniones gap con procesos de astrocitos vecinos. Aunque esta clasificación es ampliamente utilizada, los astrocitos son una población muy heterogénea donde se distinguen muchos subtipos. Es más, los astrocitos se diferencian incluso dentro de una misma región cerebral. Esto no es sorprendente si se tiene en cuenta que deben llevar

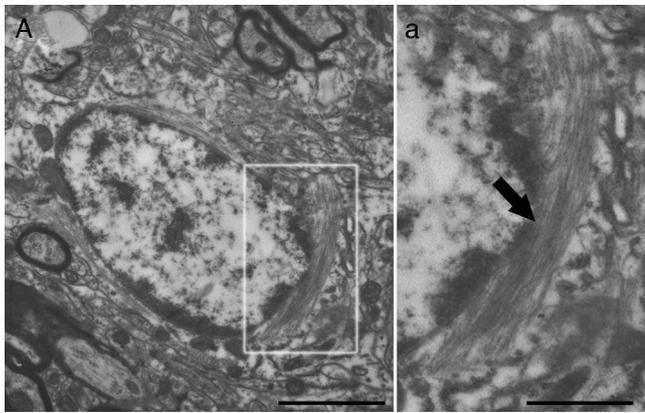


**Figura 1** Los astrocitos se caracterizan por presentar una morfología estrellada, además los capilares cerebrales están rodeados casi en su integridad por los pies terminales de las fibras astrocitarias (flechas). Inmunohistoquímica contra GFAP, (rojo: astrocitos; azul: núcleos). Imagen de microscopía confocal. Barra = 70 micras.

a cabo sus funciones en regiones específicas del sistema nervioso<sup>1</sup>. Existen, por ejemplo, astrocitos especializados, como la glía de Müller en la retina, o la glía de Bergmann en el cerebelo<sup>5</sup>. Las células de estirpe astrocitaria de la zona subventricular (SVZ) constituyen un subtipo de astrocitos con capacidad proliferativa en cerebro adulto. La disposición de los astrocitos en el sistema nervioso es ordenada y sin apenas solapamiento desde su origen en el período posnatal, paralelamente a los territorios vasculares y neuronales<sup>6</sup>. En la sustancia gris, solo los extremos distales de los astrocitos protoplásmicos se entrelazan, proporcionando el sustrato para la formación de uniones gap<sup>7-9</sup>. Una organización similar podría existir en los astrocitos fibrosos de sustancia blanca, aunque esto aun no ha sido demostrado<sup>10</sup>.

## Caracterización molecular, proteína ácida fibrilar glial y otros marcadores astrocitarios

Las propiedades estructurales del citoesqueleto de astrocitos son mantenidas gracias a la red de filamentos intermedios (fig. 2), de la cual el componente fundamental es la proteína ácida fibrilar glial (GFAP). Además de las propiedades estructurales, se ha propuesto que la red de filamentos intermedios tiene otras asociadas a transducción de señales biomecánicas y moleculares<sup>11</sup>. La GFAP, inducida en daño cerebral y degeneración del sistema nervioso central (SNC) y cuya expresión aumenta con la edad, es el marcador clásico para la identificación inmunohistoquímica de astrocitos. Se aisló por primera vez en placas de pacientes con esclerosis múltiple, constituidas por axones desmielinizados y astrocitos fibrosos<sup>12,13</sup>.



**Figura 2** Imagen de microscopía electrónica donde se muestra un astrocito (A) donde sobresalen las siguientes características: el citoplasma es más claro y con algunos ribosomas. El núcleo de estas células presenta cromatina densa. Son células ricas en filamentos intermedios (a, flecha), constituidos entre otras por una proteína específica, GFAP (del inglés *glial fibrillary acidic protein*) (detalle a). Barras A=2 micras; a=0,5 micras.

La GFAP tiene 8 isoformas, que se forman por *splicing* alternativo, cada una de las cuales se expresa en subgrupos específicos de astrocitos y confiere propiedades estructurales diferentes a la red de filamentos intermedios. La isoforma más abundante, la GFAP $\alpha$ , fue la primera en ser identificada<sup>14</sup>. Más tarde se describieron las isoformas  $\beta$  (la única que no se ha identificado en seres humanos, solo en rata)<sup>15</sup>,  $\gamma$ <sup>16</sup>,  $\delta/\varepsilon$ <sup>17,18</sup>,  $\kappa$ <sup>19</sup> y  $\Delta 135$ ,  $\Delta 164$  y  $\Delta \text{exon}6$ <sup>20</sup>.

De las isoformas humanas, probablemente la más interesante es la GFAP $\delta$ . Una subpoblación específica de astrocitos situada en la SVZ y en la zona subpial de los ventrículos expresa GFAP $\delta$ <sup>17</sup> (fig. 3). La localización subventricular de estos astrocitos sugiere que se trata de células madre neurales (NSC, del inglés *neural stem cells*) en el cerebro humano adulto<sup>21-23</sup>. Durante el desarrollo embrionario temprano, en las semanas 13-15 de gestación, GFAP $\delta$  se expresa en la glía radial de la zona ventricular, paralelamente a GFAP $\alpha$ . A partir de la semana 17, GFAP $\delta$  se expresa también en SVZ, lo que continúa hasta el nacimiento<sup>24</sup>. La GFAP $\delta$  se expresa también en seres humanos en el hipocampo, zona subventricular<sup>25</sup> (fig. 3), además de en zonas de la médula espinal ricas en astrocitos, incluido el canal ependimario<sup>26</sup>. Además, se ha visto expresión de GFAP $\delta$  en diferentes tipos de gliosis. Curiosamente, GFAP $\delta$  y vimentina coexisten en tejido normal y gliosis, pero no en gliomas<sup>27</sup>.

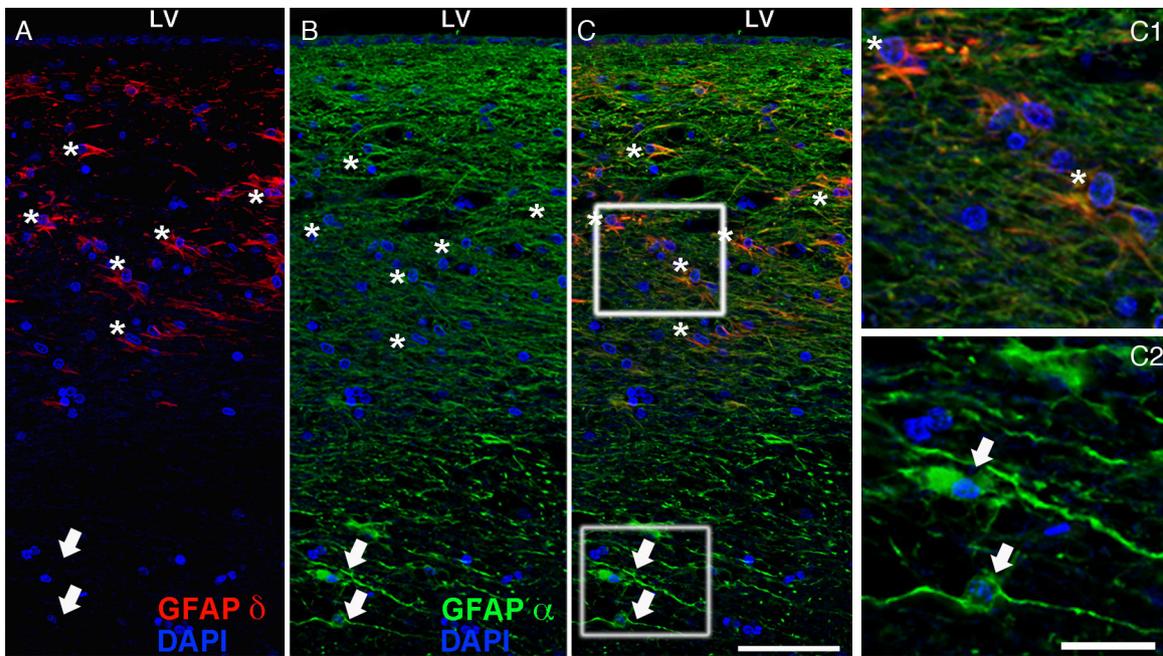
Aunque la detección inmunohistoquímica es el método clásico utilizado para la identificación de astrocitos, el uso de este marcador también tiene algunas limitaciones<sup>10</sup>. 1) La GFAP es expresada por la mayoría de los astrocitos reactivos, que responden a lesiones en el SNC, pero no siempre es inmunohistoquímicamente detectable en astrocitos de tejido sano o lejanos al lugar de la lesión. Además, la expresión de GFAP es variable y está regulada por un gran número de moléculas de señalización intra e intercelular<sup>28</sup>. 2) La GFAP no está presente en todo el citoplasma, solo en las ramificaciones principales; por tanto, la estimación del tamaño y del grado de ramificación de los astrocitos mediante inmunohistoquímica de GFAP es

limitada. 3) Finalmente, la expresión de GFAP no es exclusiva de astrocitos protoplásmicos y fibrosos; dentro del SNC, la GFAP es también expresada por glía de Müller en retina, glía de Bergmann en el cerebelo, tanicitos en la base del tercer ventrículo o pituicitos en la neurohipófisis, entre otros, así como por las NSC en cerebro embrionario y adulto<sup>29</sup>. Fuera del SNC, expresan GFAP las células de Schwann no mielinizantes de sistema nervioso periférico y una población de glía entérica que se extiende por los plexos neurales de sistema nervioso entérico. La glía entérica rodea los cuerpos celulares y axones del sistema nervioso entérico y contacta con vasos sanguíneos y células epiteliales. Además, algunos estudios parecen indicar que llevan a cabo funciones equivalentes a las de los astrocitos en el SNC<sup>30,31</sup>. También expresan GFAP las células estrelladas mesenquimales de muchos órganos, como hígado, riñón, páncreas, pulmón y testículos<sup>32</sup>.

Debido a estas limitaciones, para la identificación de astrocitos han sido utilizados otros marcadores, como la glutamina sintetasa<sup>33,34</sup>, o la S100 $\beta$ <sup>35</sup>. En este sentido, el análisis del transcriptoma ha permitido la identificación de marcadores moleculares característicos de astrocitos<sup>36,37</sup>. Algunos de estos son el gen *Aldh1L1*, que mostró un patrón de expresión en astrocitos más amplio que la GFAP, o las vías fagocíticas *Draper/Megf10* y *Merk/integrinalpha(v)beta5*, que sugieren que los astrocitos son verdaderos fagocitos<sup>5</sup>. La vía *Draper/Megf10* se ha identificado previamente en astrocitos de *Drosophila*, donde media el pruning de axones durante la metamorfosis<sup>38</sup>, y en células de Schwann, que median la eliminación de axones en la unión neuromuscular durante el desarrollo<sup>39</sup>. Estos hallazgos sugieren que los astrocitos pueden mediar la eliminación de sinapsis durante el desarrollo en mamíferos. Otros genes específicos del transcriptoma son *ApoE*, *ApoJ*, *MFGE8* y *cistatina*. Aunque la función de estos aun no es bien conocida, parece que los 3 primeros participan en la secreción de partículas lipoproteicas por los astrocitos y que actúan probablemente como opsoninas que facilitan la fagocitosis<sup>5</sup>.

## Fisiología de los astrocitos

Aunque no generan potenciales de acción, los astrocitos son células excitables con propiedades de comunicación: se activan por señales internas o externas, y envían mensajes específicos a las células vecinas en lo que se conoce como proceso de «gliotransmisión»<sup>6</sup>. Los astrocitos presentan aumentos transitorios de la concentración de calcio intracelular  $[Ca^{2+}]_i$ . Estas oleadas de calcio son las responsables de la comunicación astrocito-astrocito y astrocito-neurona, y ocurren 1) como oscilaciones intrínsecas resultantes de la liberación de calcio de almacenes intracelulares (excitación espontánea), o 2) inducidas por transmisores liberados por las neuronas. En este último caso, las neuronas liberan sustancias como ATP o glutamato, que activan receptores acoplados a proteínas G que conducen a un aumento de IP<sub>3</sub> y este, a su vez, media la liberación de calcio desde el retículo endoplasmático<sup>40</sup>. Sorprendentemente, Schummers et al.<sup>41</sup> encontraron que estas oleadas de calcio no se propagan *in vivo* a otros astrocitos, lo que sugiere que los astrocitos responden como células individuales y con patrones únicos de respuesta, de forma análoga a como lo hacen



**Figura 3** La GFAP $\alpha$  (en la imagen en verde) y la GFAP- $\delta$  (en la imagen en rojo) son isoformas de la proteína GFAP. La isoforma  $\alpha$  se expresa en todos los astrocitos, es el marcador clásico para su identificación por técnicas de inmunohistoquímica (B, c2) y la isoforma  $\delta$  solo se expresa en poblaciones de astrocitos, las que están estrechamente ligadas a nichos neurogénicos como es la SVZ (A, c1). En la imagen se muestran imágenes de microscopía confocal donde se observan las 2 isoformas en la SVZ humana, donde en C y c1 podemos ver la colocalización de la GFAP- $\alpha$  y  $\delta$  (asteriscos), y en c2 solo la expresión de GFAP- $\alpha$  (flechas). Barras A-C: 75 micras; c1 y c2: 25 micras.

las neuronas. Como consecuencia del aumento de  $[Ca^{2+}]_i$ , los astrocitos liberan «gliotransmisores» al espacio extracelular, que inducen corrientes mediadas por receptor en neuronas y son conducidos también a los astrocitos vecinos. Esta señalización mediada por calcio sugiere que los astrocitos tienen un papel activo en el control de la transmisión sináptica, lo que se discutirá más adelante.

## Funciones

### Desarrollo del sistema nervioso y plasticidad sináptica

Los astrocitos desempeñan un papel fundamental en el desarrollo del sistema nervioso. Los axones en crecimiento son guiados hacia sus targets mediante moléculas guía derivadas de astrocitos, como tenascina C y proteoglicanos<sup>42</sup>. También se ha sugerido el papel de los astrocitos en el pruning sináptico, mediante las vías fagocíticas Draper/Megf10 y Merk/integrin $\alpha$ (v) $\beta$ 5<sup>5</sup> y la liberación de señales que inducen la expresión de la proteína C1q, iniciadora de la vía clásica del complemento<sup>43</sup>. Además, la alteración de las uniones gap entre astrocitos por pérdida de las conexinas 43 y 30 causa desmielinización<sup>44</sup>.

Los astrocitos también participan activamente en la sinaptogénesis, no solo durante el desarrollo sino también tras lesión del SNC. En un estudio con células ganglionares de retina, Pfrieger y Barres observaron que, en ausencia de glía, estas neuronas presentaban poca actividad sináptica,

mientras que con astrocitos la actividad sináptica era 100 veces mayor. Curiosamente, en cocultivo con otros tipos celulares, como oligodendrocitos, la actividad sináptica de las células ganglionares de retina no aumentaba<sup>45</sup>. Este incremento de actividad sináptica mediado por astrocitos se debe precisamente al aumento del número de sinapsis, que es 7 veces mayor en células ganglionares de retina cultivadas con astrocitos que en ausencia de astrocitos<sup>46</sup>.

Este aumento del número de sinapsis es mediado por unas proteínas asociadas a la matriz, llamadas trombospondinas<sup>47,48</sup>. Las trombospondinas son una familia de 5 proteínas homólogas, al menos 4 de las cuales expresan los astrocitos durante el desarrollo y tras daño cerebral, que inducen sinaptogénesis. Las trombospondinas son capaces de inducir la formación de sinapsis ultraestructuralmente normales, tanto a nivel presináptico (clustering de sinapsinas) como postsináptico (PSD-95)<sup>5</sup>. Sin embargo, estas sinapsis son silentes y necesitan que los astrocitos secreten otra proteína, todavía no identificada, que induce respuesta postsináptica a glutamato (AMPA)<sup>48</sup>. Además, el colesterol formando complejos con lipoproteínas con ApoE también aumenta la función presináptica, según Mauch et al.<sup>49</sup>. La secreción de trombospondinas por astrocitos inmaduros está mediada por ATP y otros neurotransmisores<sup>50</sup>, lo que sugiere que la actividad neuronal puede a su vez controlar la capacidad sinaptogénica de los astrocitos. Paradójicamente, el gen de la trombospondina es uno de los pocos que están mucho más expresados en seres humanos que en el resto de primates, lo que sugiere que contribuyen a la gran plasticidad cerebral característica de los humanos<sup>51</sup>. Debido a esto y a su papel en la eliminación de sinapsis, se ha propuesto

también que los astrocitos participan en la construcción de nuevos circuitos y en la reconstrucción de los mismos tras lesión.

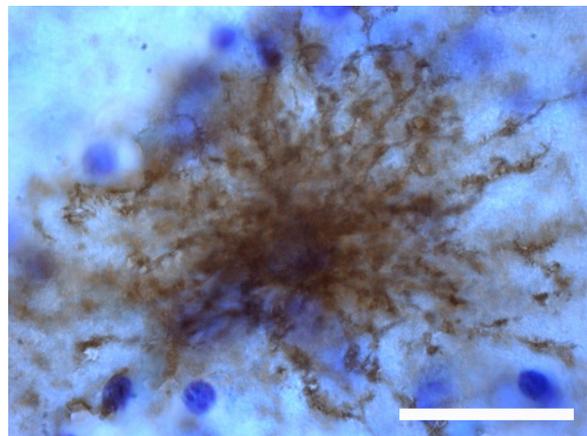
### Control de la función sináptica

Existen evidencias de que los astrocitos participan directamente en la transmisión sináptica a través de la liberación de moléculas sinápticamente activas: los «gliotransmisores». Estas moléculas son liberadas por los astrocitos en respuesta a la actividad sináptica neuronal, que produce excitación de los astrocitos con oleadas de  $[Ca^{2+}]_i$ , y producen a su vez excitabilidad neuronal. Las evidencias que prueban el impacto de los astrocitos sobre la actividad sináptica son cada vez más numerosas. Por ejemplo, Kang et al. muestran cómo los astrocitos median la potenciación de la transmisión sináptica inhibitoria en rodajas de hipocampo<sup>52</sup>. Fellin et al. proporcionan la primera evidencia de que los astrocitos inducen sincronía neuronal mediada por glutamato<sup>53</sup> y Shigetomi et al. demuestran que 2 formas de excitabilidad astrocítica por calcio tienen efectos distintos sobre receptores NMDA de piramidales de CA1<sup>54</sup>.

Uno de los gliotransmisores más estudiados es el glutamato. La liberación de glutamato por parte de la subpoblación de astrocitos NG2-positivos, células precursoras de oligodendrocitos, ha sido ya demostrada<sup>55</sup>, aunque la vía por la que lo hacen es objeto de controversia. Se ha propuesto que los astrocitos liberan glutamato mediante vesículas, sin embargo, algunos autores son escépticos. Barres propone 2 razones por las que la liberación por vesículas es improbable<sup>5</sup>: 1) a diferencia de las neuronas, los astrocitos tienen altas concentraciones de la enzima glutamina sintetasa, que cataliza la degradación de glutamato a glutamina, siendo los niveles de glutamato en astrocitos relativamente bajos y difíciles de detectar por técnicas inmunológicas; y 2) además, *in vivo* los astrocitos no expresan ninguno de los componentes que intervienen en la liberación vesicular de neurotransmisores en neuronas. No se han encontrado en astrocitos ni SNAP25 ni las proteínas vesiculares sinápticas sinaptotagmina I y sinaptofisina, ni tampoco la glucoproteína 2 de vesículas sinápticas<sup>56–58</sup>.

Aunque los astrocitos en principio no son capaces de liberación vesicular, sí tienen microvesículas semejantes a las vesículas sinápticas o synaptic-like microvesicles (SLMV)<sup>59</sup>. Algunos estudios han demostrado que estas células secretan los «gliotransmisores» por medio de exocitosis lisosomal<sup>60–62</sup>. Los lisosomas secretores están especialmente presentes en células inmunitarias y en glía. En astrocitos, los lisosomas secretores liberan ATP y el bloqueo de esta liberación de ATP bloquea la propagación de las oleadas de calcio entre astrocitos vecinos<sup>5</sup>. Además, *in vivo*, se ha visto que los astrocitos regulan la transmisión sináptica y la plasticidad por medio de la liberación de ATP<sup>63</sup>.

Otra sustancia liberada por los astrocitos que actúa como «gliotransmisor» es la D-serina, un coagonista, junto con el glutamato, del receptor NMDA<sup>64,65</sup>. Aunque la serin-racemasa es expresada también por las neuronas, solo los astrocitos son capaces de sintetizar serina, por lo que los niveles de D-serina en la sinapsis dependen de la cantidad de serina que los astrocitos producen<sup>7</sup>. Otra enzima expresada fundamentalmente por astrocitos es la



**Figura 4** La acuaporina 4 (AQP4) es una proteína que regula el transporte de agua y que se expresa en astrocitos, desempeñando un papel muy importante en la neuroinflamación. Inmunohistoquímica contra AQP4, astrocito en zona adyacente a la zona de penumbra isquémica. Barra = 30 micras.

piruvatocarboxilasa, que proporciona el esqueleto de 4 carbonos necesario para la síntesis *de novo* de glutamato y GABA neuronales<sup>66</sup>, lo que sugiere que la velocidad a la que los astrocitos liberan este precursor determina la velocidad a la que las neuronas disparan.

Además, los astrocitos liberan factores de crecimiento y citoquinas que ejercen efectos más potentes y prolongados sobre la sinapsis. Por ejemplo, el  $TNF\alpha$  induce la inserción de receptores AMPA en la membrana presináptica<sup>67</sup>, aunque aun no se conoce con exactitud si este factor es producido por microglía o por astrocitos. Otras sustancias secretadas por astrocitos que pueden estar implicadas en la función sináptica son los ácidos grasos poliinsaturados y esteroides como el estradiol, la progesterona y otros intermediarios y metabolitos que son neuroactivos, y tienen especial afinidad por receptores  $GABA_A$ <sup>68</sup>.

Todas estas evidencias han dado lugar a la hipótesis de la «sinapsis tripartita», según la cual los astrocitos tienen un papel directo e interactivo en la actividad sináptica y son indispensables para el correcto procesamiento de la información en los circuitos cerebrales<sup>69–71</sup>.

Más allá de la liberación de gliotransmisores, los astrocitos participan en la correcta actividad sináptica mediante el mantenimiento de la homeostasis del fluido intersticial sináptico. Los astrocitos envuelven la sinapsis y mantienen los niveles adecuados de pH, iones, neurotransmisores y fluido<sup>72</sup>. Así, por ejemplo, los procesos astrocitarios son ricos en acuaporina 4 (fig. 4), para el transporte de agua y en transportadores para la captación de  $K^+$ . Los astrocitos presentan también en su membrana transportadores  $Na^+/H^+$ , distintos tipos de transportadores de bicarbonato, transportadores de ácido monocarboxílico y la protón ATPasa de tipo vacuolar<sup>73</sup>, todos ellos implicados en la regulación del pH.

### Regulación del flujo sanguíneo

Los astrocitos regulan también el flujo sanguíneo que llega al sistema nervioso, acoplado los cambios en la microcirculación cerebral con la actividad neuronal<sup>74</sup>. De hecho,

las oleadas de calcio en astrocitos se correlacionan con aumentos de la microcirculación vascular y hay evidencias de que las señales neuronales inducen oleadas de calcio en los astrocitos que liberan mediadores como prostaglandina E, óxido nítrico o ácido araquidónico, que tienen efectos vasodilatadores o vasoconstrictores<sup>75-78</sup>.

Los astrocitos ejercen esta función gracias a que tienen 2 dominios: un pie vascular (fig. 1) y un pie neuronal. A esta íntima unión entre neuronas, astrocitos y vasos sanguíneos se le denomina unión neurovascular (fig. 1). A través de estos contactos los astrocitos ajustan el flujo vascular a la actividad sináptica, como demuestran estudios recientes de corteza visual, donde se han detectado mediante fMRI cambios en la microcirculación mediada por astrocitos como respuesta a estímulos visuales<sup>41,79</sup>. La homeostasis de la unión neurovascular es fundamental para la función cognitiva y su alteración podría estar relacionada con alteraciones cognitivas como la enfermedad de Alzheimer<sup>80</sup>.

### Energía y metabolismo de sistema nervioso central

Los astrocitos contribuyen al correcto metabolismo del SNC. Gracias a los procesos en contacto con los vasos sanguíneos, los astrocitos captan glucosa de la circulación y proporcionan a las neuronas metabolitos energéticos<sup>10</sup>. De hecho, los astrocitos constituyen la principal reserva de gránulos de glucógeno en el SNC y estos gránulos son más abundantes en zonas de alta densidad sináptica<sup>81</sup>. Además, hay evidencias de que los niveles de glucógeno en astrocitos están modulados por glutamato<sup>82</sup> y que los metabolitos de glucosa se transmiten a astrocitos vecinos por las uniones gap en un proceso mediado también por glutamato<sup>83</sup>.

### Barrera hematoencefálica

La barrera hematoencefálica está constituida por células endoteliales que forman uniones estrechas rodeadas por lámina basal, pericitos perivasculares y los terminales de los astrocitos. La función de los astrocitos en la barrera hematoencefálica (BHE) no se conoce bien, pero hay evidencias de que inducen propiedades de barrera en las células endoteliales mediante la liberación de factores como TGF $\beta$ , GDNF, bFGF y angiopoetina 1<sup>84</sup>, e influyendo sobre la polaridad de la BHE<sup>85</sup>.

### Regulación de ritmos circadianos

Tanto en *Drosophila* como en mamíferos, hay cambios morfológicos y bioquímicos circadianos en células gliales<sup>86</sup>. Por ejemplo, en el núcleo supraquiasmático (SCN)-marcapasos interno- de hámster, hay cambios rítmicos en los niveles de GFAP y en la morfología de los astrocitos<sup>87</sup>. Los astrocitos se comunican con las neuronas, vía adenosina, y están implicados en la homeostasis del sueño y en los efectos cognitivos resultantes de la privación del sueño. De hecho, la inhibición de la gliotransmisión previene el déficit cognitivo asociado a la privación del sueño<sup>88</sup>. No hay modelos animales en mamíferos que demuestren que los astrocitos regulan directamente la función de las neuronas marcapasos del SCN, sin embargo, estudios con cultivos de astrocitos

muestran que la presencia de péptido intestinal vasoactivo es esencial para lo contrario: la comunicación neurona-glia en los ritmos circadianos<sup>89</sup>.

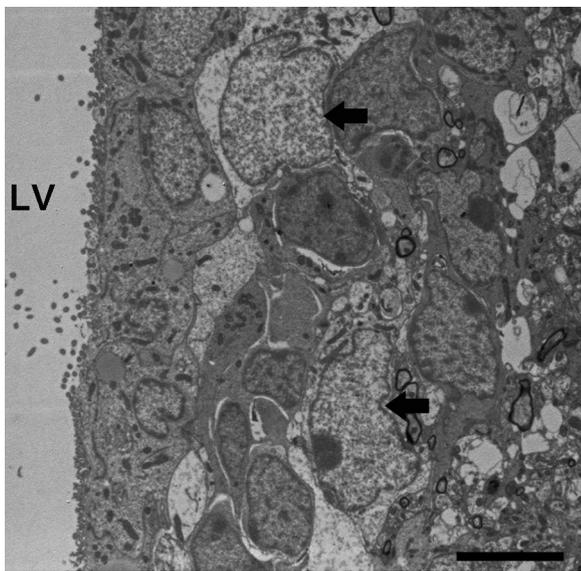
### Metabolismo lipídico y secreción de lipoproteínas

El cerebro es el órgano del cuerpo humano más rico en colesterol. Los niveles de colesterol están estrechamente regulados entre neuronas y glía, y alteraciones en el metabolismo de lípidos, especialmente del colesterol, están estrechamente relacionadas con el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer o la enfermedad de Niemann-Pick tipo C<sup>90-92</sup>. Las lipoproteínas y el colesterol en SNC no proceden de sangre periférica, sino que son sintetizados por la glía, fundamentalmente por los astrocitos. La ApoE es la principal apo del SNC y las lipoproteínas con ApoE glial suministran a las neuronas colesterol y otras moléculas por medio de receptores de la familia LDL<sup>93</sup>. Estos receptores actúan no solo internalizando las lipoproteínas, sino también como transductores de señales ante la unión de sus ligandos. Así, las lipoproteínas con ApoE estimulan el crecimiento axonal en SNC<sup>94</sup>, y el colesterol unido a lipoproteínas con ApoE participa en la sinaptogénesis<sup>49</sup>. También se ha visto que la ApoE media el efecto neuroprotector de los estrógenos en la isquemia global en un modelo de ratón<sup>95</sup>. Además, la ApoE tiene efectos antiinflamatorios<sup>96</sup> y de protección frente a la apoptosis<sup>97,98</sup>. En definitiva, los lípidos producidos por la glía, y más concretamente por los astrocitos, median funciones esenciales y su alteración podría afectar a la homeostasis del SNC. De hecho, se han descrito alteraciones en la biosíntesis de colesterol cerebral y reducción de la secreción de lipoproteínas que contienen ApoE en la enfermedad de Huntington, tanto en seres humanos como en modelos animales<sup>99,100</sup>. También la relación entre la enfermedad de Alzheimer y la ApoE ha sido ampliamente estudiada, ya que la herencia del alelo  $\epsilon 4$  de la Apo E es un factor de riesgo para padecer la enfermedad<sup>101,102</sup> y está relacionado con una menos efectiva eliminación de A $\beta$ <sup>103</sup>.

### Neurogénesis adulta

Una de las funciones más recientemente descritas de los astrocitos es la de capacidad neurogénica en el cerebro adulto. Las NSC están presentes en los mamíferos no solo durante el desarrollo, sino también en el cerebro adulto, en la SVZ, en la pared de los ventrículos laterales. Estas células generan nuevas neuronas<sup>104-106</sup>, que migran a través de la corriente migratoria rostral (RMS, del inglés *rostral migratory stream*) hasta el bulbo olfatorio (BO), donde se diferencian a interneuronas granulares y periglomerulares<sup>107,108</sup>. Las células madre de la SVZ, también llamadas células B, expresan GFAP, y tienen morfología y ultraestructura de astrocitos<sup>21</sup> (figs. 2 y 5).

Los precursores neurales migran hasta el BO en cadenas rodeadas por procesos astrocitarios y utilizando como andamiaje la red de vasos sanguíneos que delimita la RMS. Recientemente se ha demostrado que los astrocitos orquestan la formación y la reorganización estructural de este



**Figura 5** En la zona subventricular de mamíferos se ha descrito que los astrocitos son las células madre; por lo general se encuentran en la vecindad de células migradoras (flechas) y en ocasiones contactan con la cavidad ventricular por un cilio primario. Barra = 2 micras.

andamiaje vascular mediante la expresión del factor de crecimiento del endotelio vascular<sup>109</sup>.

En cuanto al cerebro humano, los astrocitos de la SVZ se comportan como NSC *in vitro*, pero su significado funcional *in vivo* permanece sin resolver. Inicialmente se describió que existían células madre en la SVZ<sup>23</sup>, pero no se encontraron evidencias de cadenas migradoras en humanos adultos<sup>22</sup>. Un estudio posterior encontró evidencias de RMS, y por tanto de migración, en el cerebro humano adulto<sup>110</sup>. Más recientemente, Sanai et al. han proporcionado evidencias de que existen neurogénesis posnatal y migración en seres humanos hasta los 18 meses de edad, pero que se ven reducidas en niños mayores y es mínima en adultos<sup>111</sup>. Sorprendentemente, en esta corta ventana temporal, la migración se produce no solo a BO sino también a corteza prefrontal.

### Astroglisis reactiva y cicatriz glial

El término astroglisis reactiva hace referencia a una serie de cambios en astrocitos que ocurren a nivel molecular, celular y funcional como respuesta a daños y enfermedades del SNC de distinto grado. Los cambios que experimentan los astrocitos reactivos varían según el grado de severidad de la lesión, son regulados por moléculas de señalización inter- e intracelular y modifican la actividad astrocitaria bien mediante ganancia bien mediante pérdida de funciones, lo que puede afectar a las células circundantes<sup>28</sup>. De acuerdo con esta definición, la astroglisis reactiva no es un «todo o nada», sino un continuum de progresivos cambios. Así, se pueden distinguir 3 grados de severidad<sup>10</sup>. 1) *Astroglisis reactiva leve o moderada*. En este nivel aumenta la expresión de GFAP por los astrocitos y hay

hipertrofia tanto del cuerpo celular como de los procesos astrocitarios. Esto se produce dentro del propio dominio del astrocito y no hay solapamiento con astrocitos vecinos, y hay poca o ninguna proliferación. Este grado de astroglisis reactiva es reversible y se da en traumatismos leves y no penetrantes, en caso de activación difusa de inmunidad innata y en áreas distantes del lugar de una lesión focal. 2) *Astroglisis reactiva severa difusa*. En caso de lesiones focales graves, infecciones o áreas con neurodegeneración crónica, la sobreexpresión de GFAP y la hipertrofia de cuerpo celular y procesos son más pronunciadas. Además, hay solapamiento de astrocitos y aumento de su proliferación. Estos cambios pueden conducir a una reorganización tisular duradera. 3) *Astroglisis reactiva severa con formación de cicatriz glial compacta*. En este caso, además de los cambios anteriores, se forma la cicatriz glial, que inhibe la regeneración axonal y la migración celular<sup>112</sup>, pero también protege frente a la llegada de células inflamatorias y agentes infecciosos<sup>113–115</sup>. Los desencadenantes son lesiones graves del SNC, penetrantes y/o contuas, infecciones invasivas y abscesos, neurodegeneración crónica e incluso infecciones sistémicas. La cicatriz glial supone reorganización tisular y cambios estructurales persistentes, que permanecen incluso cuando ha desaparecido el desencadenante.

Aunque durante mucho tiempo se ha considerado solo la inhibición de la regeneración axonal, lo cierto es que los astrocitos reactivos ejercen también funciones beneficiosas. Por ejemplo, protegen a las células del SNC captando glutamato potencialmente excitotóxico<sup>116,117</sup>, liberando glutatión para contrarrestar el estrés oxidativo<sup>118–120</sup>, degradando péptido  $\beta$ -amiloides<sup>121</sup> o facilitando la reparación de la BHE<sup>113</sup>. Además, como ya se ha mencionado, limitan la difusión de células inflamatorias y agentes infecciosos<sup>113–115</sup>.

### Modelos experimentales en la investigación de la función de los astrocitos

Los ratones transgénicos y *knockout* han proporcionado valiosa información acerca de los efectos de las alteraciones en los astrocitos. La delección de GFAP no produjo ninguna patología específica en ratones en ausencia de lesión, aunque sí ciertas anomalías en respuesta a lesiones<sup>122</sup>. La expresión de GFAP humana en ratones provoca en astrocitos la formación de fibras de Rosenthal, características de la enfermedad de Alexander<sup>123</sup>. La delección de GFAP y vimentina resultó en una patología más marcada tras la aplicación del modelo de lesión en corteza entorrinal, si bien se observó un mejor potencial regenerador, restaurándose el número de sinapsis entre los días 4 y 14<sup>124</sup>. En otro modelo animal, en el que se bloqueó la proliferación de astrocitos, y por consiguiente la formación de la cicatriz glial, se observó: infiltrado leucocitario, neurodegeneración y sobrecrecimiento de neuritas tras lesión mecánica profunda en prosencéfalo<sup>113</sup>; errores en la reparación de la BHE, degeneración tisular, infiltrado leucocitario, desmielinización profunda, muerte de neuronas y oligodendrocitos y déficits motores pronunciados tras lesión de médula espinal<sup>114</sup>; y alteración de

la BHE con el consiguiente aumento de la inflamación y la infección en un modelo de encefalitis autoinmune experimental<sup>115</sup>.

Un aspecto importante ha sido el estudio del papel de los astrocitos en la excitotoxicidad por glutamato. Se han descrito 3 transportadores de glutamato en rata: los astroglicales GLAST y GLT-1 (también llamado EAAT2) y el neuronal EAAC1. La pérdida de los transportadores gliales GLAST y GLT-1 en un modelo de rata produjo elevación de los niveles extracelulares de glutamato, aumento de excitotoxicidad y parálisis progresiva. La pérdida del transportador neuronal EAAC1 no elevó la concentración extracelular de glutamato, si bien produjo ciertos cambios conductuales y epilepsia, probablemente debido a que los cambios en el glutamato intrasináptico afectan a la despolarización y a la liberación del neurotransmisor<sup>116</sup>. En ratones nulos para GLT-1 homocigotos también se observó epilepsia y exacerbación de daño tras lesión cerebral<sup>125</sup>. Esta mayor susceptibilidad al daño cerebral también se comprobó en un modelo de isquemia en la región CA1 del hipocampo, en el que los ratones deficientes para GLT-1 presentaban niveles más altos de glutamato<sup>126</sup>. En cuanto al transportador GLAST, los ratones GLAST(-/-) presentan episodios convulsivos más severos tras la administración de pentilentetrazol que los ratones GLAST(+/-)<sup>127</sup>. En seres humanos, se ha descrito un polimorfismo del transportador glial EAAT2, que está específicamente relacionado con aumento de la concentración plasmática de glutamato y con una mayor frecuencia de empeoramiento tras accidente cerebrovascular<sup>128</sup>.

La alteración de la comunicación entre astrocitos a través de las uniones gap también tiene efectos negativos. Así, los mutantes nulos heterocigotos para la conexina 43 presentan mayor tamaño de zona infartada tras oclusión de la arteria cerebral media que los normales<sup>129</sup>. En otro modelo animal, la delección de las conexinas astrocitarias 43 y 30 produjo un fenotipo desmielinizante y vacuolización en la región CA1 hipocampal<sup>44</sup>, pero no alteró la susceptibilidad o la severidad de la encefalitis autoinmune experimental aguda<sup>130</sup>.

## Implicación de los astrocitos en patologías del sistema nervioso central

Los astrocitos, y específicamente los astrocitos reactivos, desempeñan funciones esenciales para el correcto funcionamiento del SNC. Existen numerosas evidencias de que las alteraciones de la función astrocitaria pueden contribuir al desarrollo, e incluso provocar, enfermedades del SNC, especialmente neurodegenerativas. Por un lado, la pérdida de funciones de los astrocitos podría tener efectos negativos; por otro, el exceso de reactividad astrocitaria podría causar, de modo análogo a la inflamación, efectos perjudiciales en el SNC, lo que revisaremos en un nuevo artículo.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses.

## Agradecimientos

Al Prof. José Manuel García Verdugo, por el apoyo otorgado para realizar las imágenes de microscopía electrónica, así como al Servicio de Microscopía Confocal del CAI, Centro de Microscopía y Citometría de la Universidad Complutense de Madrid.

## Bibliografía

- Allen NJ, Barres BA. Neuroscience: glia - more than just brain glue. *Nature*. 2009;457:675-7.
- Rossi D, Volterra A. Astrocytic dysfunction: insights on the role in neurodegeneration. *Brain Res Bull*. 2009;80:224-32.
- Tower DB, Young OM. The activities of butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase, the rate of anaerobic glycolysis, and the question of a constant density of glial cells in cerebral cortices of various mammalian species from mouse to whale. *J Neurochem*. 1973;20:269-78.
- Ogata K, Kosaka T. Structural and quantitative analysis of astrocytes in the mouse hippocampus. *Neuroscience*. 2002;113:221-33.
- Barres BA. The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron*. 2008;60:430-40.
- Volterra A, Meldolesi J. Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6:626-40.
- Nedergaard M, Ransom B, Goldman SA. New roles for astrocytes: redefining the functional architecture of the brain. *Trends Neurosci*. 2003;26:523-30.
- Halassa MM, Fellin T, Takano H, Dong JH, Haydon PG. Synaptic islands defined by the territory of a single astrocyte. *J Neurosci*. 2007;27:6473-7.
- Bushong EA, Martone ME, Jones YZ, Ellisman MH. Protoplasmic astrocytes in CA1 stratum radiatum occupy separate anatomical domains. *J Neurosci*. 2002;22:183-92.
- Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol*. 2010;119:7-35.
- Middeldorp J, Hol EM. GFAP in health and disease. *Prog Neurobiol*. 2011;93:421-43.
- Eng LF, Vanderhaeghen JJ, Bignami A, Gerstl B. An acidic protein isolated from fibrous astrocytes. *Brain Res*. 1971;28:351-4.
- Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res*. 2000;25:1439-51.
- Reeves SA, Helman LJ, Allison A, Israel MA. Molecular cloning and primary structure of human glial fibrillary acidic protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86:5178-82.
- Condorelli DF, Nicoletti VG, Barresi V, Conticello SG, Caruso A, Tendi EA, et al. Structural features of the rat GFAP gene and identification of a novel alternative transcript. *J Neurosci Res*. 1999;56:219-28.
- Zelenika D, Grima B, Brenner M, Pessac B. A novel glial fibrillary acidic protein mRNA lacking exon 1. *Brain Res Mol Brain Res*. 1995;30:251-8.
- Roelofs RF, Fischer DF, Houtman SH, Sluijs JA, Van Haren W, Van Leeuwen FW, et al. Adult human subventricular, subgranular, and subpial zones contain astrocytes with a specialized intermediate filament cytoskeleton. *Glia*. 2005;52:289-300.
- Nielsen AL, Holm IE, Johansen M, Bonven B, Jørgensen P, Jørgensen AL. A new splice variant of glial fibrillary acidic protein. GFAP epsilon, interacts with the presenilin proteins. *J Biol Chem*. 2002;277:29983-91.
- Blechingberg J, Holm IE, Nielsen KB, Jensen TH, Jørgensen AL, Nielsen AL. Identification and characterization of GFAPkappa,

- a novel glial fibrillary acidic protein isoform. *Glia*. 2007;55:497–507.
20. Hol EM, Roelofs RF, Moraal E, Sonnemans MA, Sluijs JA, Proper EA, et al. Neuronal expression of GFAP in patients with Alzheimer pathology and identification of novel GFAP splice forms. *Mol Psychiatry*. 2003;8:786–96.
  21. Doetsch F, Caillé I, Lim DA, García-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell*. 1999;97:703–16.
  22. Sanai N, Tramontin AD, Quiñones-Hinojosa A, Barbaro NM, Gupta N, Kunwar S, et al. Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature*. 2004;427:740–4.
  23. Quiñones-Hinojosa A, Sanai N, Soriano-Navarro M, Gonzalez-Perez O, Mirzadeh Z, Gil-Perotin S, et al. Cellular composition and cytoarchitecture of the adult human subventricular zone: a niche of neural stem cells. *J Comp Neurol*. 2006;494:415–34.
  24. Middeldorp J, Boer K, Sluijs JA, De Filippis L, Encha-Razavi F, Vescovi AL, et al. GFAPdelta in radial glia and subventricular zone progenitors in the developing human cortex. *Development*. 2010;137:313–21.
  25. Van den Berge SA, Middeldorp J, Zhang CE, Curtis MA, Leonard BW, Mastroeni D, et al. Longterm quiescent cells in the aged human subventricular neurogenic system specifically express GFAP-delta. *Aging Cell*. 2010;9:313–26.
  26. Perng MD, Wen SF, Gibbon T, Middeldorp J, Sluijs J, Hol EM, et al. Glial fibrillary acidic protein filaments can tolerate the incorporation of assembly-compromised GFAP-delta, but with consequences for filament organization and alphaB-crystallin association. *Mol Biol Cell*. 2008;19:4521–33.
  27. Andreiuolo F, Junier MP, Hol EM, Miquel C, Chimelli L, Leonard N, et al. GFAPdelta immunostaining improves visualization of normal and pathologic astrocytic heterogeneity. *Neuropathology*. 2009;29:31–9.
  28. Sofroniew MV. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends Neurosci*. 2009;32:638–47.
  29. Kriegstein A, Alvarez-Buylla A. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annu Rev Neurosci*. 2009;32:149–84.
  30. Bush TG, Savidge TC, Freeman TC, Cox HJ, Campbell EA, Mucke L, et al. Fulminant jejuno-ileitis following ablation of enteric glia in adult transgenic mice. *Cell*. 1998;93:189–201.
  31. Ruhl A. Glial cells in the gut. *Neurogastroenterol Motil*. 2005;17:777–90.
  32. Zhao L, Burt AD. The diffuse stellate cell system. *J Mol Histol*. 2007;38:53–64.
  33. Norenberg MD. Distribution of glutamine synthetase in the rat central nervous system. *J Histochem Cytochem*. 1979;27:756–62.
  34. Patel AJ, Weir MD, Hunt A, Tahourdin CS, Thomas DG. Distribution of glutamine synthetase and glial fibrillary acidic protein and correlation of glutamine synthetase with glutamate decarboxylase in different regions of the rat central nervous system. *Brain Res*. 1985;331:1–9.
  35. Gonçalves CA, Leite MC, Nardin P. Biological and methodological features of the measurement of S100B, a putative marker of brain injury. *Clin Biochem*. 2008;41:755–63.
  36. Lovatt D, Sonnewald U, Waagepetersen HS, Schousboe A, He W, Lin JH, et al. The transcriptome and metabolic gene signature of protoplasmic astrocytes in the adult murine cortex. *J Neurosci*. 2007;27:12255–66.
  37. Cahoy JD, Emery B, Kaushal A, Foo LC, Zamanian JL, Christopherson KS, et al. A transcriptome database for astrocytes, neurons, and oligodendrocytes: a new resource for understanding brain development and function. *J Neurosci*. 2008;28:264–78.
  38. Awasaki T, Tatsumi R, Takahashi K, Arai K, Nakanishi Y, Ueda R, et al. Essential role of the apoptotic cell engulfment genes draper and ced-6 in programmed axon pruning during *Drosophila* metamorphosis. *Neuron*. 2006;50:855–67.
  39. Bishop DL, Misgeld T, Walsh MK, Gan WB, Lichtman JW. Axon branch removal at developing synapses by axosome shedding. *Neuron*. 2004;44:651–61.
  40. Agulhon C, Petravicz J, McMullen AB, Sweger EJ, Minton SK, Taves SR, et al. What is the role of astrocyte calcium in neurophysiology? *Neuron*. 2008;59:932–46.
  41. Schummers J, Yu H, Sur M. Tuned responses of astrocytes and their influence on hemodynamic signals in the visual cortex. *Science*. 2008;320:1638–43.
  42. Powell EM, Geller HM. Dissection of astrocyte-mediated cues in neuronal guidance and process extension. *Glia*. 1999;26:73–83.
  43. Stevens B, Allen NJ, Vazquez LE, Howell GR, Christopherson KS, Nouri N, et al. The classical complement cascade mediates CNS synapse elimination. *Cell*. 2007;131:1164–78.
  44. Lutz SE, Zhao Y, Gulinello M, Lee SC, Raine CS, Brosnan CF. Deletion of astrocyte connexins 43 and 30 leads to a demyelinating phenotype and hippocampal CA1 vacuolation. *J Neurosci*. 2009;29:7743–52.
  45. Pfrieger FW, Barres BA. Synaptic efficacy enhanced by glial cells in vitro. *Science*. 1997;277:1684–7.
  46. Ullian EM, Sapperstein SK, Christopherson KS, Barres BA. Control of synapse number by glia. *Science*. 2001;291:657–61.
  47. Risher WC, Eroglu C. Thrombospondins as key regulators of synaptogenesis in the central nervous system. *Matrix Biol*. 2012;31:170–7.
  48. Christopherson KS, Ullian EM, Stokes CC, Mallowney CE, Hell JW, Agah A, et al. Thrombospondins are astrocyte-secreted proteins that promote CNS synaptogenesis. *Cell*. 2005;120:421–33.
  49. Mauch DH, Nägler K, Schumacher S, Göritz C, Müller EC, Otto A, et al. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science*. 2001;294:1354–7.
  50. Tran MD, Neary JT. Purinergic signaling induces thrombospondin-1 expression in astrocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:9321–6.
  51. Boulanger LM, Shatz CJ. Immune signalling in neural development, synaptic plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci*. 2004;5:521–31.
  52. Kang J, Jiang L, Goldman SA, Nedergaard M. Astrocyte-mediated potentiation of inhibitory synaptic transmission. *Nat Neurosci*. 1998;1:683–92.
  53. Fellin T, Pascual O, Gobbo S, Pozzan T, Haydon PG, Carmignoto G. Neuronal synchrony mediated by astrocytic glutamate through activation of extrasynaptic NMDA receptors. *Neuron*. 2004;43:729–43.
  54. Shigetomi E, Bowser DN, Sofroniew MV, Khakh BS. Two forms of astrocyte calcium excitability have distinct effects on NMDA receptor-mediated slow inward currents in pyramidal neurons. *J Neurosci*. 2008;28:6659–63.
  55. Paukert M, Bergles DE. Synaptic communication between neurons and NG2+ cells. *Curr Opin Neurobiol*. 2006;16:515–21.
  56. Zhang Q, Pangrsic T, Kreft M, Krzan M, Li N, Sul JY, et al. Fusion-related release of glutamate from astrocytes. *J Biol Chem*. 2004;279:12724–33.
  57. Zhang Q, Fukuda M, van Bockstaele E, Pascual O, Haydon PG. Synaptotagmin IV regulates glial glutamate release. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:9441–6.
  58. Wilhelm A, Volkhardt W, Langer D, Nolte C, Kettenmann H, Zimmermann H. Localization of SNARE proteins and secretory organelle proteins in astrocytes in vitro and in situ. *Neurosci Res*. 2004;48:249–57.
  59. Bezzi P, Gundersen V, Galbete JL, Seifert G, Steinhäuser C, Pilati E, et al. Astrocytes contain a vesicular compartment

- that is competent for regulated exocytosis of glutamate. *Nat Neurosci.* 2004;7:613–20.
60. Zhang Z, Chen G, Zhou W, Song A, Xu T, Luo Q, et al. Regulated ATP release from astrocytes through lysosome exocytosis. *Nat Cell Biol.* 2007;9:945–53.
  61. Li D, Ropert N, Koulakoff A, Giaume C, Oheim M. Lysosomes are the major vesicular compartment undergoing Ca<sup>2+</sup>-regulated exocytosis from cortical astrocytes. *J Neurosci.* 2008;28:7648–58.
  62. Jaiswal JK, Fix M, Takano T, Nedergaard M, Simon SM. Resolving vesicle fusion from lysis to monitor calcium-triggered lysosomal exocytosis in astrocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:14151–6.
  63. Pascual O, Casper KB, Kubera C, Zhang J, Revilla-Sanchez R, Sul JY, et al. Astrocytic purinergic signaling coordinates synaptic networks. *Science.* 2005;310:113–6.
  64. Panatier A, Theodosis DT, Mothet JP, Touquet B, Pollegioni L, Poulain DA, et al. Glia-derived D-serine controls NMDA receptor activity and synaptic memory. *Cell.* 2006;125:775–84.
  65. Mustafa AK, Kim PM, Snyder SH. D-Serine as a putative glial neurotransmitter. *Neuron Glia Biol.* 2004;1:275–81.
  66. Hertz L, Peng L, Dienel GH. Energy metabolism in astrocytes: high rate of oxidative metabolism and spatiotemporal dependence on glycolysis/glycogenolysis. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007;27:219–49.
  67. Stellwagen D, Malenka RC. Synaptic scaling mediated by glial TNF- $\alpha$ . *Nature.* 2006;440:1054–9.
  68. Garcia-Segura LM, Melcangi RC. Steroids and glial cell function. *Glia.* 2006;54:485–98.
  69. Araque A, Parpura V, Sanzgiri RP, Haydon PG. Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends Neurosci.* 1999;22:208–15.
  70. Halassa MM, Fellin T, Haydon PG. The tripartite synapse: roles for gliotransmission in health and disease. *Trends Mol Med.* 2007;13:54–63.
  71. Perea G, Navarrete M, Araque A. Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information. *Trends Neurosci.* 2009;32:421–31.
  72. Simard M, Nedergaard M. The neurobiology of glia in the context of water and ion homeostasis. *Neuroscience.* 2004;129:877–96.
  73. Obara M, Szeliga M, Albrecht J. Regulation of pH in the mammalian central nervous system under normal and pathological conditions: facts and hypotheses. *Neurochem Int.* 2008;52:905–19.
  74. Koehler RC, Gebremedhin D, Harder DR. Role of astrocytes in cerebrovascular regulation. *J Appl Physiol.* 2006;100:307–17.
  75. Gordon GR, Mulligan SJ, MacVicar BA. Astrocyte control of the cerebrovasculature. *Glia.* 2007;55:1214–21.
  76. Metea MR, Newman EA. Glial cells dilate and constrict blood vessels: a mechanism of neurovascular coupling. *J Neurosci.* 2006;26:2862–70.
  77. Zonta M, Angulo MC, Gobbo S, Rosengarten B, Hossmann KA, Pozzan T, et al. Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. *Nat Neurosci.* 2003;6:43–50.
  78. Iadecola C, Nedergaard M. Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nat Neurosci.* 2007;10:1369–76.
  79. Wolf F, Kirchhoff F. Neuroscience. Imaging astrocyte activity. *Science.* 2008;320:1597–9.
  80. Takano T, Han X, Deane R, Zlokovic B, Nedergaard M. Two-photon imaging of astrocytic Ca<sup>2+</sup> signaling and the microvasculature in experimental mice models of Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1097:40–50.
  81. Phelps CH. Barbiturate-induced glycogen accumulation in brain. An electron microscopic study. *Brain Res.* 1972;39:225–34.
  82. Brown AM, Ransom BR. Astrocyte glycogen and brain energy metabolism. *Glia.* 2007;55:1263–71.
  83. Rouach N, Koulakoff A, Abudara V, Willecke K, Giaume C. Astroglial metabolic networks sustain hippocampal synaptic transmission. *Science.* 2008;322:1551–5.
  84. Abbott NJ, Ronnback L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci.* 2006;7:41–53.
  85. Beck DW, Vinters HV, Hart MN, Cancilla PA. Glial cells influence polarity of the blood-brain barrier. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1984;43:219–24.
  86. Jackson FR. Glial cell modulation of circadian rhythms. *Glia.* 2011;59:1341–50.
  87. Lavialle M, Serviere J. Circadian fluctuations in GFAP distribution in the Syrian hamster suprachiasmatic nucleus. *Neuroreport.* 1993;4:1243–6.
  88. Halassa MM, Florian C, Fellin T, Munoz JR, Lee SY, Abel T, et al. Astrocytic modulation of sleep homeostasis and cognitive consequences of sleep loss. *Neuron.* 2009;61:213–9.
  89. Aton SJ, Colwell CS, Harmor AJ, Waschek J, Herzog ED. Vasoactive intestinal polypeptide mediates circadian rhythmicity and synchrony in mammalian clock neurons. *Nat Neurosci.* 2005;8:476–83.
  90. Karten B, Peake KB, Vance JE. Mechanisms and consequences of impaired lipid trafficking in Niemann-Pick type C1-deficient mammalian cells. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1791:659–70.
  91. Wollmer MA. Cholesterol-related genes in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1801:762–73.
  92. Vance JE, Hayashi H, Karten B. Cholesterol homeostasis in neurons and glial cells. *Semin Cell Dev Biol.* 2005;16:193–212.
  93. Hayashi H. Lipid metabolism and glial lipoproteins in the central nervous system. *Biol Pharm Bull.* 2011;34:453–61.
  94. Hayashi H, Campenot RB, Vance DE, Vance JE. Glial lipoproteins stimulate axon growth of central nervous system neurons in compartmented cultures. *J Biol Chem.* 2004;279:14009–15.
  95. Horsburgh K, Macrae IM, Carswell H. Estrogen is neuroprotective via an apolipoprotein E-dependent mechanism in a mouse model of global ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2002;22:1189–95.
  96. LaDu MJ, Shah JA, Reardon CA, Getz GS, Bu G, Hu J. Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors modulate A $\beta$ -induced glial neuroinflammatory responses. *Neurochem Int.* 2001;39:427–34.
  97. Hayashi H, Campenot RB, Vance DE, Vance JE. Apolipoprotein E-containing lipoproteins protect neurons from apoptosis via a signaling pathway involving low-density lipoprotein receptor-related protein-1. *J Neurosci.* 2007;27:1933–41.
  98. Hayashi H, Campenot RB, Vance DE, Vance JE. Protection of neurons from apoptosis by apolipoprotein E-containing lipoproteins does not require lipoprotein uptake and involves activation of phospholipase C $\gamma$ 1 and inhibition of calcineurin. *J Biol Chem.* 2009;284:29605–13.
  99. Valenza M, Rigamonti D, Goffredo D, Zuccato C, Fenu S, Jamot L, et al. Dysfunction of the cholesterol biosynthetic pathway in Huntington's disease. *J Neurosci.* 2005;25:9932–9.
  100. Valenza M, Leoni V, Karasinska JM, Petricca L, Fan J, Carroll J, et al. Cholesterol defect is marked across multiple rodent models of Huntington's disease and is manifest in astrocytes. *J Neurosci.* 2010;30:10844–50.
  101. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, et al. Apolipoprotein E: high-avidity binding to  $\beta$ -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:1977–81.
  102. Rebeck GW, Reiter JS, Strickland DK, Hyman BT. Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: allelic variation and receptor interactions. *Neuron.* 1993;11:575–80.

103. Schmechel DE, Saunders AM, Strittmatter WJ, Crain BJ, Hulette CM, Joo SH, et al. Increased amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90:9649–53.
104. Lois C, Alvarez-Buylla A. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90:2074–7.
105. Morshead CM, Reynolds BA, Craig CG, McBurney MW, Staines WA, Morassutti D, et al. Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. *Neuron*. 1994;13:1071–82.
106. Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science*. 2000;287:1433–8.
107. Luskin MB. Neuroblasts of the postnatal mammalian forebrain: their phenotype and fate. *J Neurobiol*. 1998;36:221–33.
108. Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM. Neurogenesis in adult subventricular zone. *J Neurosci*. 2002;22:629–34.
109. Bozoyan L, Khlgatyan J, Saghatelian A. Astrocytes control the development of the migration-promoting vasculature scaffold in the postnatal brain via VEGF signaling. *J Neurosci*. 2012;32:1687–704.
110. Curtis MA, Kam M, Nannmark U, Anderson MF, Axell MZ, Wikkelsö C, et al. Human neuroblasts migrate to the olfactory bulb via a lateral ventricular extension. *Science*. 2007;315:1243–9.
111. Sanai N, Nguyen T, Ihrie RA, Mirzadeh Z, Tsai HH, Wong M, et al. Corridors of migrating neurons in the human brain and their decline during infancy. *Nature*. 2011;478:382–6.
112. Silver J, Miller JH. Regeneration beyond the glial scar. *Nat Rev Neurosci*. 2004;5:146–56.
113. Bush TG, Puvanachandra N, Horner CH, Polito A, Ostenfeld T, Svendsen CN, et al. Leukocyte infiltration, neuronal degeneration, and neurite outgrowth after ablation of scar-forming, reactive astrocytes in adult transgenic mice. *Neuron*. 1999;23:297–308.
114. Faulkner JR, Herrmann JE, Woo MJ, Tansey KE, Doan NB, Sofroniew MV, et al. Reactive astrocytes protect tissue and preserve function after spinal cord injury. *J Neurosci*. 2004;24:2143–55.
115. Voskuhl RR, Peterson RS, Song B, Ao Y, Morales LB, Tiwari-Woodruff S, et al. Reactive astrocytes form scar-like perivascular barriers to leukocytes during adaptive immune inflammation of the CNS. *J Neurosci*. 2009;29:11511–22.
116. Rothstein JD, Dykes-Hoberg M, Pardo CA, Bristol LA, Jin L, Kuncl RW, et al. Knockout of glutamate transporters reveals a major role for astroglial transport in excitotoxicity and clearance of glutamate. *Neuron*. 1996;16:675–86.
117. Swanson RA, Ying W, Kauppinen TM. Astrocyte influences on ischemic neuronal death. *Curr Mol Med*. 2004;4:193–205.
118. Chen Y, Vartiainen NE, Ying W, Chan PH, Koistinaho J, Swanson RA. Astrocytes protect neurons from nitric oxide toxicity by a glutathione-dependent mechanism. *J Neurochem*. 2001;77:1601–10.
119. Shih AY, Johnson DA, Wong G, Kraft AD, Jiang L, Erb H, et al. Coordinate regulation of glutathione biosynthesis and release by Nrf2-expressing glia potentially protects neurons from oxidative stress. *J Neurosci*. 2003;23:3394–406.
120. Vargas MR, Johnson DA, Sirkis DW, Messing A, Johnson JA. Nrf2 activation in astrocytes protects against neurodegeneration in mouse models of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci*. 2008;28:13574–81.
121. Koistinaho M, Lin S, Wu X, Esterman M, Koger D, Hanson J, et al. Apolipoprotein E promotes astrocyte colocalization and degradation of deposited amyloid-beta peptides. *Nat Med*. 2004;10:719–26.
122. Pekny M. Astrocytic intermediate filaments: lessons from GFAP and vimentin knock-out mice. *Prog Brain Res*. 2001;132:23–30.
123. Eng LF, Lee YL, Kwan H, Brenner M, Messing A. Astrocytes cultured from transgenic mice carrying the added human glial fibrillary acidic protein gene contain Rosenthal fibers. *J Neurosci Res*. 1998;53:353–60.
124. Wilhelmsson U, Li L, Pekna M, Berthold CH, Blom S, Eliasson C, et al. Absence of glial fibrillary acidic protein and vimentin prevents hypertrophy of astrocytic processes and improves post-traumatic regeneration. *J Neurosci*. 2004;24:5016–21.
125. Tanaka K, Watase K, Manabe T, Yamada K, Watanabe M, Takahashi K, et al. Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1. *Science*. 1997;276:1699–702.
126. Mitani A, Tanaka K. Functional changes of glial glutamate transporter GLT-1 during ischemia: an in vivo study in the hippocampal CA1 of normal mice and mutant mice lacking GLT-1. *J Neurosci*. 2003;23:7176–82.
127. Watanabe T, Morimoto K, Hirao T, Suwaki H, Watase K, Tanaka K. Amygdala-kindled and pentylenetetrazole-induced seizures in glutamate transporter GLAST-deficient mice. *Brain Res*. 1999;845:92–6.
128. Mallolas J, Hurtado O, Castellanos M, Blanco M, Sobrino T, Serena J, et al. A polymorphism in the EAAT2 promoter is associated with higher glutamate concentrations and higher frequency of progressing stroke. *J Exp Med*. 2006;203:711–7.
129. Siushansian R, Bechberger JF, Cechetto DF, Hachinski VC, Naus CC. Connexin43 null mutation increases infarct size after stroke. *J Comp Neurol*. 2001;440:387–94.
130. Lutz SE, Raine CS, Brosnan CF. Loss of astrocyte connexins 43 and 30 does not significantly alter susceptibility or severity of acute experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *J Neuroimmunol*. 2012;245:8–14.