

Rev Mex Neuroci ahora en CONACyT

Vol. 18, núm. 4 (julio-agosto de 2017)

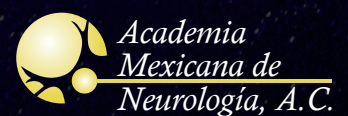
# Revista Mexicana de Neurociencia

Publicación oficial de la Academia Mexicana de Neurología A.C.



Revista Mexicana de Neurociencia; 18,4 (2017):57-69

Órgano Oficial de Difusión de la AMN



Academia  
Mexicana de  
Neurología, A.C.

[www.revmexneuroci.com](http://www.revmexneuroci.com) / ISSN 1665-5044



# Revisión

---

Pavel Montes de Oca Balderas

Unidad de Neurobiología  
Dinámica, Departamento de  
Neuroquímica, Instituto Nacional  
de Neurología y Neurocirugía.

## Aspectos celulares y consideraciones del estudio de la excitabilidad por $Ca^{2+}$ en astrocitos

Cellular aspects and considerations from the study of  $Ca^{2+}$  excitability in astrocytes

## Resumen

---

**Introducción:** Por más de un siglo la función del Sistema Nervioso (SN) se estudió desde una perspectiva neurocéntrica, considerando la actividad eléctrica de las neuronas, la función de sus circuitos y sus cambios celulares como el sustrato único del flujo y manejo de la información. En esta perspectiva los astrocitos (As), las células más abundantes del SN, tenían asignados papeles conectivo, homeostático y metabólico que permitían el funcionamiento de las neuronas. No obstante, hoy sabemos que las células astrogliales participan activamente en el flujo y manejo de la información, gracias a su expresión de receptores a neurotransmisores, la secreción de neurotransmisores, su excitabilidad por  $Ca^{2+}$ , la formación de redes y su estrecha relación con la sinapsis. Estas características en conjunto permitieron que hace más de quince años se propusiera la hipótesis de la sinapsis tripartita.

**Objetivo:** En el presente trabajo se revisan el mecanismo de excitabilidad por  $Ca^{2+}$  de los As, sus actores moleculares, los organelos involucrados y las propiedades de las ondas de  $Ca^{2+}$ . Adicionalmente, se recapitulan algunas consideraciones principalmente metodológicas en función de las lecciones aprendidas del estudio de estas células en las últimas décadas.

**Conclusiones:** La participación de la astrogliá en el manejo de la información en el cerebro representa sin lugar a dudas un avance paradigmático para la comprensión del SN, cuyas aparentes contradicciones lentamente se van solventando. El estudio de su excitabilidad por  $Ca^{2+}$  ha generado una reevaluación de sus funciones, lo que conlleva gradualmente a una visión más integral del SN.

### Palabras clave

Astrocito. Excitabilidad.  
fisiología de  $Ca^{2+}$ . sinapsis  
tripartita



## Abstract

---

**Introduction:** For more than a century the Nervous System (NS) function was studied from a neurocentric perspective, considering the electric neuronal activity, the function of their circuits and their cellular responses as the only substrate for information flow and handling. In this perspective astrocytes, the most abundant cells of the CNS, had assigned connective, homeostatic and metabolic roles that enabled neuronal function. However, today we know that astroglial cells actively participate in information flow and handling, mediated by their neurotransmitter receptor expression, their neurotransmitter secretion, their  $Ca^{2+}$  excitability, their network formation and their close interaction with the synapse. These characteristics together originated the tripartite synapse hypothesis more than fifteen years ago.

**Objective:** In the present work, astrocytes' mechanism of  $Ca^{2+}$  mediated excitability, its molecular actors, the cellular organelles involved and the  $Ca^{2+}$  wave properties are reviewed. In addition some considerations, mainly methodological, are recapitulated that emanated from the study of these cells in the last decades.

**Conclusions:** The role of astrocytes in information handling within the brain represents with no doubt a paradigmatic advance for the understanding of NS, and its apparent contradictions are slowly being solved. The study of astrocytes'  $Ca^{2+}$  excitability has generated a reassessment of their functions, that gradually is accompanied by a more integrated view of the NS.

### Keywords

*astrocyte, excitability,  $Ca^{2+}$  physiology, tripartite synapse, organelles*

---

#### Correspondencia:

Pavel Montes de Oca Balderas.

Unidad de Neurobiología Dinámica, Departamento de Neuroquímica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

Insurgentes Sur #3877, Col. La Fama, C.P. 14269 Ciudad de México, México.

+52(55)5606-3822x2078;

e-mail: pavel73@hotmail.com

# Introducción

Durante poco más de un siglo, el manejo de la información en el Sistema Nervioso Central (SNC) se estudió desde una perspectiva neurocéntrica, considerando la actividad eléctrica de las neuronas, sus circuitos y respuestas celulares como el sustrato único de esta función. Mientras, las células astrogiales fueron relegadas a un papel secundario de tejido conectivo relacionado con la homeostasis y el metabolismo del Sistema Nervioso (SN), para el sostén de las neuronas. No obstante, esta concepción cambió diametralmente hace poco más de dos décadas y media, cuando se demostró que los astrocitos (As) en cultivo son excitables mediante ondas de  $Ca^{2+}$ <sup>1</sup> que se desplazan en la red sincicial de As por sus uniones comunicantes (Gap Junctions; GJ) (Figura 1).<sup>2</sup> Esto, aunado a la expresión de receptores de neurotransmisores, la secreción de gliotransmisores y el posicionamiento de sus proyecciones envolviendo la sinapsis, permitió proponer a finales del siglo pasado la hipótesis de la sinapsis tripartita (Figura 1). Esta idea postula que los As participan activamente en el procesamiento de la información en el SN,<sup>3</sup> gracias a sus proyecciones perisinápticas (Astrocyte Peri-synaptic Projections o PAP's), con las que "escuchan" la actividad neuronal y "responden" a ella. Es decir, que el flujo de información en la sinapsis es multidireccional. Diferentes grupos han confirmado esta idea<sup>4-9</sup> y las evidencias han llevado al surgimiento de nociones que proponen a los As como un actor central en la salud y en la enfermedad del SN,<sup>10</sup> llegando incluso a proponerse una hipótesis astrocéntrica.<sup>11</sup> En este trabajo se revisan los hallazgos más relevantes respecto a la fisiología del  $Ca^{2+}$  en As y se hacen algunas consideraciones de acuerdo a la experiencia adquirida por su estudio.

## I. Las ondas de $Ca^{2+}$

### Ia. Mecanismo y actores.

Cornel-Belly cols. describieron que en As cultivados existe un aumento espontáneo o en respuesta a glutamato (Glu) del  $Ca^{2+}$  intracelular ( $iCa^{2+}$ ).<sup>1</sup> Este

aumento del  $iCa^{2+}$  genera una onda que viaja por decenas de células a una velocidad de 19  $\mu m/s$  con una duración de minutos. El  $Ca^{2+}$  proviene de los almacenes intracelulares y del espacio extracelular. En As de cerebro la señalización mediada por  $iCa^{2+}$  también se presenta en respuesta a la actividad neuronal,<sup>7,9,12-15</sup> y se difunden por GJ (Figura 1).<sup>16,17</sup> Interesantemente, los As de la corteza cerebral presentan poco sobrelape (5-10%), lo que originó el concepto de los dominios o territorios de As.<sup>18,19</sup>

La liberación de  $Ca^{2+}$  del Retículo Endoplásmico (RE) es mediada por el receptor a Inositol tri-fosfato tipo 2 (IP3R2). Este se activa por Inositol tri-fosfato (IP3) generado por la fosfolipasa C (PLC), activada por diferentes receptores metabotrópicos. La liberación de  $Ca^{2+}$  del RE permite la propagación de la onda de  $Ca^{2+}$  a nivel intracelular por el mecanismo conocido como Liberación de  $Ca^{2+}$  Inducida por  $Ca^{2+}$  ( $Ca^{2+}$  Induced  $Ca^{2+}$  Release; CICR). Este mecanismo es mediado por el receptor de Ryanodina (RyR) del RE, el cual al unirse a  $Ca^{2+}$  abre su poro y permite una mayor salida de  $Ca^{2+}$ , perpetuando así la propagación de la onda. En el RE, la ATPasa del Retículo Sarco Endoplásmico (Sarco Endoplasmic Reticulum ATPase; SERCA) transporta  $Ca^{2+}$  de regreso al interior del RE hidrolizando ATP. La onda de  $Ca^{2+}$  se desplaza entre As por el paso de IP3 a través de las GJ (Figura 1), mientras que los sistemas de tampón de  $Ca^{2+}$  citosólicos inhiben que este ion se desplace por las GJ.<sup>4,5,17,20-23</sup> La onda de  $Ca^{2+}$  también puede desplazarse entre células separadas por hasta 120  $\mu m$ , mediante la secreción y difusión de ATP (Figura 1). Este mensajero perpetua la onda de  $Ca^{2+}$  por la activación de receptores purinérgicos de tipo metabotrópico (P2Y) principalmente y ionotrópicos (P2X), que inducen la secreción vesicular de ATP (Figura 1).<sup>4,5,17,20-26</sup>

En la membrana de los As hay además una gran diversidad de receptores metabotrópicos, ionotrópicos y transportadores relacionados con la fisiología del  $Ca^{2+}$ . Los metabotrópicos de la vía de PLC son para glutamato, dopamina,

bradiquinina, GABA, adenosina, adrenalina, acetilcolina, oxitocina, vasopresina, endotelina, Péptido Intestinal Vasoactivo (VIP), angiotensina e histamina. Los metabotrópicos de la vía del AMP cíclico (cAMP) son para serotonina, glutamato, opioides, dopamina y adenosina.<sup>22,27</sup> Los ionotrópicos permeables a  $Ca^{2+}$  activados por ligando son de tipo AMPA, NMDA y nicotínicos de acetilcolina (nAChR) (1,28). Intrigantemente observamos en As *in vitro* que el NMDAR puede actuar de manera tipo-metabotrópica, independiente de flujo,<sup>29</sup> similar a los receptores de Kainato.<sup>30</sup> Hay también Canales de  $Ca^{2+}$  Regulados por Voltaje (Voltage Gated  $Ca^{2+}$  Channels; VGCC) de diferentes tipos,<sup>31-33</sup> que median además la respuesta indirecta de  $iCa^{2+}$  de los receptores de GABAA, y glicina que son canales de  $Cl^-$ .<sup>27</sup> Además, los hemicanales formados por conexinas (Cx) y panexinas (Panx) permiten la entrada de  $Ca^{2+}$  a la célula.<sup>34</sup>

Participan también canales ionotrópicos que median la Entrada de  $Ca^{2+}$  Regulada por Almacenes (Store Operated  $Ca^{2+}$  Channels; SOCE) o Entrada Capacitativa de  $Ca^{2+}$  (Capacitative  $Ca^{2+}$  Entry). Este mecanismo se activa por el aumento de  $iCa^{2+}$  y provoca la apertura de dichos canales, lo que permite rellenar el RE a sus niveles basales de  $Ca^{2+}$ .<sup>4,5,17,20-23,35</sup> Estos canales ionotrópicos incluyen los Canales Catiónicos de Potencial de Receptor Transitorio, incluyendo los Canónicos (Transient Receptor Potential Channels; TRPC),<sup>36-41</sup> los Vaniloideos (TRPV)<sup>42-44</sup> y los de la subfamilia A (TRPA).<sup>45,46</sup> Además, se ha observado *in vitro* la participación de los Canales Activados por la Liberación de  $Ca^{2+}$  ( $Ca^{2+}$  Release Activated Channels; CRAC).<sup>47,48</sup> Estos canales incluyen la proteína de membrana plasmática Orai 1 y la proteína transmembranal STIM1 del RE, que al censar la baja de  $Ca^{2+}$  en el RE interactúa con Orai1 y permite su apertura.<sup>49</sup>

También se han identificado transportadores de membrana plasmática que intervienen en el aumento del  $iCa^{2+}$ . El Intercambiador  $Na^+/Ca^{2+}$  ( $Na^+/Ca^{2+}$  Exchanger; NCX) es electrogénico y saca  $Ca^{2+}$  y mete  $Na^+$ , ayudando a mantener los niveles de  $iCa^{2+}$  basal. Pero, cuando el  $Na^+$

intracelular ( $iNa^+$ ) aumenta, el NCX actúa de manera inversa, permitiendo el aumento del  $iCa^{2+}$ . Los niveles de  $iNa^+$  en el As se elevan con la actividad sináptica, porque los recapturadores de Glu del As cotransportan dos iones de  $Na^+$ , un  $H^+$  y sacan un ion  $K^+$ .<sup>50-54</sup> Además, la ATPasa de  $Ca^{2+}$  de la membrana Plasmática (Plasma Membrane  $Ca^{2+}$  ATPase; PMCA) saca  $Ca^{2+}$  del citoplasma al espacio extracelular hidrolizando ATP, ayudando a mantener los niveles de  $iCa^{2+}$  basal.<sup>22,23,35,55</sup>

La mitocondria es un organelo importante en el metabolismo del  $Ca^{2+}$  de los As, actuando como almacén o fuente de  $Ca^{2+}$ .<sup>56</sup> Su internalización de  $Ca^{2+}$  depende del Uniporter de  $Ca^{2+}$  Mitocondrial (Mitochondrial  $Ca^{2+}$  Uniporter; MCU). Este uniporter es un complejo molecular con subunidades reguladoras y formadoras del canal iónico que se localiza en la membrana interna de la mitocondria y mete  $Ca^{2+}$  a expensas del potencial de membrana mitocondrial.<sup>22,23,35</sup> Además, en la mitocondria existen dos entidades moleculares que participan en la extrusión de  $Ca^{2+}$ : el Poro de Transición de Potencial Mitocondrial (Mitochondrial Potential Transition Pore; MPTP) y el intercambiador  $Na^+/Ca^{2+}$  Mitocondrial (Mitochondrial  $Na^+/Ca^{2+}$  Exchanger; mNCX), análogo al de la membrana plasmática (NCX). Existe además un Intercambiador  $Ca^{2+}/H^+$  ( $Ca^{2+}/H^+$  exchanger, HCX), aunque este se ha estudiado poco y no se ha descrito en As.<sup>22,23,35,55,57</sup>

Como puede verse, las moléculas, mecanismos y organelos involucrados en la fisiología del  $Ca^{2+}$  en As son comunes con casi todos los tipos celulares, debido a que este tipo de señalización está conservada evolutivamente.<sup>56</sup> No obstante, el estudio de la función del  $Ca^{2+}$  en los As se encuentra en crecimiento exponencial. La más estudiada es la regulación de y por la sinapsis, en la que la secreción por exocitosis dependiente de  $Ca^{2+}$  es central, aunque participa también la secreción por hemicanales.<sup>58,59</sup> Además, la regulación del flujo sanguíneo, la conducta, la inmunidad y la función respiratoria, entre otras son reguladas por el  $Ca^{2+}$  de As.<sup>23,60</sup>

## Ib. Particularidades de los organelos involucrados

En esta sección se revisan algunas particularidades de las tres fuentes principales de  $Ca^{2+}$  de As (RE, mitocondria y espacio extracelular) y de otros organelos involucrados poco estudiados.

### Retículo Endoplásmico (RE)

Considerado hasta hace poco la fuente predominante de  $Ca^{2+}$  en As, este organelo es bien conocido por su capacidad de almacenamiento de  $Ca^{2+}$  (0.2-1 mM), por arriba del nivel basal en citoplasma ( $\approx 100$  nM). Se ha propuesto que los receptores IP3R y RyR median la liberación de  $Ca^{2+}$  de compartimientos independientes del RE, lo que influye funcional y espacialmente sobre el mecanismo de las ondas de  $Ca^{2+}$ .<sup>61,62</sup>

No obstante se ha demostrado el papel del RE de los As en la regulación de la actividad sináptica,<sup>5,21,63</sup> hay trabajos que contradicen esta idea. En animales transgénicos de un receptor metabotrópico para un ligando exógeno expresado en As o en animales KO para el IP3R2, la transmisión sináptica, la plasticidad y la conducta no se alteran.<sup>64-67</sup> Además, recientemente se confirmó en As de tejido la ausencia de almacenes de  $Ca^{2+}$  (RE y mitocondria) cercanos a la membrana peri-sináptica de las PAP's, localizándolos a  $\approx 1000$  nm de ella.<sup>68,69</sup> Con esto, los autores concluyeron que la comunicación metabotrópica neurona-As que libera  $Ca^{2+}$  del RE se lleva a cabo de manera extrasináptica. No obstante, el alto coeficiente de difusión del IP3 no permite descartar este tipo de comunicación a pesar de la distancia (Montes de Oca and Montes de Oca, en preparación). En cambio, esta observación apoya la idea de que las PAP's son una especialización del As en la comunicación con la sinapsis tripartita.<sup>63</sup>

### Espacio extracelular

La entrada de  $Ca^{2+}$  extracelular ( $\approx 2$  mM) permite la SOCE, pero también la generación de oscilaciones de  $Ca^{2+}$  independientes del RE.<sup>21,45,46</sup>

Shigetomi y cols. demostraron que el flujo de  $Ca^{2+}$  por canales TRPA1 contribuye a mantener el nivel basal de  $Ca^{2+}$  en las PAP's, originando microdominios de  $Ca^{2+}$  independientes del RE y de la actividad neuronal. Esto es muy relevante porque experimentos previos con transgénicos habían puesto en duda la importancia del  $Ca^{2+}$  de As, como se describió arriba. Así mismo, permite considerar a diferentes canales de membrana plasmática con diferentes mecanismos de activación como jugadores clave putativos de la fisiología del  $Ca^{2+}$  de As de diferentes regiones y circunstancias.

### La mitocondria

La mitocondria juega un papel relevante en la fisiología del  $Ca^{2+}$  de los As, como se explicó arriba. La recaptura de  $Ca^{2+}$  mitocondrial ocurre principalmente cuando se eleva el  $iCa^{2+}$   $> 500$  nM, pero predomina cuando hay sobrecarga de  $iCa^{2+}$  ( $> 10$   $\mu$ M), que puede alcanzarse en microdominios<sup>35,56</sup>. Además, las mitocondrias se localizan cercanas a sitios de liberación de  $Ca^{2+}$  del RE, en donde la concentración de  $Ca^{2+}$  alcanza niveles  $\mu$ M, por arriba del promedio citoplasmático, lo que inhibe el movimiento mitocondrial. Esto coordina la activación celular con el metabolismo energético mediante la regulación alostérica por  $Ca^{2+}$  de enzimas del Ciclo del Ácido Tricarboxílico.<sup>56,70,71</sup>

### Vesículas intracelulares

Se ha reportado que en As de tejido las Vesículas de Centro Denso (Dense Core Vesicles; DCVs), poseen los tres tipos de IP3R. Esto llevó a sugerir que estas vesículas de secreción pueden funcionar como almacenes de  $Ca^{2+}$ , tal como ocurre en células neuroendocrinas, en las que la liberación de  $Ca^{2+}$  de estas vesículas alcanza hasta  $> 70\%$  del total liberado por IP3<sup>72</sup>. También se ha encontrado que las vesículas lisosomales en las que se encuentra el receptor a NAADP<sup>+</sup> (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate) pueden ser un almacén de  $Ca^{2+}$  y generar un aumento de  $iCa^{2+}$  que depende de receptores de membrana celular de adenosina.<sup>73,74</sup>

## Núcleo celular

La dinámica del  $Ca^{2+}$  en el núcleo celular presenta aún muchas incógnitas. Se ha propuesto que los niveles de  $iCa^{2+}$  se regulan de manera independiente al del  $Ca^{2+}$  intranuclear, que proviene probablemente de la envoltura nuclear que expresa IP3R's. Alternativamente se ha propuesto el  $Ca^{2+}$  difunde al núcleo mediante los poros nucleares. Las funciones del  $Ca^{2+}$  en el núcleo son diversas e incluyen la regulación génica y la translocación de moléculas entre otras.<sup>75</sup> En neuronas, el  $Ca^{2+}$  nuclear se ha relacionado con señales de sobrevivencia.<sup>76</sup> En As hay incremento de  $Ca^{2+}$  intranuclear,<sup>77</sup> pero se ha estudiado poco y podría ser importante funcionalmente para las señales de  $Ca^{2+}$  locales y globales (ver abajo).

### Ic. Propiedades de las ondas de $Ca^{2+}$

El estudio de las ondas de  $Ca^{2+}$  en As ha generado un gran avance en la comprensión de sus mecanismos y relevancia funcional. Sin embargo, en más de una ocasión, se han realizado hallazgos que parecen contradictorios. En este sentido, la relevancia de los As en la regulación de la actividad neuronal o la regulación del flujo sanguíneo ha sido fuertemente cuestionada lo que ha generado debate. Ha sido hasta los últimos años, en los que avances tecnológicos y conceptuales han permitido desenredar estos aparentes conflictos.<sup>5,21,78,79</sup>

Por años, las ondas de  $Ca^{2+}$  de As se estudiaron de manera global, registrando y evaluando los cambios en su soma. Hoy sabemos que existe una gran cantidad de eventos de  $Ca^{2+}$  locales en las proyecciones de los As, a nivel de microdominios que alcanzan la escala nanomolar, asincrónicos e independientes de las respuestas globales.<sup>5,8,9,63,78,80</sup>

Esta nueva concepción espacial ha permitido modificar la escala temporal de estos fenómenos, que a nivel global se pensaban muy lentos para subyacer la regulación de circuitos neuronales y otras funciones, pero que analizados a nivel local ocurren rápidamente.<sup>5,21,63</sup> Estos avances se deben a dos cuestiones fundamentales: al uso de técnicas de microscopía de dos fotones para a la medición

del  $iCa^{2+}$ ; y al desarrollo de los Indicadores de  $Ca^{2+}$  Codificados Genéticamente (Genetically Encoded  $Ca^{2+}$  Indicators; GECIs).<sup>21</sup> Así, las propiedades espacio-temporales de estos eventos han permitido reforzar la hipótesis de que los As integran la actividad de los microdominios de  $Ca^{2+}$ , dependientes o no de la actividad neuronal, lo que se traduce en actividad global y a su vez en eventos funcionalmente observables.<sup>5,21,63,81</sup>

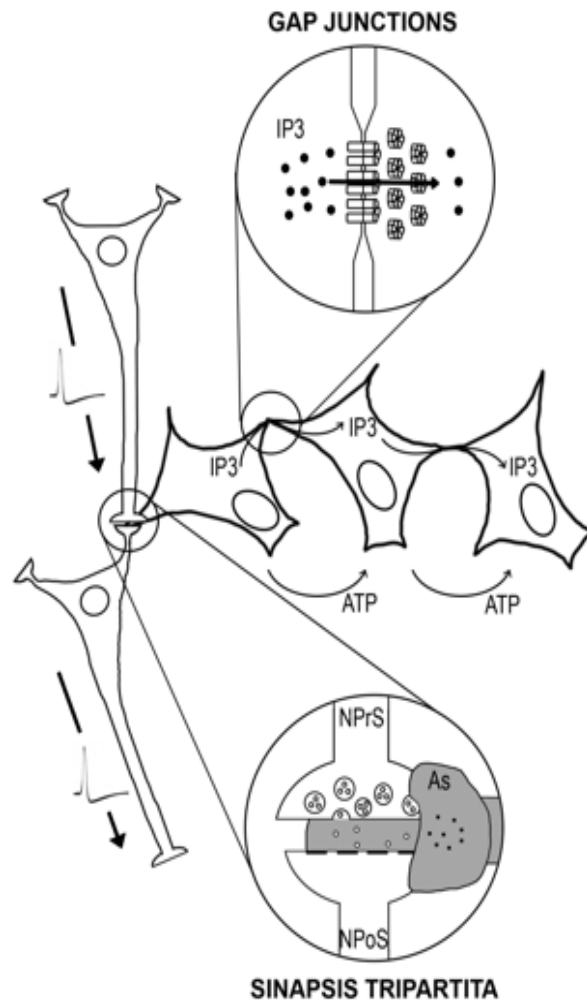
Hoy sabemos además que la actividad de  $Ca^{2+}$  de los As en una región cerebral relacionada con una conducta no es del todo o nada en términos de población, sino que solo una fracción de los As presenta una respuesta de  $Ca^{2+}$  correlacionada con la conducta.<sup>82</sup> Esto aunado a la diversidad de respuestas de  $Ca^{2+}$  y la independencia de la actividad neuronal de algunos eventos, han llevado a pensar que las respuestas de  $Ca^{2+}$  de As son útiles para la sintonización fina de la conducta, en parte a través de la regulación e integración de circuitos, en lugar de ser requeridas para que la conducta misma se lleve a cabo.<sup>21</sup>

Entonces, las respuestas de  $Ca^{2+}$  de As representan una codificación que aún espera su desciframiento en dimensiones que incluyen: amplitud, duración, ubicación, difusión espacial y frecuencia.<sup>21</sup> Estas propiedades han permitido substanciar la idea de que estas células son el sustrato que subyace los cambios funcionales del cerebro en una escala temporal diferente a las neuronas.<sup>81,83</sup>



Figura 1. Las ondas de  $Ca^{2+}$  en As.

Los As (las tres células poligonales representadas aquí) son excitables por ondas de  $Ca^{2+}$  que pueden ser generadas de manera espontánea o por actividad sináptica neuronal (las dos células representadas con axón mediante el cual viaja el potencial de acción). El potencial de acción de la neurona pre-sináptica (NPrS) induce la secreción de neurotransmisores (círculos blancos pequeños en acercamiento inferior) por la exocitosis de vesículas (círculos grandes en acercamiento inferior). Estos neurotransmisores activan los receptores de membrana de la neurona post-sináptica (NPoS) asociados a la Densidad Post Sináptica (Post Synaptic Density; PSD; sombra negra de la NPoS en el acercamiento inferior), permitiendo así el relevo en la conducción del potencial de acción. Al mismo tiempo, el mismo neurotransmisor activa los receptores de membrana del Astrocito (As) el cual mediante sus proyecciones peri-sinápticas (Peri-synaptic astrocyte Projection; PAP's; en gris en el acercamiento inferior) envuelve las sinapsis. Esto genera un aumento del  $iCa^{2+}$  (cuadros negros acercamiento inferior) en la PAP generado por la entrada de  $Ca^{2+}$  extracelular mediante receptores ionotrópicos, o por la liberación de  $Ca^{2+}$  del ER por los IP3R, en respuesta al IP3 inducido por receptores metabotrópicos (aunque este último mecanismo aún se debate; ver texto). Esta elevación de  $Ca^{2+}$  en la PAP puede generar una onda de  $Ca^{2+}$  que alcanza el soma del As y se propaga por el sincicio de As. Esta propagación ocurre mediante la difusión de IP3 (IP3) a través de las Gap Junctions (GJ) o Uniones Comunicantes (canales del acercamiento superior), mientras que los sistemas de tampón de  $Ca^{2+}$  citoplásmicos limitan el movimiento de este ion. Alternativamente, según del As que se trate, la onda de  $Ca^{2+}$  puede ser perpetuada por la liberación de ATP dependiente de  $Ca^{2+}$ , que a su vez activa receptores purinérgicos en As cercanos provocando provocando la elevación de  $iCa^{2+}$ . La actividad de  $Ca^{2+}$  de los As permite a su vez la regulación de la actividad sináptica por diferentes mecanismos, incluyendo la liberación de gliotransmisores. Así mismo, se ha propuesto que la regulación de la sinapsis puede ocurrir por la actividad de  $Ca^{2+}$  del sincicio de As generada en otra PAP del mismo As o bien en otro As.



## Consideraciones

En los últimos 25 años ha ocurrido un cambio de los paradigmas funcionales del SN encabezado por la reevaluación de los As y sus funciones. Este cambio ha sido gradual y ha enfrentado resistencias que persisten a veces a pesar de las evidencias. Desde el punto de vista biológico, dicho cambio no es tan inesperado, debido a los procesos evolutivos que han moldeado las especies. Además, esta perspectiva considera que la función tisular (o de un sistema) es una propiedad emergente del conjunto de células (o elementos) del tejido y que ninguna célula presenta individualmente. Notablemente, el número de células neurogliales ha aumentado en los phyla de acuerdo a la escala filogenética, pasando de cocientes neuroglia/neurona  $<1$  en moluscos o artrópodos a  $>1$  en mamíferos, tendencia que se conserva en primates.<sup>23</sup> Esto indica que la complejidad de los procesos del tejido nervioso ha ido de la mano con el aumento de las células neurogliales, lo que sugiere la participación de estas células en estos procesos. Más aun, es difícil concebir que una población tan numerosa en mamíferos como la neuroglia, cuya génesis y función implica un gasto energético no despreciable, tiene un rol limitado al conectivo-homeostático-metabólico.

El estudio de la fisiología del  $Ca^{2+}$  en As ha dejado lecciones conceptuales y metodológicas muy importantes. Aunque en esta revisión no se pretende analizar este tema, lo que ya han hecho otros autores, estas incluyen:

- a) El término As comprende células de diferentes regiones del SN cuya heterogeneidad puede ser igual o mayor a la de las neuronas, lo que limita los alcances de los estudios a nivel intraespecie e interespecie.<sup>5,84,85</sup>
- b) La edad de los individuos empleados en los estudios es importante porque algunos procesos celulares van de la mano con el desarrollo.<sup>78,86</sup>

c) El uso de anestesia es importante porque puede interferir con la función de los As.<sup>21,87</sup>

d) El paradigma experimental empleado es relevante porque involucra variables que generan resultados no necesariamente comparables. Por ejemplo, para regular el  $Ca^{2+}$  de As se emplearon estimulación neuronal,  $Ca^{2+}$  “enjaulado” (caged  $Ca^{2+}$ ), animales transgénicos, agonistas o quelantes de  $Ca^{2+}$  que llevaron a resultados aparentemente contradictorios.<sup>5,21,63</sup>

e) El estado de actividad de los As es importante por el efecto que tiene sobre las ondas de  $Ca^{2+}$  (dependientes de actividad neuronal o espontáneas).<sup>21</sup>

f) Los modelos *in vitro*, *in situ* e *in vivo* poseen diferencias que pueden afectar la función estudiada. Por ejemplo, estudiar la regulación del flujo sanguíneo *in vivo* o *in situ* implica diferencias hemodinámicas.<sup>83</sup>

g) Las nuevas tecnologías de microscopia y moleculares han puesto de manifiesto las limitaciones espacio-temporales de los sensores de  $Ca^{2+}$  tradicionales,<sup>5,21,63</sup> superados ya por los GECIs.<sup>21,88</sup> La microscopia de alta resolución podrían permitir la mejor comprensión de estos fenómenos a nivel local.<sup>5</sup>

## Conclusiones

---

La participación de la astrogliía en el manejo de la informaci3n en el cerebro representa sin lugar a dudas un avance paradigmático para la compresi3n del SN. A pesar de los múltiples problemas conceptuales y metodol3gicos que han surgido en los últimos 25 años, el papel de los As en la sinapsis tripartita y otras funciones es hoy innegable. Más aun, existe la idea de que la disfunci3n de la astrogliía representa un paso fundamental para el desarrollo de las enfermedades del SN.<sup>10</sup> Las lecciones emanadas por el estudio de la astrogliía son un recordatorio de la complejidad de estas células y su funci3n dentro del SN, que depende de la regi3n, edad, modelo y otras variables. Esto señaala la conveniencia de establecer protocolos estándares que facilitarían llegar a consensos más rápidamente, evitando así las aparentes contradicciones que en esta área han abundado. En este contexto, el estudio de la astrogliía requiere nuevas estrategias y acercamientos en los que la biología celular adquirirá un papel más importante, más allá de la perspectiva electrofisiológica, con la cual se trató de explicar por muchas décadas el funcionamiento del tejido nervioso.

### Conflicto de intereses

El autor no declara conflictos de interés.

### Fuentes de financiamiento

Proyecto SEP-CONACyT 132706.

## Referencias

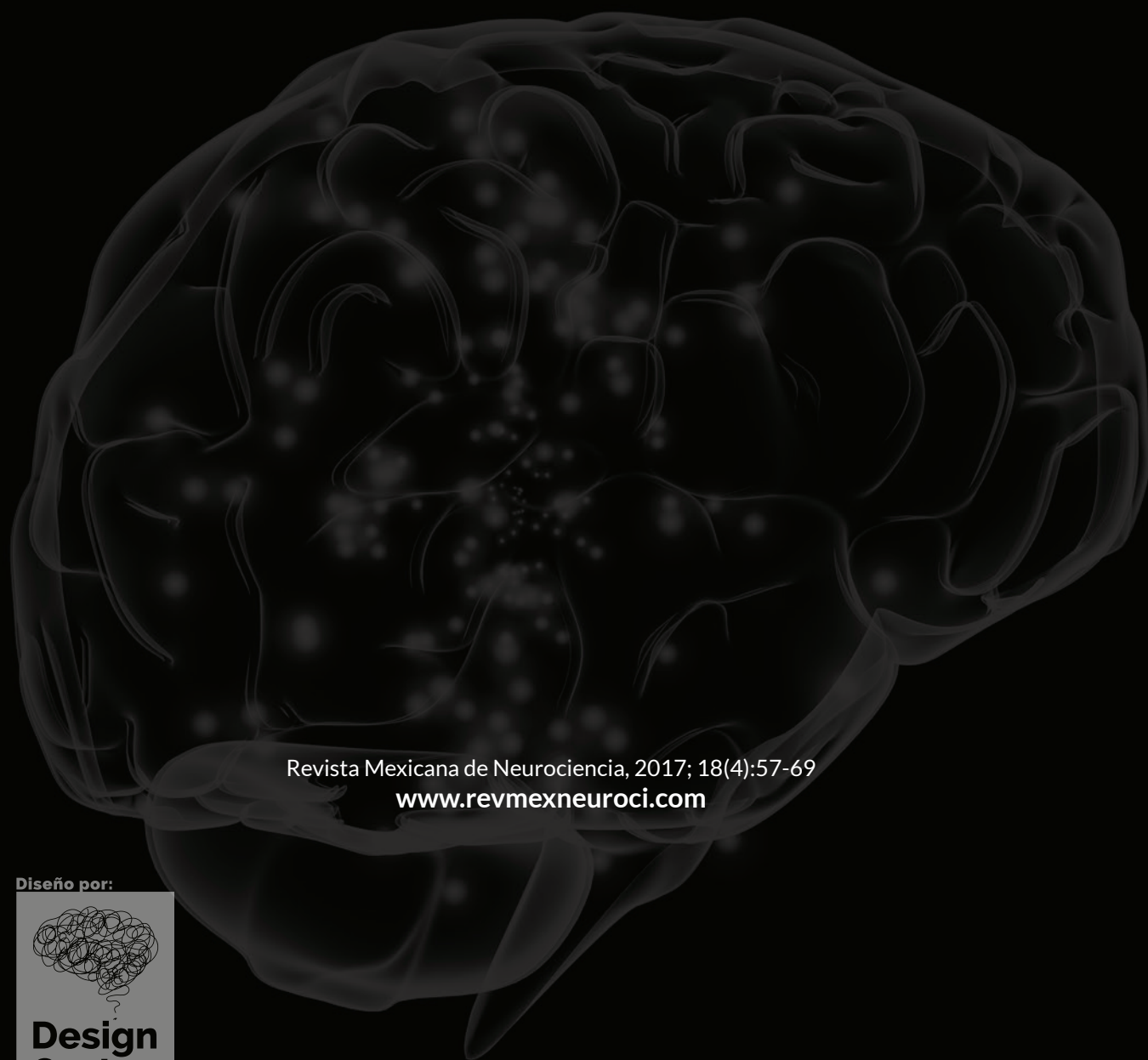
1. Cornell-Bell AH, Finkbeiner SM, Cooper MS, Smith SJ. Glutamate induces calcium waves in cultured astrocytes: long-range glial signaling. *Science*. (80-). 1990;247(4941):470-473.
2. Giaume C, McCarthy KD. Control of gap-junctional communication in astrocytic networks. *Trends Neurosci*. 1996;19(8):319-325.
3. Araque A, Parpura V, Sanzgiri RP, Haydon PG. Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends Neurosci*. 1999;22(5):208-215.
4. Volterra A, Meldolesi J. Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6(8):626-640.
5. Volterra A, Liaudet N, Savtchouk I. Astrocyte Ca<sup>2+</sup> signalling: an unexpected complexity. *Nat. Rev. Neurosci*. 2014;15(5):327-35.
6. De Pitt?? M, Brunel N, Volterra A. Astrocytes: Orchestrating synaptic plasticity? *Neuroscience*. 2015;
7. Bernardinelli Y, Randall J, Janett E, et al. Activity-Dependent Structural Plasticity of Perisynaptic Astrocytic Domains Promotes Excitatory Synapse Stability. *Curr. Biol*. 2014;24(15):1679-1688.
8. Di Castro MA, Chuquet J, Liaudet N, et al. Local Ca<sup>2+</sup> detection and modulation of synaptic release by astrocytes. *Nat. Neurosci*. 2011;14(10):1276-84.
9. Srinivasan R, Huang BS, Venugopal S, et al. Ca<sup>2+</sup> signaling in astrocytes from Ip3r2<sup>-/-</sup> mice in brain slices and during startle responses in vivo. *Nat. Neurosci*. 2015;18(5):708-717.
10. Nedergaard M, Rodriguez JJ, Verkhratsky A. Glial calcium and diseases of the nervous system. *Cell Calcium*. 2010;47(2):140-149.
11. Robertson JM. The Astrocentric Hypothesis: proposed role of astrocytes in consciousness and memory formation. *J Physiol Paris*. 2002;96(3-4):251-255.
12. Porter JT, McCarthy KD. GFAP-positive hippocampal astrocytes in situ respond to glutamatergic neuroleptans with increases in [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. *Glia*. 1995;13(2):101-12.
13. Pasti L, Zonta M, Pozzan T, Vicini S, Carmignoto G. Cytosolic calcium oscillations in astrocytes may regulate exocytotic release of glutamate. *J. Neurosci*. 2001;21(2):477-484.
14. Dani JW, Smith SJ. The triggering of astrocytic calcium waves by NMDA-induced neuronal activation. *Ciba Found. Symp*. 1995;188:195-205-9.
15. Di Castro MA, Chuquet J, Liaudet N, et al. Local Ca<sup>2+</sup> detection and modulation of synaptic release by astrocytes. *Nat. Neurosci*. 2011;14(10):1276-1284.
16. Kuga N, Sasaki T, Takahara Y, Matsuki N, Ikegaya Y. Large-Scale Calcium Waves Traveling through Astrocytic Networks In Vivo. *J. Neurosci*. 2011;31(7):2607-2614.
17. Scemes E, Giaume C. Astrocyte calcium waves: what they are and what they do. *Glia*. 2006;54(7):716-25.
18. Bushong EA, Martone ME, Jones YZ, Ellisman MH. Protoplasmic astrocytes in CA1 stratum radiatum occupy separate anatomical domains. *J. Neurosci*. 2002;22(1):183-92.
19. Ogata K, Kosaka T. Structural and quantitative analysis of astrocytes in the mouse hippocampus. *Neuroscience*. 2002;113(1):221-33.
20. Koizumi S. Synchronization of Ca<sup>2+</sup> oscillations: involvement of ATP release in astrocytes. *Febs J*. 2010;277(2):286-292.
21. Khakh BS, McCarthy KD. Astrocyte calcium signaling: from observations to functions and the challenges therein. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*. 2015;7(4):a020404.
22. Verkhratsky A, Parpura V. Calcium Signaling in Neuroglia. *Neuroglia*. 2013;320-332.
23. *Glial physiology and pathophysiology: a handbook*. Chichester: Wiley-Blackwell; 2013.
24. Hashioka S, Wang YF, Little JP, et al. Purinergic responses of calcium-dependent signaling pathways in cultured adult human astrocytes. *BMC Neurosci*. 2014;15:18.
25. Lalo U, Pankratov Y, Wichert SP, et al. P2X1 and P2X5 subunits form the functional P2X receptor in mouse cortical astrocytes. *J. Neurosci*. 2008;28(21):5473-5480.
26. Pan H-C, Chou Y-C, Sun SH. P2X7 R-mediated Ca(2+) -independent d-serine release via pannexin-1 of the P2X7 R-pannexin-1 complex in astrocytes. *Glia*. 2015;63(5):877-93.
27. Kettenman H, Zorec R. Release of Gliotransmitters and Transmitter Receptors in Astrocytes. *Neuroglia*. 2013;197-211.
28. Sharma G, Vijayaraghavan S. Nicotinic cholinergic signaling in hippocampal astrocytes involves calcium-induced calcium release from intracellular stores. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*. 2001;98(7):4148-4153.



29. Montes de Oca Balderas P, Aguilera P. A Metabotropic-Like Flux-Independent NMDA Receptor Regulates  $Ca^{2+}$  Exit from Endoplasmic Reticulum and Mitochondrial Membrane Potential in Cultured Astrocytes. *PLoS One*. 2015;10(5):e0126314.
30. Rodríguez-Moreno A, Sihra TS. Kainate receptors with a metabotropic modus operandi. *Trends Neurosci*. 2007;30(12):630–7.
31. D'Ascenzo M, Vairano M, Andreassi C, et al. Electrophysiological and Molecular Evidence of L-(Cav1), N- (Cav2.2), and R- (Cav2.3) Type  $Ca^{2+}$  Channels in Rat Cortical Astrocytes. *Glia*. 2004;45(4):354–363.
32. Latour I, Hamid J, Beedle AM, Zamponi GW, Macvicar BA. Expression of voltage-gated  $Ca^{2+}$  channel subtypes in cultured astrocytes. *Glia*. 2003;41(4):347–353.
33. Barres BA, Koroshetz WJ, Chun LL, Corey DP. Ion channel expression by white matter glia: the type-1 astrocyte. *Neuron*. 1990;5(4):527–44.
34. Ransom B, Giaume C. Gap Junctions and Hemichannels. *Neuroglia*. 2013;292–305.
35. Reyes RC, Parpura V. The trinity of  $Ca^{2+}$  sources for the exocytotic glutamate release from astrocytes. *Neurochem Int*. 2009;55(1–3):2–8.
36. Golovina V a. Visualization of localized store-operated calcium entry in mouse astrocytes. Close proximity to the endoplasmic reticulum. *J. Physiol*. 2005;564(Pt 3):737–749.
37. Malarkey EB, Ni Y, Parpura V.  $Ca^{2+}$  entry through TRPC1 channels contributes to intracellular  $Ca^{2+}$  dynamics and consequent glutamate release from rat astrocytes. *Glia*. 2008;56(8):821–835.
38. Reyes RC, Verkhratsky A, Parpura V. TRPC1-mediated  $Ca^{2+}$  and  $Na^{+}$  signalling in astroglia: differential filtering of extracellular cations. *Cell Calcium*. 2013;54(2):120–5.
39. Streifel KM, Miller J, Mounieime R, Tjalkens RB. Manganese inhibits ATP-induced calcium entry through the transient receptor potential channel TRPC3 in astrocytes. *Neurotoxicology*. 2013;34:160–6.
40. Liang C, Du T, Zhou J, Verkhratsky A, Peng L. Ammonium increases  $Ca^{2+}$  signalling and up-regulates expression of TRPC1 gene in astrocytes in primary cultures and in the in vivo brain. *Neurochem. Res*. 2014;39(11):2127–35.
41. Ronco V, Grolla AA, Glasnov TN, et al. Differential deregulation of astrocytic calcium signalling by amyloid- $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and LPS. *Cell Calcium*. 2014;55(4):219–29.
42. Shibasaki K, Ikenaka K, Tamalu F, Tominaga M, Ishizaki Y. A novel subtype of astrocytes expressing TRPV4 (transient receptor potential vanilloid 4) regulates neuronal excitability via release of gliotransmitters. *J. Biol. Chem*. 2014;289(21):14470–80.
43. Dunn KM, Hill-Eubanks DC, Liedtke WB, Nelson MT. TRPV4 channels stimulate  $Ca^{2+}$ -induced  $Ca^{2+}$  release in astrocytic endfeet and amplify neurovascular coupling responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2013;110(15):6157–62.
44. Shibasaki K, Ishizaki Y, Mandadi S. Astrocytes express functional TRPV2 ion channels. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2013;441(2):327–32.
45. Shigetomi E, Tong X, Kwan KY, Corey DP, Khakh BS. TRPA1 channels regulate astrocyte resting calcium and inhibitory synapse efficacy through GAT-3. *Nat. Neurosci*. 2012;15(1):70–80.
46. Shigetomi E, Jackson-Weaver O, Huckstepp RT, O'Dell TJ, Khakh BS. TRPA1 channels are regulators of astrocyte basal calcium levels and long-term potentiation via constitutive D-serine release. *J. Neurosci*. 2013;33(24):10143–53.
47. Barajas M, Andrade A, Hernandez-Hernandez O, Felix R, Arias-Montaña JA. Histamine-induced  $Ca^{2+}$  entry in human astrocytoma U373 MG cells: Evidence for involvement of store-operated channels. *J. Neurosci. Res*. 2008;86(15):3456–3468.
48. Moreno C, Sampieri A, Vivas O, Peña-Segura C, Vaca L. STIM1 and Orai1 mediate thrombin-induced  $Ca^{2+}$  influx in rat cortical astrocytes. *Cell Calcium*. 2012;52(6):457–67.
49. Putney JW. Recent breakthroughs in the molecular mechanism of capacitative calcium entry (with thoughts on how we got here). *Cell Calcium*. 2007;42(2):103–10.
50. Minelli A, Castaldo P, Gobbi P, et al. Cellular and subcellular localization of  $Na^{+}$ - $Ca^{2+}$  exchanger protein isoforms, NCX1, NCX2, and NCX3 in cerebral cortex and hippocampus of adult rat. *Cell Calcium*. 2007;41(3):221–234.
51. Kirischuk S, Ketfenmann H.  $Na^{+}$ /  $Ca^{2+}$  exchanger modulates  $Ca^{2+}$  signaling in Bergmann glial cells in situ. *Fed. Am. Soc. Exp. Biol*. 2007;7(566):566–572.
52. Goldman WF, Yarowsky PJ, Juhaszova M, Krueger BK, Blaustein MP. Sodium/calcium exchange in rat cortical astrocytes. *J. Neurosci*. 1994;14(10):5834–5843.
53. Reyes RC, Verkhratsky A, Parpura V. Plasmalemmal  $Na^{+}$ / $Ca^{2+}$  exchanger modulates  $Ca^{2+}$ -dependent exocytotic release of glutamate from rat cortical astrocytes. *ASN Neuro*. 2012;4(1):33–45.

54. Paluzzi S, Alloisio S, Zappettini S, et al. Adult astroglia is competent for  $Na^{+}/Ca^{2+}$  exchanger-operated exocytotic glutamate release triggered by mild depolarization. *J. Neurochem.* 2007;103(3):1196–1207.
55. Kamer KJ, Mootha VK. The molecular era of the mitochondrial calcium uniporter. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2015;16(9):545–53.
56. Rizzuto R. Microdomains of Intracellular  $Ca^{2+}$ : Molecular Determinants and Functional Consequences. *Physiol. Rev.* 2006;86(1):369–408.
57. Parnis J, Montana V, Delgado-Martinez I, et al. Mitochondrial exchanger NCLX plays a major role in the intracellular  $Ca^{2+}$  signaling, gliotransmission, and proliferation of astrocytes. *J. Neurosci.* 2013;33(17):7206–19.
58. Vardjan N, Parpura V, Zorec R. Loose excitation-secretion coupling in astrocytes. *Glia.* 2016;May 64(5):655–67.
59. Sahlender DA, Savtchouk I, Volterra A. What do we know about gliotransmitter release from astrocytes? *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2014;369(1654):20130592.
60. *Neuroglia.* New York: Oxford; 2013.
61. Golovina VA, Blaustein MP. Unloading and refilling of two classes of spatially resolved endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  stores in astrocytes. *Glia.* 2000;31(1):15–28.
62. Hua X, Malarkey EB, Sunjara V, et al.  $Ca^{2+}$ -Dependent Glutamate Release Involves Two Classes of Endoplasmic Reticulum  $Ca^{2+}$  Stores in Astrocytes. *J. Neurosci. Res.* 2004;76(1):86–97.
63. Rusakov DA, Bard L, Stewart MG, Henneberger C. Diversity of astroglial functions alludes to subcellular specialisation. *Trends Neurosci.* 2014;37(4):228–42.
64. Petravicz J, Boyt KM, McCarthy KD. Astrocyte IP3R2-dependent  $Ca^{2+}$  signaling is not a major modulator of neuronal pathways governing behavior. *Front. Behav. Neurosci.* 2014;8(November):384.
65. Fiacco TA, Agulhon C, Taves SR, et al. Selective Stimulation of Astrocyte Calcium Influx Does Not Affect Neuronal Excitatory Synaptic Activity. *Neuron.* 2007;54(4):611–626.
66. Petravicz J, Fiacco TA, McCarthy KD. Loss of IP3 receptor-dependent  $Ca^{2+}$  increases in hippocampal astrocytes does not affect baseline CA1 pyramidal neuron synaptic activity. *J. Neurosci.* 2008;28(19):4967–73.
67. Agulhon C, Fiacco TA, McCarthy KD. Hippocampal short- and long-term plasticity are not modulated by astrocyte  $Ca^{2+}$  signaling. *Science.* (80-). 2010;327(5970):1250–1254.
68. Reichenbach A, Derouiche A, Kirchhoff F. Morphology and dynamics of perisynaptic glia. *Brain Res. Rev.* 2010;63(1–2):11–25.
69. Patrushev I, Gavrilov N, Turlapov V, Semyanov A. Subcellular location of astrocytic calcium stores favors extrasynaptic neuron-astrocyte communication. *Cell Calcium.* 2013;54(5):343–9.
70. Jackson JG, Robinson MB. Reciprocal Regulation of Mitochondrial Dynamics and Calcium Signaling in Astrocyte Processes. *J. Neurosci.* 2015;35(45):15199–213.
71. Peng TI, Greenamyre JT. Privileged access to mitochondria of calcium influx through N-methyl-D-aspartate receptors. *Mol. Pharmacol.* 1998;53(6):974–80.
72. Hur YS, Kim KD, Paek SH, Yoo SH. Evidence for the existence of secretory granule (dense-core vesicle)-based inositol 1,4,5-trisphosphate-dependent  $Ca^{2+}$  signaling system in astrocytes. *PLoS One.* 2010;5(8):e11973.
73. Barceló-Torns M, Lewis AM, Gubern A, et al. NAADP mediates ATP-induced  $Ca^{2+}$  signals in astrocytes. *FEBS Lett.* 2011;585(14):2300–6.
74. Heidemann AC, Schipke CG, Kettenmann H. Extracellular application of nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate induces  $Ca^{2+}$  signaling in astrocytes in situ. *J. Biol. Chem.* 2005;280(42):35630–40.
75. Gomes DA, Leite MF, Bennett AM, Nathanson MH. Calcium signaling in the nucleus. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2006;84(3–4):325–32.
76. Hardingham GE, Arnold FJ, Bading H. Nuclear calcium signaling controls CREB-mediated gene expression triggered by synaptic activity. *Nat. Neurosci.* 2001;4(3):261–7.
77. Zhao L, Brinton RD. Vasopressin-induced cytoplasmic and nuclear calcium signaling in embryonic cortical astrocytes: dynamics of calcium and calcium-dependent kinase translocation. *J. Neurosci.* 2003;23(10):4228–39.
78. Zheng K, Bard L, Reynolds JP, et al. Time-Resolved Imaging Reveals Heterogeneous Landscapes of Nanomolar  $Ca^{2+}$  in Neurons and Astroglia. *Neuron.* 2015;88(2):277–288.
79. Smith K. Neuroscience: Settling the great glia debate. *Nature.* 2010;468(7321):160–162.
80. Panatier A, Vallée J, Haber M, et al. Astrocytes are endogenous regulators of basal transmission at central synapses. *Cell.* 2011;146(5):785–98.

81. Croft W, Dobson KL, Bellamy TC. Plasticity of Neuron-Glial Transmission: Equipping Glia for Long-Term Integration of Network Activity. *Neural Plast.* 2015;2015:1-11.
82. Dombeck DA, Khabbaz AN, Collman F, Adelman TL, Tank DW. Imaging large-scale neural activity with cellular resolution in awake, mobile mice. *Neuron.* 2007;56(1):43-57.
83. Howarth C. The contribution of astrocytes to the regulation of cerebral blood flow. *Front. Neurosci.* 2014;8:103.
84. Anderson MA, Ao Y, Sofroniew M V. Heterogeneity of reactive astrocytes. *Neurosci. Lett.* 2014;565:23-29.
85. Matyash V, Kettenmann H. Heterogeneity in astrocyte morphology and physiology. *Brain Res Rev.* 2010;63(1-2):2-10.
86. Sun W, McConnell E, Pare J-F, et al. Glutamate-dependent neuroglial calcium signaling differs between young and adult brain. *Science.* 2013;339(6116):197-200.
87. Thrane AS, Rangroo Thrane V, Zeppenfeld D, et al. General anesthesia selectively disrupts astrocyte calcium signaling in the awake mouse cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2012;109(46):18974-9.
88. Rusakov D a. Disentangling calcium-driven astrocyte physiology. *Nat. Rev. Neurosci.* 2015;16(March):1-8.



Revista Mexicana de Neurociencia, 2017; 18(4):57-69  
[www.revmexneuroci.com](http://www.revmexneuroci.com)

Diseño por:

