

Revista de
**Medicina e
Investigación**

www.elsevier.es



ARTÍCULO ORIGINAL

Comunicación entre células gliales y neuronas I. Astrocitos, células de Schwann que no forman mielina y células de Schwann perisinápticas

A. Martínez-Gómez*

Laboratorio de Biología Molecular y Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México

PALABRAS CLAVE

Neurona; Glía; Astrocitos; Células de Schwann que no forman mielina; Células de Schwann perisinápticas; Sinantocitos; Sinapsis tripartita; Sistema nervioso central; Sistema nervioso periférico.

Resumen Las células gliales han sido poco estudiadas en la comunicación y el procesamiento de información del sistema nervioso (SN), debido a que han sido consideradas durante mucho tiempo como simples elementos de soporte estructural de las neuronas. Sin embargo, en los últimos años numerosos estudios han implicado a las células gliales en diferentes procesos requeridos para el funcionamiento adecuado del sistema nervioso, siendo de ésta manera compañeras interactivas de la actividad neuronal, regulando múltiples procesos que permiten una mayor plasticidad del sistema nervioso. En estos artículos de revisión se detallarán interacciones o, como bien es señalado “comunicaciones” entre las neuronas y los diferentes tipos de células gliales del SN. De esta forma, y dentro de un contexto contemporáneo del funcionamiento del SN, ya no es apropiado considerar solamente conexiones neurona-neurona (sinapsis), es necesario desarrollar una visión mucho más amplia y compleja; en la cual el SN, debe ser considerado como una intrincada red de conexiones activas entre neuronas y células gliales así como, entre células gliales y neuronas, convirtiéndose en un paradigma que nos permite replantearnos la integración del funcionamiento del SN, tal es el caso de la interacción de los astrocitos y las sinapsis neuronales, estableciendo una transmisión sináptica.

KEYWORDS

Nonmyelinating Schwann cells; Synantocites; Tripartite synapses.

Communication glia-neurons I. Astrocytes, nonmyelinating Schwann cells and perisynaptic Schwann cells

Abstract Glial cells have been insufficiently studied in the communication and information process in the nervous system (NS), as they have been regarded as mere elements of the structural support of neurons. However, in recent years, numerous studies have implicated glial cells

*Autor para correspondencia: Paseo Tollócan y Jesús Carranza, Toluca, Estado de México. C.P. 50180. Teléfono: (722) 2702899 ext. 222, fax: 2174142. Correo electrónico: amartinezgo@uaemex.mx (A. Martínez-Gómez)

in various processes required for the proper functioning of the nervous system, being in this way interactive mates of neuronal activity, regulating many processes that allow a greater plasticity of the nervous system. This review article detailed interactions will be shown or, as it is well noted “communications” between neurons and different glial cell types of the NS. Thus, within a contemporary context of the operation of the NS, it is no longer appropriate to consider only neuron-neuron connections (synapses), it is necessary to develop a broader and more complex view; in which the NS should be considered as an intricate network of active connections between neurons and glial cells, becoming a paradigm that allows us to rethink the integration of the operation of the NS, as in the case of interaction of astrocytes and neuronal synapses, establishing a tripartite synaptic transmission.

Introducción

El sistema nervioso (SN) es un tejido complejo formado por un conjunto de células que conforman una red altamente organizada de comunicación y procesamiento de información. El SN recibe información del medio ambiente, la cual se procesa para posteriormente emitir una respuesta apropiada, algunas de estas respuestas se realizan en milisegundos como lo es un reflejo que es una respuesta automática y otras necesitan de un tiempo mayor de respuesta, como lo es el aprendizaje, que requiere de una cooperación y comunicación de diversas regiones del cerebro. No obstante, la tarea principal del SN es asegurarse de que el organismo se adapte adecuadamente al medio ambiente, para que este lleve a cabo sus funciones vitales y reproductivas¹.

Las neuronas se reconocen como los elementos celulares responsables del procesamiento de información del SN debido a una de sus propiedades fundamentales, la excitabilidad eléctrica. Las neuronas transfieren información entre ellas a través de las sinapsis. Existen dos tipos de sinapsis: eléctricas y químicas, distinguiéndose por su morfología y mecanismo de funcionamiento. En las sinapsis eléctricas, las neuronas presináptica y postsináptica simulan de manera análoga las propiedades de un cable, en el cual la corriente se propaga directamente de una célula a otra a través de canales formados por uniones comunicantes o “gap junctions”. Mientras que en las sinapsis químicas, la llegada de un potencial de acción a una neurona en su terminal presináptica permite la liberación de neurotransmisor a la hendidura sináptica, el neurotransmisor activa receptores ionotrópicos o metabotrópicos específicos de la membrana citoplasmática de una neurona postsináptica, lo que ocasiona un cambio en la permeabilidad iónica. De acuerdo con la selectividad iónica del canal postsináptico, la terminal se excita o se inhibe². Este proceso representa la principal forma de comunicación en el SN.

Las células gliales han sido consideradas de manera clásica como células de soporte estructural, metabólico y trófico de las neuronas, sin participar activamente en el proceso de información del SN. Sin embargo, durante los últimos años el conocimiento del funcionamiento de las células gliales las ha hecho emerger de las sombras de manera prominente y las ha convertido en un paradigma contemporáneo que nos permite replantearnos la integración del funcionamiento del SN. De esta forma, éste artículo de revisión tratará de enfocarse en detallar procesos de interacción entre las células gliales [los principales y diferentes tipos que hay tanto en el sistema nervioso central (SNC) como en el sistema

nervioso periférico (SNP)] y las neuronas, con el objetivo de generar una conceptualización de “comunicación entre células gliales y neuronas”, el cual resulta ser un pensamiento novedoso y herético, ya que típicamente se entiende este proceso de comunicación entre células del SN como el que únicamente existe entre una neurona y otra neurona es decir, la sinapsis.

Las células gliales

Históricamente, las células gliales han sido poco estudiadas en la comunicación y el procesamiento de información en el SN. Esto se debe a que carecen de las propiedades de la membrana citoplasmática de las neuronas, ya que no pueden disparar potenciales de acción. Por lo que tradicionalmente se considera que las células gliales tienen únicamente un papel como espectadores pasivos en el funcionamiento del SN, es decir, como asistentes de soporte estructural, trófico y metabólico de las neuronas³.

Sin embargo, en los últimos años numerosos estudios han implicado a las células gliales en diferentes procesos requeridos para el funcionamiento adecuado del SN. Del total de las células que conforman el SNC, las células gliales representan aproximadamente el 80-90%⁴. Mientras que en el SNP, en un nervio periférico mixto, las fibras no mielinizadas superan en número a las fibras mielinizadas en una proporción de tres o cuatro a uno. Por ejemplo, en una sección transversal del nervio sural humano, el número de fibras mielinizadas puede ser aproximadamente de 8,000 por mm², mientras que el número de fibras no mielinizadas puede alcanzar las 30,000 por mm² ⁵.

Se ha visto que durante el desarrollo del SN, las células gliales se encuentran implicadas en la proliferación, migración y diferenciación de precursores neuronales, así como en la sinaptogénesis y la mielinización. En el SN adulto las células gliales pueden controlar la intensidad o fuerza de la actividad sináptica, es decir, pueden cambiar el potencial de membrana que ocurre cuando se activan los receptores de neurotransmisores postsinápticos, también pueden participar en el procesamiento de la información al coordinar la actividad entre grupos de neuronas. De manera inversa, las neuronas también pueden regular un amplio rango de actividades gliales como son la proliferación, diferenciación y mielinización⁶⁻¹².

Existen dos principales clases de células gliales en el SN de los vertebrados: la primera clase se denomina macroglía, que durante el desarrollo embrionario se origina a partir de células precursoras del ectodermo y que comprende a los

astrocitos y a los oligodendrocitos en el SNC; y en el SNP está constituida por las células de Schwann que forman mielina (CSFM), a las células de Schwann que no forman mielina (CSNFM) y a las células de Schwann perisinápticas (CSP), los 3 tipos de células de Schwann son originados a partir de células la cresta neural (ectodermo) en etapas tempranas del desarrollo embrionario. La segunda clase se denomina microglía, estas células forman parte exclusivamente del SNC y proceden de células precursoras de monocitos de la medula espinal, por lo que tienen un origen germinal mesodérmico.

Los astrocitos

Los astrocitos (fig. 1A) son las células gliales más abundantes en el SNC y se encuentran íntimamente asociados con las neuronas³. El nombre de astrocitos se refiere a su forma de estrella cuando son observados en preparaciones histológicas. Los astrocitos proporcionan un soporte estructural definiendo límites celulares, contribuyen a la formación de la barrera hematoencefálica, circundan las uniones sinápticas y debido a que en el SNC central no hay lámina basal recubriendo los axones mielinizados, en los nodos de Ranvier se encuentran asociados los astrocitos perinodales, también conocidos como “sinantocitos” (fig. 1B)¹³.

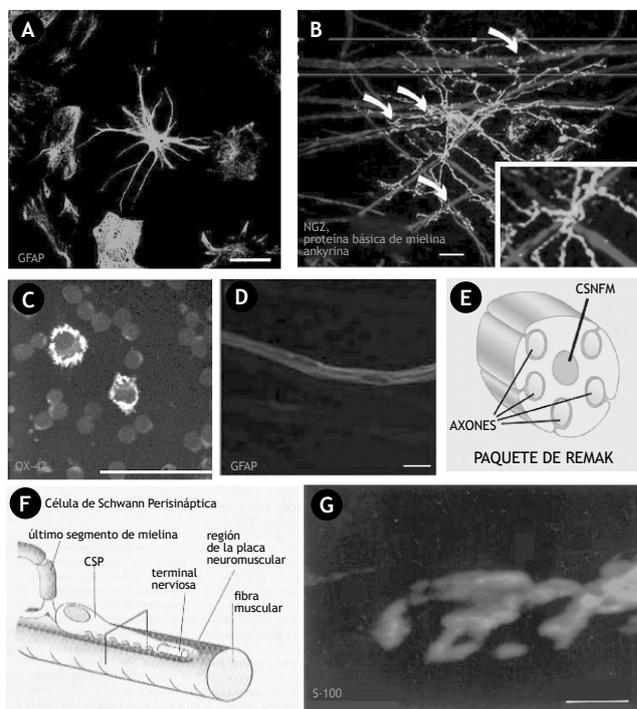
En condiciones normales los astrocitos han sido implicados en funciones fisiológicas importantes como son: el control de la formación y función sináptica, la neurogénesis y la regulación del tono vascular del cerebro¹⁴. Por otra parte, cuando se presenta un daño en el SNC los astrocitos secretan factores tróficos y forman una malla extensa y gruesa conocida como cicatriz de astrocitos, proceso conocido como gliosis⁹.

Aunque los sinantocitos comparten muchas características con los astrocitos, no expresan proteínas marcadoras de astrocitos maduros *in vivo*, como lo son proteína ácida glial fibrilar (GFAP), vimentina, proteína de unión a calcio S-100 y la glutamina sintetasa (GS); pero, expresan el marcador NG2 condroitín sulfato proteoglicano (CSPG), el cual es un marcador antigénico para el fenotipo de células progenitoras de oligodendrocitos (CPOs) o también consideradas células O-A2 (precursoras oligodendrocito-astrocito tipo 2), no obstante, los sinantocitos tienen características morfológicas del fenotipo de los astrocitos y no de las CPOs. Además, estudios *in vitro* de cerebro posnatal y adulto de rata muestran que los CPOs tienen una morfología unipolar y que son mitóticamente activos, mientras las células que expresan NG2, tienen una morfología compleja y son post-mitóticas¹⁵.

Las células de Schwann que no forman mielina (CSNFM)

Las CSNFM (fig. 1D) muestran considerables similitudes a nivel molecular con los astrocitos (tabla 1). Las CSNFM envainan varios axones, cada uno de los cuales se sitúa sobre una porción de la membrana plasmática de la CSNFM.

En estudios llevados a cabo en ratas, un proceso complejo que se inicia desde el nacimiento del organismo y toma varias semanas para que finalice, las células de Schwann inmaduras comienzan a diferenciarse, generando CSFM estrechamente asociadas con axones de diámetros grandes y CSNFM asociadas con axones de diámetros pequeños. El



A) Microfotografía de astrocitos *in vitro* extendiendo sus procesos celulares, los cuales establecen un íntimo contacto con las neuronas, con los oligodendrocitos, con la barrera hematoencefálica y con otros astrocitos; los astrocitos no forman mielina y en este caso fue marcado mediante inmunocitoquímica con GFAP (una proteína específica de astrocitos). **B)** Sinantocitos en contacto con los nodos de Ranvier, fotografías de microscopía confocal del velum medular anterior del cerebro de rata, la triple-inmuno-histoquímica muestra el marcaje específico de los sinantocitos contra la proteína condroitina proteoglicanos sulfato NG2 (en verde), en rojo contra la proteína básica de mielina y en azul contra la proteína marcadora de los nodos de Ranvier Ankyrina. Las flechas curvadas muestran múltiples procesos celulares de los sinantocitos en contacto con los nodos de Ranvier que se aprecian con más detalle en el acercamiento. **C)** Microfotografía de células de la microglía, estas células responden a una lesión del SNC mediante interacciones neuroinmunes, marcada con anti-OX-42 una proteína específica de células microgliales. **D)** Microfotografía de una célula de Schwann que no forma mielina, marcada con GFAP una proteína específica de este tipo de células. **E)** Esquema de un paquete de Remak. **F)** Esquema de una célula de Schwann perisináptica (CSP), que cubre con finos procesos celulares los axones de la terminal nerviosa en la placa neuromuscular. **G)** Microfotografía de una CSP marcada mediante inmunohistoquímica con el anticuerpo S-100 (una proteína específica (específica) de células de Schwann) y revelado con FITC (en verde). Barras, 20 μm (A, y G), 10 μm en (B y D), 25 μm en (C). Adaptada de Castonguay et al.⁴⁴; Rochon et al.⁶⁶; Butt et al.⁶⁷; Liu et al.⁶⁸; Lara-Ramírez et al.⁶⁹; Salzer⁷⁰.

Figura 1 Ilustración de diferentes tipos de células gliales en el SNC

diámetro de un axón (calibre), tiene unas dimensiones en los axones periféricos de mamíferos de 0.1 mm a 20 mm, donde los axones amielínicos tienen calibres menores a los 2mm y los mielinizados mayores a 2 mm¹⁶. Se ha considerado dogmáticamente que las señales axonales son las responsables

Tabla 1 Comparación de los principales marcadores antigénicos de los astrocitos y las CSNFM

Comparación del fenotipo molecular de los astrocitos y las CSNFM		
Marcador Antigénico	Astrocitos	CSNFM
A) P ₀	-	-
MBP	-	-
PLP	-	n. d.
B) Proteína ácida glial fibrilar (GFAP)	+	+
Marcador de linaje glial, que es una proteína de superficie celular (A5E3)	+	+
N-CAM	+	+
Marcador de linaje glial que es una proteína de superficie celular, descrita como proteínas ancladas a glicosilfosfatidilinositol (Ran-2)	+	+
Receptor del factor de crecimiento neuronal (NGFR)	-	+
Proteína de unión a calcio S-100	+	+
Galactocerebrósido	-	+

Los marcadores antigénicos de la sección A) son principalmente expresados en células formadoras de mielina. Los marcadores antigénicos de la sección B) son expresados principalmente en astrocitos y CSNFM. Adaptada de Jessen y Mirsky⁷¹.

de dirigir este proceso, sin embargo, la naturaleza de la comunicación entre las células de Schwann y los axones se desconoce¹⁷. Estudios recientes muestran que la neuroregulina-1 tipo III (Nrg-1 tipo III) distribuida en los axones es necesaria para inducir la mielinización en el SNP^{18,19}.

Por otra parte, muy poca atención se ha puesto al estudio de las CSNFM y su asociación con los axones. Sin embargo, todos los axones que no se encuentran mielinizados se encuentran en estrecho contacto con las CSNFM, estas células envuelven a dichos axones y forman los “paquetes de Remak” (fig. 1E), cada paquete puede contener desde 1 hasta 10 axones. Aunque es casi completamente desconocido el funcionamiento fisiológico de las CSNFM, al parecer estas células son vitales para la función y el mantenimiento de los axones no mielinizados también necesarias para la sensación de dolor⁵.

En ratones transgénicos que no expresan el receptor ErbB (ligando de Nrg-1) específicamente en las CSNFM se presenta una interrupción de comunicación entre los axones y las CSNFM, dicha interrupción de comunicación produce que los ratones pierdan su capacidad de percepción sensorial y no puedan responder apropiadamente a estímulos de calor o frío, estos ratones también presentan una extensiva muerte y proliferación de las CSNFM, similares a las que se presentan por la pérdida de contacto axonal, sugiriendo de esta manera que la señalización a través de los receptores ErbB, promueve la sobrevivencia y suprime la proliferación de las CSNFM²⁰.

Las células de Schwann perisinápticas (CSP)

En la placa neuromuscular de los vertebrados se halla un tipo de células altamente especializadas, las células de Schwann perisinápticas (CSP) (figs. 1F, 1G), estas células no formadoras de mielina extienden procesos que cubren las uniones neuromusculares. En las terminales nerviosas de la placa neuromuscular se liberan neurotransmisores como la acetilcolina y el ATP en vesículas pequeñas, pero también

son liberados péptidos transmisores como, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) y sustancia P (SP) en vesículas grandes. Las CSP responden a la activación de estos neurotransmisores y péptidos transmisores debido a que poseen los receptores adecuados en la membrana plasmática para generar la señalización correspondiente. Las CSP tienen receptores de acetilcolina muscarínicos (probablemente el receptor m6), purinoreceptores (P2Y y P2X) y receptores de sustancia P/receptores de neurokinina-1 (NK-1R), además de tener canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje tipo L. De esta forma, las CSP tienen la capacidad de monitorear la actividad sináptica de manera similar a los astrocitos²¹ y regular esta actividad sináptica; estableciendo una estrecha comunicación con las terminales axonales y fibras musculares²².

La microglía

Las células microgliales (fig. 1C) derivan de precursores monocíticos de la médula espinal²³, al contrario de la macroglía, la cual es originada a partir de precursores ectodérmicos del SN. Las células microgliales, al igual que sus contrapartes del sistema inmune (monocitos y macrófagos), responden a una lesión o daño en el SNC fagocitando restos celulares producidos y disparando respuestas inflamatorias. También se ha sugerido que la microglía puede responder a la actividad neuronal y puede mediar interacciones neuroinmunes, como en condiciones de dolor crónico⁹. Esta revisión omitirá por brevedad la implicación de la microglía en procesos de comunicación con las neuronas.

Comunicación entre astrocitos o CSP con neuronas

La idea clásica que excluía a los astrocitos o las CSP de una participación activa en la fisiología del SN se basa en el

hecho de que carecen de la propiedad fundamental que poseen las neuronas: la excitabilidad eléctrica¹⁴. Los astrocitos expresan canales de Na^+ activados por voltaje, su número es insuficiente para generar respuestas similares a las neuronales y aunque pueden mostrar pequeñas variaciones en su potencial de membrana, estas sólo representan respuestas pasivas debidas principalmente a las variaciones de la concentración extracelular de potasio generadas por la actividad neuronal²⁴⁻²⁶.

Pero entonces, ¿Cómo se lleva a cabo la interacción entre neuronas-astrocitos en el SNC y neuronas-CSP en el SNP? Mediante el desarrollo de nuevas técnicas microscópicas, sistemas de adquisición y análisis de imágenes en tiempo real, así como de marcadores fluorescentes sensibles a iones, que permiten estimar la concentración de iones en células vivas, se ha podido demostrar que los astrocitos son células excitables y que su excitabilidad se basa en variaciones en la concentración intracelular de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$)²⁷⁻²⁹. Estas respuestas en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ resulta de la actividad coordinada de cascadas de señalamiento responsables del movimiento de Ca^{2+} hacia el interior de la célula mediante canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje o activados por ligandos, así como por los intercambiadores de Ca^{2+} y de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ o mediante la liberación de Ca^{2+} mediada por los receptores intracelulares de inositol-1,4,5-trifosfato (IP_3Rs) hacia el citoplasma por parte de almacenes intracelulares de Ca^{2+} como lo es el retículo endoplásmico (RE)³⁰.

Estas variaciones en $[\text{Ca}^{2+}]_i$, pueden presentarse como oscilaciones espontáneas independientes de la actividad neuronal (ondas de calcio) que permiten la transmisión de señales entre células gliales a largas distancias. Sin embargo, la excitabilidad astrocitaria y de las CSP se desencadena por actividad sináptica neuronal, lo que demuestra la existencia de una comunicación entre las neuronas y este tipo de glia²⁴. Aunque las señales que activan a un astrocito con otros astrocitos y con neuronas adyacentes, más que ser eléctricas son señales de tipo químico^{9,31}.

Durante el desarrollo, las células gliales guían a los axones a sus áreas blanco y se desconoce cómo ayudan a las neuronas a establecer conexiones sinápticas funcionales. Sin embargo, estudios en cultivo de neuronas postnatales del ganglio de la retina de rata muestran que se forman sinapsis estructuralmente normales, no obstante, en registros electrofisiológicos se observa muy poca actividad de corrientes excitatorias postsinápticas (EPSCs). Mientras que de manera sorprendente, en co-cultivos (10 a 15 días) de estas neuronas con neuroglia (astrocitos u oligodendrocitos), la frecuencia y amplitud de los EPSCs son potenciadas, de esta manera son requeridas señales de células gliales para que las sinapsis sean completamente funcionales, aunque se desconoce como las células gliales pueden promover la correcta formación y función del establecimiento de las sinapsis³².

Como se ha mencionado, los astrocitos al igual que el resto de las células gliales no poseen las propiedades eléctricas excitables que presentan las neuronas. Sin embargo, los astrocitos y las CSP poseen en sus membranas plasmáticas canales dependientes de voltaje, como los que se encuentran en cualquier tipo de célula (para revisión ver Vernadakis³³ y Verkhratsky et al.³⁰). Los más abundantes son los canales de K^+ , ya que una de las principales funciones de los astrocitos y de las CSP es la de amortiguar el K^+ extracelular excedente

producido durante el potencial de acción³⁴. También expresan canales de Cl^- , los cuales se encuentran involucrados con la regulación del pH y el volumen celular^{35,36}. Otro tipo de canales que expresan los astrocitos son los de Ca^{2+} principalmente los de tipo L y T, los cuales debido a su permeabilidad al Ca^{2+} extracelular pueden desempeñar un papel importante en la regulación y activación de los astrocitos³⁰.

En las CSP han sido identificados canales de Ca^{2+} de tipo L en la placa neuromuscular donde están agrupados en procesos de la membrana plasmática, próximos al sitio de liberación del neurotransmisor³⁷. Los astrocitos también expresan canales de Na^+ dependientes de voltaje^{38,39}, los cuales se localizan particularmente en los procesos perinodales y se ha sugerido que están involucrados en el mantenimiento homeostático iónico del espacio extracelular y por otra parte regulan a la bomba ATPasa de Na^+/K^+ , los transportadores de glutamato dependiente de Na^{2+} denominados transportador de glutamato/aspartato (GLAST) y transportador de glutamato-1 (GLT-1), los transportadores de ácido g-aminobutírico (GAT), los transportadores de glicina (GlyT)⁴⁰, entre otros transportadores de solutos⁴¹. De esta manera, los astrocitos y las CSP, mantienen la homeostasis del ambiente iónico perinodal.

Diferentes neurotransmisores pueden también tener como blanco a los astrocitos y a las CSP ya que en su membrana plasmática expresan receptores a glutamato ionotrópicos AMPA/kainato y receptores metabotrópicos (mGluR), receptores gabaérgicos, purinérgicos, serotoninérgicos y colinérgicos¹⁴. Además los astrocitos expresan receptores funcionales para neuropéptidos como la sustancia P (SP) y el neuropéptido Y⁴². Estos neurotransmisores permiten a los astrocitos y a las CSP detectar y monitorear la actividad sináptica. Esto se debe a que tanto los receptores metabotrópicos como ionotrópicos presentes en los astrocitos y las CSP dan como resultado la activación y amplificación de cascadas de segundos mensajeros. De esta manera, una pequeña cantidad de neurotransmisor es requerida para dar como resultado una óptima activación de astrocitos y de las SCP, basada en variaciones de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ^{43,44}.

Interacción de los astrocitos con neuronas. Gliotransmisión, ¿la sinapsis tripartita?

La respuesta de los astrocitos al ser activados por señales neuronales o producidas por este mismo tipo de células, es la liberación de gliotransmisores (químicos que actúan sobre neuronas, células gliales o vasos sanguíneos adyacentes), dentro de los cuales se encuentran el glutamato, el ATP, la adenosina, la D-serina, prostaglandinas, entre otros⁴³.

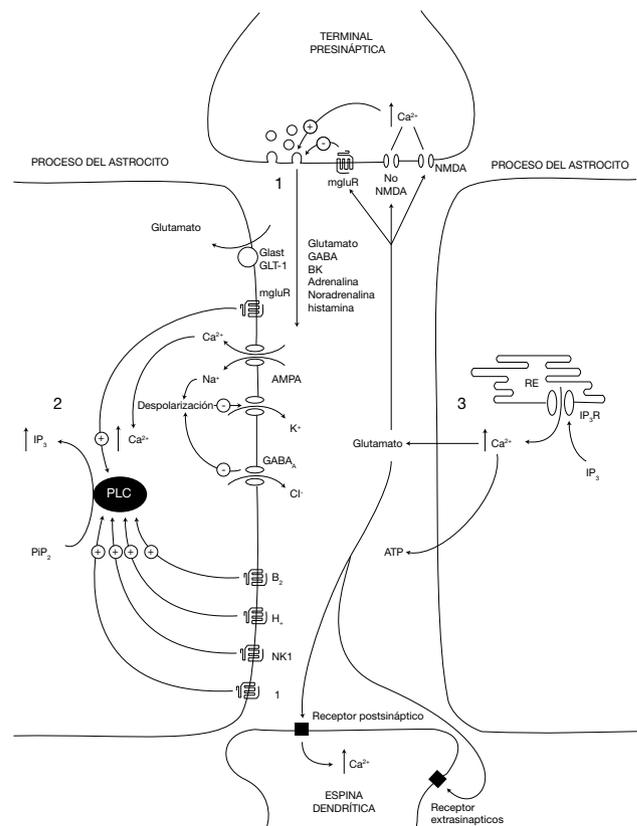
La exocitosis, que es la forma típica de transmisión de neuronas y células neurosecretoras, consiste en la fusión específica de vesículas con la membrana plasmática seguida de una descarga cuantal de su contenido^{45,46}. En la actualidad se debate si éste tipo de proceso es llevado a cabo por los astrocitos. Evidencia reciente, la cual incluye la identificación de componentes de la maquinaria de ensamblaje para llevar a cabo la exocitosis en astrocitos, así como el proceso de liberación dependiente de Ca^{2+} ; el cual es sensible a bloqueadores y estimulantes de la exocitosis que se lleva a cabo en neuronas, pone en claro que los astrocitos pueden liberar gliotransmisores^{36,43}.

Sin embargo, la falta de evidencia de que los astrocitos tienen una población vesicular que fuera competente para una exocitosis regulada, ponía en duda su capacidad para liberar gliotransmisores; pero, en astrocitos del hipocampo de rata adulta se han identificado microvesículas similares a las vesículas sinápticas (SLMV), las cuales están equipadas para tomar, almacenar y liberar glutamato y la fusión de estas vesículas con la membrana plasmática es llevada a cabo de manera dependiente de Ca^{2+} ⁴⁶. Las SLMV de los astrocitos expresan los receptores de SNAPs conocidas por sus siglas en inglés como SNAREs. Los SNAREs que están expuestos en la superficie de la vesícula son definidos como un vSNARE, los astrocitos expresan la proteína 2 de membrana asociada a vesícula (VAMP2) también conocida como sinaptobrevina II, VAMP3 o cellubrevina y VAMP8. Por otra parte, los SNAREs que se localizan en la región citoplasmática de la membrana plasmática, son definidos como SNAREs blanco o tSNARE, de los cuales los astrocitos expresan la proteína de 23KDa asociada a sinaptosoma (SNAP23), SNAP25 y syntaxina 1. La fusión de la SLMV se sugiere es dirigida por otra proteína localizada en la vesícula conocida como sinaptotagmina 1, la cual funciona como un censor de Ca^{2+} . Otras de las proteínas necesarias para la exocitosis y expresadas por los astrocitos son Munc18a, la proteína de enlace a GTP Rab3, entre otras⁴³. En las células eucariotas, todos los procesos de fusión a la membrana requieren de estas proteínas; no obstante en células secretoras no neuronales, la exocitosis no solo depende de los SNAREs y de proteínas reguladoras, sino también de proteínas análogas que desempeñan papeles similares, aunque con diferentes propiedades funcionales⁴⁸.

Por otra parte, los astrocitos expresan los transportadores vesiculares de glutamato (VGluT) responsables de bombear glutamato al interior de las SLMV, hasta el momento se conocen tres isoformas de VGluT(1-3), las tres isoformas se expresan en astrocitos, aunque no en todos los astrocitos, sugiriendo que algunas poblaciones de astrocitos son positivos o negativos a diferentes isoformas de VGluT, dando un patrón de expresión heterogéneo y particular a este tipo de células^{43,46,48}.

De ésta manera, diferentes tipos de neurotransmisores liberados de la terminal presináptica no sólo actúan sobre la terminal postsináptica, sino que también activan receptores de los astrocitos que circundan la hendidura sináptica (fig. 2). La interacción más estudiada es la llevada a cabo por el glutamato, el cual se une a los mGluR, los cuales activan a la fosfolipasa C (PLC) produciendo inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DAG). El IP_3 libera Ca^{2+} del RE al activar a los IP_3Rs , produciendo ondas de Ca^{2+} intracelular⁴⁴. El glutamato también activa receptores AMPA/kainato que ocasionan la despolarización de los astrocitos y por lo consiguiente un incremento en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ⁴⁹ (fig. 2). Otros neurotransmisores como la adrenalina (A) y la noradrenalina (NA), la bradiquinina (BK), la histamina y la SP activan a sus respectivos receptores metabotrópicos $\alpha 1\text{-AR}$, B_2 , H_1 y NK-1 , de las membranas plasmáticas de los astrocitos dando como resultado la estimulación de la PLC y, por consiguiente, incrementos en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ³⁰ (fig. 2).

En los astrocitos, incrementos en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ocasionan la liberación de glutamato, el cual activa receptores NMDA^{50,51} y AMPA/kainato^{52,53} en la neurona presináptica produciendo de esta manera incrementos en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$, los cuales aumentan la liberación del neurotransmisor^{54,55}. La liberación de



1) Liberación de alguno de los neurotransmisores mostrados, a la hendidura sináptica, activa a sus receptores específicos en la membrana plasmática del astrocito. 2) La activación de los distintos receptores produce diferentes respuestas que pueden ser (+ o -). Sin embargo, una de las respuestas de activación de los astrocitos es la que se da a través de los receptores metabotrópicos los cuales producen cascadas de segundos mensajeros donde la producción de IP_3 a partir de la PLC es muy importante. 3) El IP_3 activa a los IP_3Rs en el RE incrementando los niveles de $[\text{Ca}^{2+}]_i$, lo que permite la liberación de glutamato y ATP de los astrocitos (Adaptada de Castonguay et al.⁴⁴).

Figura 2 Diagrama que muestra la dinámica de la sinapsis tripartita, interacción que se lleva a cabo entre las neuronas y los astrocitos

glutamato por parte de los astrocitos también puede activar mGluR en la terminal presináptica disminuyendo la liberación del neurotransmisor⁵³. Los astrocitos también pueden liberar GABA, aspartato y glicina y otras substancias que regulan la excitabilidad neuronal como: la adenosina, el monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), el ácido araquidónico (AA), el óxido nítrico (NO) y endotelinas, de manera similar al glutamato³. Por otra parte, el exceso de glutamato liberado durante la transmisión sináptica es removido de la hendidura sináptica por los astrocitos mediante los transportadores GLAST y GLT-1, sin los cuales se produce una neurodegeneración por exocitosis, convulsiones como las que se observan en la epilepsia y parestesia la cual consiste en una parálisis parcial progresiva del de movimiento voluntario, como la observada en pacientes con esclerosis múltiple^{40,56}.

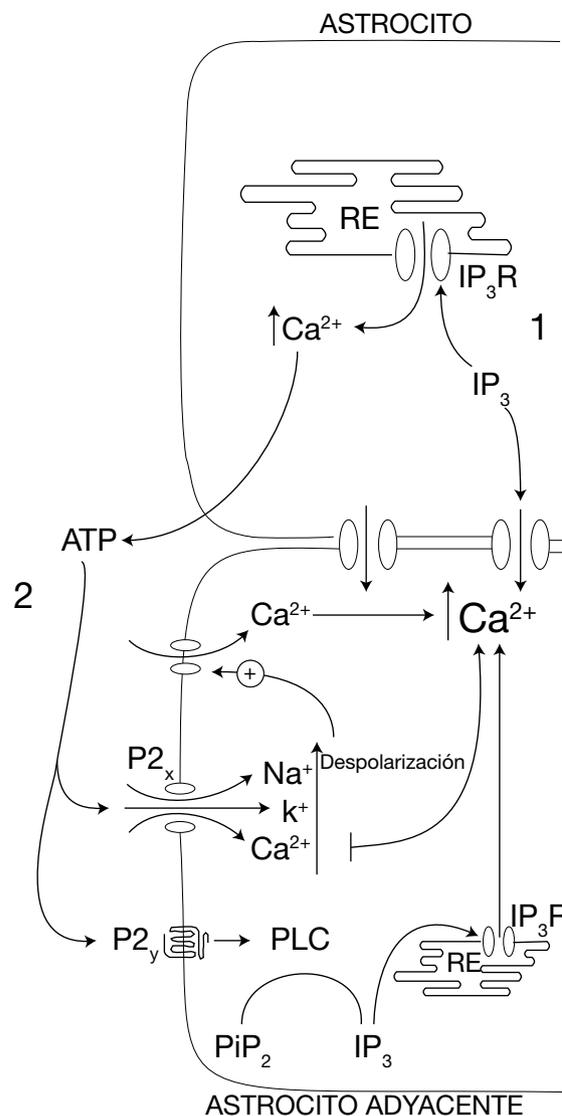
En cultivos de astrocitos corticales estudiados mediante la técnica de patch-clamp, se observa que los astrocitos expresan dos tipos de canales de K^+ rectificadores de salida y la activación de receptores AMPA mediante el kainato da como resultado el bloqueo de corrientes de salida de K^+ , que también se sugiere que son ocasionadas por una constante entrada de Na^+ a través de los receptores AMPA. Este mecanismo puede prevenir la salida de K^+ de los astrocitos al espacio extracelular durante periodos de intensa actividad neuronal⁴⁹. Por otro lado, el glutamato también activa receptores AMPA/kainato, que ocasionan la despolarización de los astrocitos y un incremento de Ca^{2+} citoplasmático⁴². La activación de los receptores $GABA_A$ localizados en los astrocitos⁵⁷, producen la liberación de Cl^- y la despolarización de la célula, seguida de un bloqueo de las corrientes de salida de K^+ ⁵⁸.

El glutamato liberado por los astrocitos mediante gliotransmisión puede activar receptores ionotrópicos de la membrana postsináptica incrementando los niveles intracelulares de Ca^{2+} ⁴⁴. Araque et al.⁵⁰, han descrito aumentos en la frecuencia de las corrientes postsinápticas miniatura las cuales son ocasionadas por la liberación espontánea del neurotransmisor de las terminales presinápticas, tras un incremento en la $[Ca^{2+}]_i$ de los astrocitos.

Interacción entre la red de astrocitos

Experimentos en cultivo de astrocitos muestran que incrementos en la $[Ca^{2+}]_i$ pueden propagarse a astrocitos vecinos, por lo que esta onda de Ca^{2+} puede extenderse a lo largo de cientos de micrómetros a una velocidad de propagación de aproximadamente 20 $\mu m/s$ ²⁴. La comunicación entre astrocitos (fig. 3) es llevada a cabo por uniones comunicantes, por las cuales puede difundir IP_3 o Ca^{2+} el cual a su vez puede activar a los IP_3R s de la célula vecina. Esta hipótesis es apoyada por experimentos donde agentes que bloquean las uniones comunicantes, como el octanol, evitan la aparición de ondas de Ca^{2+} . Por otra parte, líneas celulares gliales que en condiciones normales no forman uniones comunicantes y no generan ondas de Ca^{2+} , sí pueden producirlas cuando se induce la expresión de conexinas (Cx), las proteínas formadoras de las uniones comunicantes⁵⁹, siendo Cx43 la determinada para astrocitos⁶⁰.

Por otra parte, Hassinger et al.³¹, han mostrado en estudios *in vitro* que astrocitos, estimulados eléctricamente y que no están en contacto físico con otros astrocitos (astrocitos vecinos), pueden provocar ondas de Ca^{2+} , sugiriendo que una vía de señalamiento extracelular es requerida para la activación de astrocitos vecinos. Esta señal es llevada a cabo por el trifosfato de adenosina (ATP), ya que se observa una reducción en las ondas de Ca^{2+} por bloqueadores de receptores purinérgicos⁶¹, aunque el mecanismo de liberación es aún desconocido. El ATP liberado puede activar receptores purinérgicos ionotrópicos $P2_x$ de los astrocitos adyacentes e incluso de los astrocitos vecinos, lo que da por resultado la entrada de Na^+ , K^+ y Ca^{2+} los cuales despolarizan a la célula, incrementándose de esta manera la $[Ca^{2+}]_i$ en los astrocitos. El ATP también puede activar receptores metabotrópicos purinérgicos $P2_y$ los cuales estimulan a la PLC generando de esta manera IP_3 , el cual libera Ca^{2+} de los almacenes intracelulares a través de los IP_3R s, propagándose de esta manera la onda de Ca^{2+} ⁴⁴.

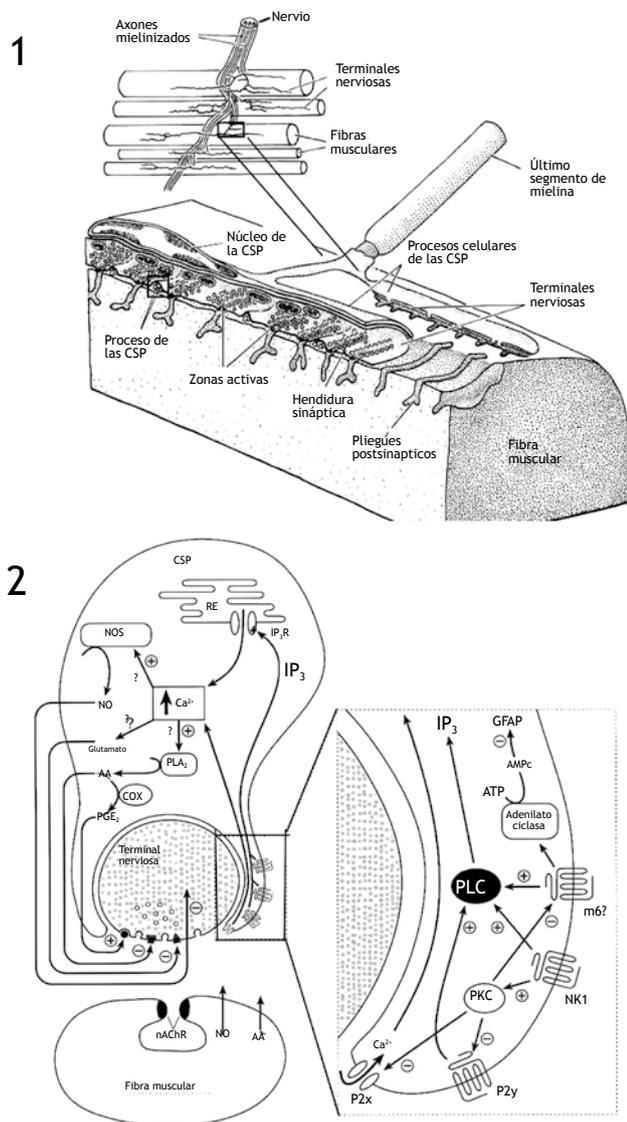


1) La activación de astrocitos adyacentes es llevada a cabo por el IP_3 (y probablemente el Ca^{2+}) el cual puede pasar por los canales formados por las uniones comunicantes. 2) Incrementos en la $[Ca^{2+}]_i$, liberan ATP del astrocito el cual activa canales purinérgicos de astrocitos vecinos (Adaptada de Castonguay et al.⁴⁴).

Figura 3 Propagación de las ondas de calcio entre astrocitos

Interacción de CSP con las neuronas. gliotransmisión, ¿la sinapsis tripartita?

Similar a la de los astrocitos, la activación de las CSP (fig. 4) es el resultado de incrementos en la $[Ca^{2+}]_i$ originados por la liberación de neurotransmisor y por la activación de vías de señalamiento de segundos mensajeros. Las CSP poseen receptores purinérgicos $P2_x$ y $P2_y$ sensibles a ATP⁶², receptores colinérgicos muscarínicos (probablemente el receptor m6) que son activados por la acetilcolina⁶³ y receptores neuro-peptídicos tipo NK-1 sensibles a SP⁶⁴. La activación de los



1) En la imagen superior se esquematizan varias inervaciones de fibras musculares; en la imagen inferior se muestra una reconstrucción en tercera dimensión de un área de contacto sináptico, en la cual se pueden observar distintas especializaciones (Adaptada de Kuffler et al.). 2) Representación de la “comunicación” en los componentes celulares de la placa neuromuscular, mostrándose las diferentes interacciones químicas activadoras o inhibitoras entre las CSP y las fibras terminales, así como con la fibra muscular, para mayor detalle ver el texto (Adaptada de Castonguay et al.⁴⁴).

Figura 4 Diagrama de la interacción entre CSP y axones en la placa neuromuscular

receptores $P2_x$ permiten la entrada de Ca^{2+} extracelular mientras que los receptores $P2_y$, NK-1 y colinérgicos muscarínicos activan a la PLC, produciendo IP_3 el cual activa a los receptores de IP_3R s liberándose Ca^{2+} del RE. De ésta manera la liberación del neurotransmisor de la terminal presináptica da como resultado un incremento en la $[Ca^{2+}]_i$ en las CSP⁴⁴.

Las CSP no sólo monitorean la actividad sináptica, sino que también controlan el potencial postsináptico, regulando la liberación del neurotransmisor de la terminal nerviosa. En una respuesta conocida como depresión sináptica, en la que una estimulación de alta frecuencia (10Hz) de la terminal nerviosa presináptica ocasiona un decremento en la liberación de neurotransmisor, se pensaba que era el resultado del vaciamiento de vesículas sinápticas; sin embargo, Robitaille⁶⁵ demostró que las SCP pueden estar implicadas en este fenómeno. Dado que en la placa neuromuscular de anfibios las CSP expresan receptores asociados a proteínas que unen trifosfato de guanosa (GTP), observaron que estimulando la actividad de GTPasa, mediante GTPγS (trifosfato de guanosa gama S, un análogo no hidrolizable de GTP), se reduce la intensidad de la transmisión sináptica debido a un decremento en la liberación del neurotransmisor de la terminal presináptica. Por otra parte, bloqueando la actividad de GTP mediante difosfato de guanidina beta S (GDPβS, un análogo no hidrolizable de GTP) en las SCP se evita el decremento en la intensidad de la transmisión sináptica. Por otro lado, Descarries y colaboradores (1998) sugieren que el incremento en la $[Ca^{2+}]_i$ puede estar mediado por receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G, los cuales activan a la sintetasa de óxido nítrico (NOS) encontrada en las CSP, de manera que el NO puede disminuir la liberación del neurotransmisor. De igual forma, incrementos en la $[Ca^{2+}]_i$ en las CSP pueden liberar glutamato y de esta manera disminuir la liberación de neurotransmisor. Otro posible señalamiento del Ca^{2+} intracelular en las CSP es posiblemente a través de la fosfolipasa A2 (PLA2), la cual produce AA, que mediante ciclooxigenasas (COX), transforma al AA en prostaglandina E_2 (PGE_2). El AA disminuye la liberación de neurotransmisor de la terminal presináptica, mientras que las PGE_2 la incrementa (fig. 4)⁴⁴.

En las CSP, los receptores NK-1 sensibles a SP, modulan a la baja la actividad de los receptores purinérgicos y colinérgicos muscarínicos de la misma célula, los cuales a su vez reducen el incremento en la $[Ca^{2+}]_i$, la manera en que esta regulación es llevada a cabo se desconoce, sin embargo, se sugiere que este proceso es mediado por la proteína cinasa C (PKC), ya que mediante bloqueadores específicos para esta encima se evita la regulación a la baja producida por la SP, de esta manera la SP tiene distintos efectos sobre estos receptores; sugiriendo diferentes mecanismos de activación de los receptores así como de modulación de la actividad sináptica⁶⁴. Por otra parte, la proteína ácida glial fibrilar (GFAP), que es un filamento intermedio que constituyen el citoesqueleto de las CSP, incrementa su expresión cuando se suprime la actividad sináptica tras una lesión de las fibras nerviosas o cuando se bloquea la liberación del neurotransmisor. En experimentos llevados a cabo por Georgiou et al.²², se muestra que los receptores colinérgicos muscarínicos en las CSP pueden prevenir la sobreexpresión de GFAP, ya que tales receptores pueden activar a la adenilato ciclasa (AC), lo que produce un incremento de AMPc que da como resultado una reducción en la expresión de GFAP. De esta manera cambios estructurales en las CSP, pueden tener una relación directa en el mantenimiento y modulación de la actividad sináptica en la placa neuromuscular⁴⁴.

Conclusiones

El presente trabajo de revisión propone un esquema global en el cual las células gliales lejos de ser las células de soporte de las neuronas, son compañeras interactivas de la actividad neuronal, regulando múltiples procesos que permiten una mayor plasticidad del sistema nervioso, convirtiéndose así en una compleja red de cooperación e interacciones celulares^{25,26}.

Tal es el caso de la interacción de los astrocitos y las CSP con las neuronas, donde la conceptualización actual de la transmisión sináptica que únicamente implica a la neurona presináptica y a la neurona postsináptica, tiene que ser vista no sólo entre neuronas, sino como un complejo proceso de interacción donde las células gliales tienen una gran participación, es decir, debe verse como una transmisión sináptica tripartita, ya que las células gliales tienen implicaciones directas sobre el correcto funcionamiento, modulación y regulación en la transmisión sináptica. Puesto que existe una estrecha comunicación entre la terminal presináptica la cual además de estimular a la terminal postsináptica, también estimula a los astrocitos o a las CSP del vecindario, de esta forma las células gliales responden al estímulo estableciendo una comunicación hacia las neuronas o células musculares mediante la liberación de gliotransmisores, tanto de la terminal neuronal presináptica como de la terminal neuronal o muscular postsináptica, modulando y regulando la transmisión sináptica.

Esto nos lleva a reconsiderar la participación de las células gliales en diferentes desórdenes neurológicos, en donde el sistema nervioso sale del contexto normal y comienza a tener un funcionamiento incorrecto, es decir, patológico y es en esta condición de patología en la cual las células gliales pueden desempeñar uno de los papeles principales para el progreso de tales desórdenes. Por otra parte, es innegable que las células gliales deben ser consideradas como uno de los principales blancos para el desarrollo de nuevos fármacos así como métodos de diagnóstico y tratamiento clínico.

Por último, es posible especular que la glía esté involucrada en desórdenes neurológicos psiquiátricos, como son la epilepsia, la esquizofrenia, la ansiedad, la depresión, desorden bipolar, entre otros, debido a su amplia interacción con las neuronas, ya que la glía regula las concentraciones de iones y neurotransmisores en la hendidura sináptica además de poder inducir potenciación o depresión sináptica. Es por esto que el estudio de las células gliales debe ser llevado a terrenos de investigación mucho más amplios, poniendo a la glía en un contexto no únicamente como células de soporte, al final de cuentas el cerebro está conformado de un 80-90% de células gliales, y ya que son participantes activos del funcionamiento cerebral; si algo está mal con estas células, es muy probable que se produzcan desregulaciones y desórdenes neuronales.

Financiamiento

No se recibió financiamiento para llevar a cabo éste artículo.

Conflicto de intereses

El autor declara no tener conflicto de interés.

Bibliografía

1. Brodal P. The central nervous system structure and function". Oxford University Press. 1992. New York. USA. 5-50.
2. Kuffler S, Nicholls JG y Martin AR. From neuron to brain. Sinauer Associates Inc. Sunderland. 1984. MA. USA. 120-145.
3. Rouach N, Giaume C. Connexins and gap junctional communication in astrocytes are targets for neuroglial interaction. *Prog Brain Res.* 2001;132:203-214.
4. Rao MS, Noble M, Mayer-Pröschel M. A tripotential glial precursor cell is present in the developing spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:3996-4001.
5. Mathey E, Armati PJ. Introduction to the Schwann cell. The biology of Schwann Cells. Cambridge University Press. New York. USA. 2007:1-12.
6. Pfrieger FW. Role of glia in synapse development. *Curr Opin Neurobiol.* 2002;12:486-490.
7. Ullian EM, Christopherson KS. Role for glia in synaptogenesis. *Glia* 2004;47:209-216.
8. Stevens B, Fields RD. Response of Schwann cells to action potentials in development. *Science* 2000;287:2267-2271.
9. Fields RD, Stevens B. New insights into neuron-glia communication. *Science* 2002;298:556-562.
10. Auld DS, Robitaille R. Glial cells and neurotransmission: an inclusive view of synaptic function. *Neuron* 2003;40:389-400.
11. Bullock TH, Bennett MV, Johnston D, Josephson R, Marder E, Fields RD. The doctrine, redox. *Science* 2005;310:791-793.
12. Miller G. The dark side of glia. *Science* 2005;308:778-781.
13. Poliak S, Peles E. The local differentiation of myelinated axons at nodes of Ranvier". *Nature Rev Neurosci.* 2003;4:968-980.
14. Volterra A, Meldolesi J. Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. *Nature Rev Neurosci.* 2005;6:626-640.
15. Butt AM, Kiff J, Hubbard P, Berry M. Synantocytes: new functions for novel NG2 expressing glia. *J. Neurocytol.* 2002;31:551-565.
16. Berthold CH, Rydmark M. Morphology of normal peripheral axons. The axon: structure, function and pathophysiology. Editado por Waxman S.G, Kocsis J.D, Stys P.K. Oxford University Press. New York. USA. 1995:455-478.
17. Jessen KR, Mirsky R. Schwann cells and their precursors emerge as major regulators of nerve development. *Trends Neurosci.* 1999;22:402-410.
18. Nave KA, Schwab KA. Glial cells under remote control. *Nat Neurosci.* 2005;8:1420-1422.
19. Taveggia C, Zanazzi G, Petrylak A, Yano H, Rosenbluth J, Einheber S, Xu X, Esper RM, Loeb JA, Shrager P, Chao MV, Falls DL, Role L y Salzer JL. Neuregulin-1 type III determines the ensheathment fate of axons". *Neuron* 2005;47:681-694.
20. Chen S, Rio C, Ji RR, Dikkes P, Coggeshall RE, Woolf CJ, Corfas G. Disruption of ErbB receptor signaling in adult non-myelinating Schwann cells causes progressive sensory loss. *Nat Neurosci.* 2003;6:1186-1193.
21. Jahromi BS, Robitaille R, Charlton MP. Transmitter release increases intracellular calcium in perisynaptic Schwann cells in situ. *Neuron* 1992;8:1069-1077.
22. Georgiou J, Robitaille R, Charlton MP. Muscarinic control of cytoskeleton in perisynaptic glia. *J. Neurosci.* 1999;19:3836-3846.
23. Kaur C, Hao AJ, Wu CH, Ling EA. Origin of microglia. *Microsc. Res. Tech.* 2001;54:2-9.
24. Perea G, Araque A. Nuevas vías de información en el sistema nervioso: comunicación entre astrocitos y neuronas. *Rev. Neurol.* 2003;36:137-144.
25. Haydon PG. Neuroglial networks: neurons and glia talk to each other. *Curr. Biol.* 2000;10:R712-714.
26. Haydon PG. Glia: Listening and talking to the synapse". *Nature Rev Neurosci.* 2001;2:185-193.

27. Cornell-Bell AH, Finkbeiner SM, Cooper MS, Smith SJ. Glutamate induces calcium waves in cultured astrocytes: long-range glial signaling. *Science* 1990;247:470-473.
28. Charles AC, Merrill JE, Dirksen ER, Sanderson MJ. Intercellular signaling in glial cells: calcium waves and oscillations in response to mechanical stimulation and glutamate. *Neuron* 1991;6:983-992.
29. Finkbeiner SM. Glial calcium. *Glia* 1993;9:83-104.
30. Verkhratsky A, Orkand RK, Kettenmann H. Glial calcium: homeostasis and signaling function. *Physiol. Rev.* 1998;78:99-141.
31. Hassinger TD, Guthrie PB, Atkinson PB, Bennett MV, Kater SB. An extracellular signaling component in propagation of astrocytic calcium waves. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1996;93:13268-13273.
32. Priegeer FW, Barres BA. Synaptic efficacy enhanced by glial cells in vitro. *Science* 1997;277:1684-1287.
33. Vernadakis A. Glia-neuron intercommunications and synaptic plasticity. *Prog. Neurobiol.* 1996;49:185-214.
34. Coles JA, Deitmer JW. Extracellular potassium and pH: homeostasis and signaling". *Neuroglia*. 2a edición. Editado por Helmut Kettenmann y Bruce R Ranson. Oxford University Press. New York. USA. 205:334-345.
35. Deitmer JW, Rose CR. pH regulation and proton signalling by glial cells. *Prog. Neurobiol.* 1996;48:73-103.
36. Evanko DS, Zhang Q, Zorec R, Hydon P. Defining pathways of loss and secretion of chemical messengers from astrocytes. *Glia* 2004;47:233-240.
37. Robitaille R, Bourque MJ, Vandaele S. Localization of L-type Ca²⁺ channels at perisynaptic glial cells of the frog neuromuscular junction. *J. Neurosci.* 1996;16:148-158.
38. Bevan S, Chiu SY, Gray PT, Ritchie JM. Presence of voltage-gated sodium, potassium and chloride channels in rat cultured astrocytes. *Proc R. Soc. Lond. B Biol Sci.* 1985;225:299-313.
39. Ros CR, Ransom BR, Waxman SG. Pharmacological characterization of Na⁺ influx via voltage-gated Na⁺ channels in spinal cord astrocytes". *J. Neurophysiol.* 1997;78:3249-3258.
40. Swanson RA. Astrocyte neurotransmitter uptake. *Neuroglia*. 2a edición. Editado por Helmut Kettenmann y Bruce R Ranson. Oxford University Press. New York. USA. 2005:346-354.
41. Brookes N. Mechanisms of solute transport in glia". *Neuroglia*. 2a edición. Editado por Helmut Kettenmann y Bruce R Ranson. Oxford University Press. New York. USA. 2005:163-176.
42. Castonguay A, Robitaille R. Differential regulation of transmitter release by presynaptic and glial Ca²⁺ internal stores at the neuromuscular synapse". *J. Neurosci.* 2001;21:1911-1922.
43. Volterra A, Meldolesi J. Quantal release of transmitter not only form neurons but from astrocytes as well. *Neuroglia*. 2a edición. Editado por Helmut Kettenmann y Bruce R Ranson. 2005:190-201. Oxford University Press. New York. USA.
44. Castonguay A, Levesque S, Robitaille R. Glial cells as active partners in synaptic functions. *Prog. Brain Res.* 2001;132:227-240.
45. Araque A, Li N, Doyle RT, Haydon PG. SNARE protein-dependent glutamate release from astrocytes. *J. Neurosci.* 2000;20:666-673.
46. Bezzi P, Gunderson V, Galbete JL, Seifert G, Steinhäusen C, Pilati E, Volterra A. Astrocytes contain a vesicular compartment that is competent for regulated exocytosis of glutamate. *Nature Neurosci.* 2004;7:613-620.
47. Jahn R, Lang Y, Südhof TC. Membrane fusion. *Cell.* 2003;112:519-533.
48. Fremeau RT Jr, Burman J, Qureshi T, Tran CH, Proctor J, Johnson J, Zhang H, Salzer D, Copenhagen DR, Storm-Mathisen J, Reimer RJ, Chaudhry FA, Edwards R. The identification of vesicular glutamate transporter 3 suggests novel modes of signaling by glutamate. *PNAS.* 2002;99:14488-14493.
49. Robert A, Magistretti PJ. AMPA/kainate receptor activation blocks K⁺ currents via internal Na⁺ increase in mouse cultured stellate astrocytes. *Glia.* 1997;20:38-50.
50. Araque A, Sanzgiri RP, Púrpura V, Haydon PG. Calcium elevation in astrocytes causes an NMDA receptor-dependent increase in the frequency of miniature synaptic currents in cultured hippocampal neurons. *J. Neurosci.* 1998;18:6822-6829.
51. Párpura V, Haydon PG. Physiological astrocytic calcium levels stimulate glutamate release to modulate adjacent neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* 2000;97:8196-8197.
52. Hassinger TD, Atkinson PB, Strecker GJ, Whalen LR, Dudek FE, Kosse AH, Kater SB. Evidence for glutamate-mediated activation of hippocampal neurons by glial calcium waves. *J. Neurobiol.* 1995;28:159-170.
53. Araque A, Párpura V, Sanzgiri RP, Haydon PG. Glutamate-dependent astrocyte modulation of synaptic transmission between cultured hippocampal neurons. *Eur. J. Neurosci.* 1998;10:2129-2142.
54. Nedergaard M. Direct signaling from astrocytes to neurons in cultures of mammalian brain cells. *Science.* 1994;263:1768-1771.
55. Párpura V, Basarsky TA, Liu F, Jęftiniija K, Jęftiniija S, Haydon PG. Glutamate-mediated astrocyte-neuron signaling. *Nature* 1994;369:707-708.
56. Rothstein JD, Dykes-Hoberg M, Pardo CA, Bristol LA, Jin L, Kuncl RW, Kanai Y, Hediger MA, Wang Y, Schielke JP, Welty DF. Knockout of glutamate transporters reveals a major role for astroglial transport in excitotoxicity and clearance of glutamate. *Neuron.* 1996;16:675-686.
57. Fraser DD, Duffy S, Angelides KJ, Perez-Velazquez JL, Kettenmann H, MacVicar BA. GABAA/benzodiazepine receptors in acutely isolated hippocampal astrocytes. *J. Neurosci.* 1995;15:2720-2732.
58. Bekar LK, Walz W. Evidence for chloride ions as intracellular messenger substances in astrocytes. *J. Neurophysiol.* 1999;82:248-254.
59. Giaume C, Venance L. Intercellular calcium signaling and gap junctional communication in astrocytes. *Glia* 1998;24:50-64.
60. Rash JE, Staines WA, Yasumura T, Patel D, Furman CS, Stelmack GL, Nagy JI. Immunogold evidence that neuronal gap junctions in adult rat brain and spinal cord contain connexin-36 but not connexin-32 or connexin-43. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2000;97:7573-7578.
61. Guthrie PB, Knappenberger J, Segal M, Bennett MV, Charles AC, Kater SB. ATP released from astrocytes mediates glial calcium waves. *J. Neurosci.* 1999;19:520-528.
62. Robitaille R. Purinergic receptors and their activation by endogenous purines at perisynaptic glial cells of the frog neuromuscular junction. *J. Neurosci.* 1995;15:7121-7131.
63. Robitaille R, Jahromi BS, Charlton MP. Muscarinic Ca²⁺ responses resistant to muscarinic antagonists at perisynaptic Schwann cells of the frog neuromuscular junction. *J. Physiol.* 1997;504(Pt 2):337-347.
64. Bourque MJ, Robitaille R. Endogenous peptidergic modulation of perisynaptic Schwann cells at the frog neuromuscular junction. *J. Physiol.* 1998;512(Pt 1):197-209.
65. Robitaille R. Modulation of synaptic efficacy and synaptic depression by glial cells at the frog neuromuscular junction. *Neuron* 1998;21:847-855.
66. Rochon D, Rousse I, Robitaille R. Synapse-glia interactions at the mammalian neuromuscular junction. *J. Neurosci.* 2001;21:3819-3829.
67. Butt AM, Hamilton N, Hubbard P, Pugh M, Ibrahim M. Synantocytes: the fifth element. *Journal of Anatomy* 2005;207:695-706.
68. Liu S, Qu Y, Stewart TJ, Howard MJ, Chakraborty S, Holekamp TF, McDonald JW. Embryonic stem cells differentiate into oligodendrocytes and myelinate in culture and after spinal cord transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:6126-6131.
69. Lara-Ramírez R, Segura-Anaya E, Martínez-Gómez A, Dent MA. Expression of interleukin-6 receptor alpha in normal and injured rat sciatic nerve. *Neuroscience* 2008;152:601-608.
70. Salzer JL. Switching myelination on and off. *J Cell Biol.* 2008;181:575-577.
71. Jessen KR, Mirsky R. Schwann cell precursors and their development". *Glia* 1991;4:185-194.