

# FUNCIONES DE LOS ASTROCITOS EN LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS: ENFERMEDAD DE ALEXANDER



María Magdalena Nae  
6º Curso Medicina  
Trabajo Fin de Grado tutelado por  
Lola Ganfornina Álvarez  
(Área de Fisiología)

# FUNCIONES DE LOS ASTROCITOS EN LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS: ENFERMEDAD DE ALEXANDER

---

## **RESUMEN**

Los astrocitos han sido considerados como células de sostén en el Sistema Nervioso central (SNC). Sin embargo, hoy día se sabe que participan de forma activa en muchas de las funciones del SNC y que pueden tener un papel destacado en las enfermedades neurodegenerativas. Existen numerosas evidencias de que las alteraciones de la función astrocitaria pueden contribuir al desarrollo, e incluso provocar patologías en el SNC, especialmente patologías neurodegenerativas. Por un lado, la pérdida de funciones de los astrocitos podría tener efectos negativos; por otro, el exceso de reactividad astrocitaria podría causar, de modo análogo a la inflamación, efectos perjudiciales en el SNC.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizó una revisión sistemática de documentos de sociedades científicas dedicadas al estudio de los astrocitos y sus enfermedades, así como de revisiones sistemáticas y estudios científicos.

Se llevó a cabo una búsqueda en la base de datos PubMed, en la biblioteca Cochrane Plus, incluyendo artículos científicos a partir del año 2010 y se consultaron varios libros científicos.

## **INTRODUCCIÓN**

Las células de la glía constituyen la mayor parte de las células del sistema nervioso. La glía (del griego glía, que significa «unión», «pegamento») se conserva a lo largo de la evolución y su proporción en volumen en el sistema nervioso parece estar correlacionada con el tamaño del animal (1). Por ejemplo, es del 25% en la mosca de la fruta, del 65% en el ratón, del 90% en el ser humano y de hasta el 97% en el elefante.

Las células gliales se clasifican, según su morfología, función y localización (2), en:

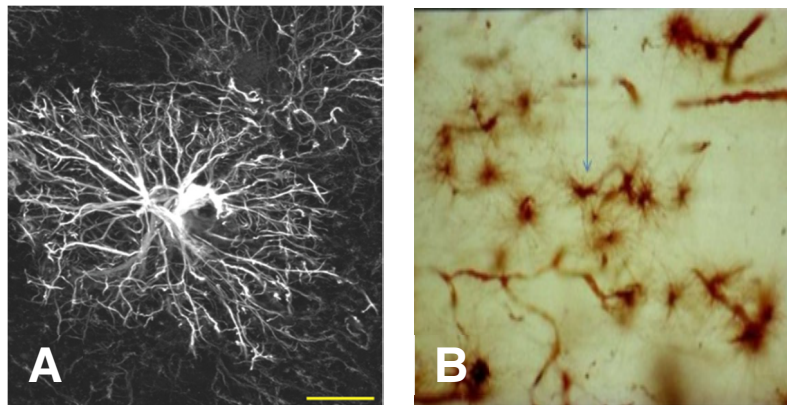
- 1) Microglía: las únicas células gliales de origen inmunitario, que llegan al cerebro a través de la sangre durante el desarrollo temprano.
- 2) Astrocitos.
- 3) Células de Schwann y oligodendrocitos, que forman capas de mielina alrededor de los axones en el sistema nervioso periférico y central, respectivamente. Algunos autores describen un tipo especial de células gliales, la glía-NG2, que recibe input sináptico directamente de las neuronas.



Los astrocitos son las células gliales más abundantes (constituyen el 25% del volumen cerebral). Mientras que la función de la microglia y la de los oligodendrocitos es ampliamente conocida (defensa local y mielinización, respectivamente), la de los astrocitos es más enigmática. Aunque desde su descripción por Ramón y Cajal (3) y más tarde por Río Hortega (4) se habían considerado tradicionalmente como simples células de soporte, en los últimos años se ha reconsiderado su función. A medida que se avanzó en su conocimiento se estableció que eran elementos necesarios para mantener el microambiente que permite el correcto funcionamiento de las neuronas (5), y en los últimos 20 años se las ha atribuido una gran variedad de funciones específicas.

### MORFOLOGIA Y ORGANIZACIÓN DE LOS ASTROCITOS

En función de su morfología, fenotipo antigénico y localización, se clasifican en 2 grandes grupos (Fig. 1): protoplásmicos y fibrosos (5). Los astrocitos protoplásmicos (Fig. 1A) se encuentran en la sustancia gris y sus procesos envuelven tanto sinapsis (alrededor de 100.000 cada astrocito) como vasos sanguíneos. Presentan una morfología globosa, con varias ramas principales que dan lugar a procesos muy ramificados con distribución uniforme.



**Figura 1. Morfología de astrocitos humanos.** (A) Astrocito protoplásmico. (B) Astrocito fibroso. Tomado de Oberheim et al (6).

Los astrocitos fibrosos (Fig. 1B) se localizan en la sustancia blanca y contactan con los nodos de Ranvier y con los vasos sanguíneos. Su ramificación es menor y sus procesos más alargados, a modo de fibras. Aunque esta clasificación es ampliamente utilizada, los astrocitos son una población muy heterogénea donde se distinguen muchos subtipos (6). Es más, los astrocitos se diferencian incluso dentro de una misma región cerebral. Esto no es sorprendente si se tiene en cuenta que deben llevar a cabo sus funciones en regiones

específicas del sistema nervioso. Existen, por ejemplo, astrocitos especializados, como la glía de Muller en la retina, o glía de Bergmann en el cerebelo (7). Las células de estirpe astrocitaria de la zona subventricular (SVZ) constituyen un subtipo de astrocitos con capacidad proliferativa en los adultos.

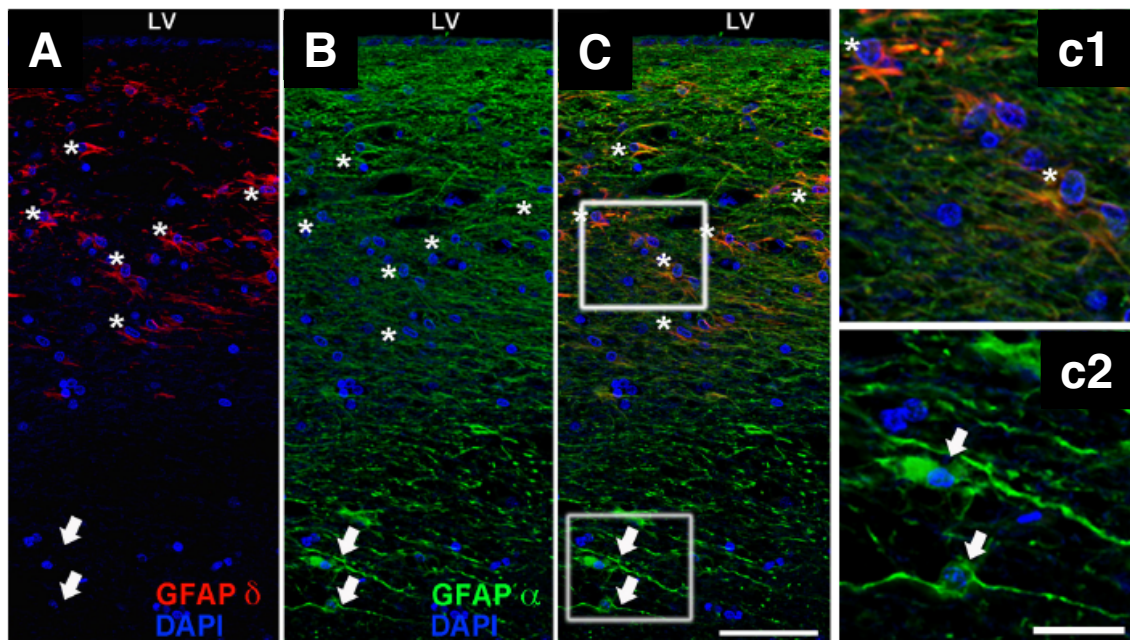
La disposición de los astrocitos en el sistema nervioso es ordenada y sin apenas solapamiento desde su origen en el periodo posnatal; se organiza simultáneamente a los territorios vasculares y neuronales (8). En la sustancia gris, solo los extremos distales de los astrocitos protoplásmicos se entrelazan, proporcionando el sustrato para la formación de uniones gap (9). Una disposición similar podría existir en los astrocitos fibrosos de la sustancia blanca, aunque esto aún no ha sido demostrado

### Caracterización molecular: Proteína ácida fibrilar glial

Las propiedades estructurales del citoesqueleto de astrocitos son mantenidas gracias a la red de filamentos intermedios (IF) de la cual el componente fundamental es la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) (10). Además de las propiedades estructurales, se ha propuesto que la red de filamentos intermedios tiene otra función asociada a la transducción de señales biomecánicas y moleculares. La expresión de GFAP se induce ante el daño cerebral y la degeneración del SNC también y también aumenta con la edad. Es el marcador clásico para la identificación inmunohistoquímica de astrocitos. Se aisló por primera vez en placas de pacientes con esclerosis múltiple, constituidas por axones desmielinizados y astrocitos fibrosos (11).

La GFAP tiene 8 isoformas, que se forman por *splicing* alternativo del mRNA, cada una de las cuales se expresa en subgrupos específicos de astrocitos y confiere propiedades estructurales diferentes a la red de filamentos intermedios (10). La isoforma más abundante, GFAP $\alpha$ , fue la primera en ser identificada. Más tarde se describieron las isoformas  $\beta$  (la única que no se ha identificado en seres humanos, solo en rata),  $\mu$ ,  $\Delta/k$ ,  $\Delta 135$ ,  $\Delta 164$  y  $\Delta$  exón 6 (12). En la Figura 2 se muestra el patrón de expresión de algunas de estas isoformas. De las isoformas humanas, probablemente la más interesante es la GFAP  $\Delta$  (5). Una subpoblación específica de astrocitos situada en la SVZ y en la zona subpial de los ventrículos expresa GFAP  $\Delta$ . La localización de estos astrocitos sugiere que se trata de células madre neurales (NSC, del inglés *neural stem cells*) en el cerebro humano adulto. Durante el desarrollo embrionario temprano, en las semanas 13-15 de gestación, GFAP  $\Delta$  se expresa en la glía radial de la zona ventricular, paralelamente a GFAP $\alpha$ . A partir de la semana 17, GFAP  $\Delta$  se expresa también en la SVZ, lo que continúa hasta el nacimiento. La

GFAP  $\Delta$  se expresa también en seres humanos en el zona subgranular del giro dentado además de en zonas de la médula espinal ricas en astrocitos, incluido el canal endimario. Además, se ha visto expresión de GFAP  $\Delta$  en diferentes tipos de gliosis, situaciones, en este caso patológicas, en las que hay proliferación astrocitaria. Curiosamente, GFAP  $\Delta$  y vimentina coexisten en tejido normal y en situaciones de gliosis, pero no en gliomas.



**Figura 2. Isoformas  $\alpha$  y  $\delta$  de la GFAP.** (A) La isoforma  $\delta$  sólo se expresa en nichos neurogenicos como puede ser SVZ (B) La isoforma  $\alpha$  se expresa en todos los astrocitos, es el marcador clásico. (C) colocalización de GFAP $\alpha$  y  $\delta$ . (c1) GFAP $\alpha$  y  $\delta$  (c2) solo expresión de GFAP $\alpha$ . Tomado de Guillamón -Vivancos et al. (5).

Aunque la detección inmunohistoquímica es el método clásico utilizado para la identificación de astrocitos, el uso de GFAP como marcador también tiene algunas limitaciones (13).

1) La GFAP es expresada por la mayoría de los astrocitos reactivos, que responden a lesiones en el SNC, pero no siempre es inmunohistoquímicamente detectable en astrocitos de tejido sano o lejano al lugar de la lesión. Además, la expresión de GFAP es variable y está regulada por un gran número de moléculas de señalización intra e intercelular.

2) La GFAP no está presente en todo el citoplasma, solo en las ramificaciones principales; por tanto, la estimación del tamaño y del grado de ramificación de los astrocitos mediante inmunohistoquímica de GFAP es limitada.

3) Finalmente, la expresión de GFAP no es exclusiva de astrocitos protoplásmicos y fibrosos; dentro del SNC, la GFAP es también expresada por glía de Müller en retina, glía de

Bergmann en el cerebelo, tanicitos en la base del tercer ventrículo o pituicitos en la neurohipófisis, entre otros, así como por las NSC en cerebro embrionario y adulto. Fuera del SNC, expresan GFAP las células de Schwann no mielinizantes de sistema nervioso periférico y una población de glía entérica que se extiende por los plexos neurales de sistema nervioso entérico. La glía entérica rodea los cuerpos celulares y axones del sistema nervioso entérico y contacta con vasos sanguíneos y células epiteliales. Además, algunos estudios parecen indicar que llevan a cabo funciones equivalentes a las de los astrocitos en el SNC. También expresan GFAP las células estrelladas mesenquimales de muchos órganos, como hígado, riñón, páncreas, pulmón y testículos.

Debido a estas limitaciones, para la identificación de astrocitos han sido utilizados otros marcadores, como la glutamina sintetasa o la S100  $\beta$ . En este sentido, el análisis del transcriptoma ha permitido la identificación de marcadores moleculares característicos de astrocitos (14).

Algunos de estos son el gen *Aldh1L1*, que tiene un patrón de expresión en astrocitos más amplio que la GFAP, o las vías fagocíticas *Draper/Megf10* y *Merk/integrin $\alpha$ (v) $\beta$ 5*, que sugieren que los astrocitos son verdaderos fagocitos. La vía *Draper/Megf10* se ha identificado previamente en astrocitos de *Drosophila*, donde media el remodelado (o poda) de axones durante la metamorfosis, y en células de Schwann, que median la eliminación de terminales sinápticos no funcionales en la unión neuromuscular durante el desarrollo. Estos hallazgos sugieren que los astrocitos pueden mediar la eliminación de sinapsis durante el desarrollo en mamíferos, contribuyendo así a la optimización de los circuitos (8).

Otros genes específicos del transcriptoma de los Astrocitos son *ApoE*, *ApoJ*, *MFGE8* y *cistatina*. Aunque la función de estos aun no es bien conocida, parece que los 3 primeros participan en la secreción de partículas lipoproteicas por los astrocitos y que actúan probablemente como opsoninas que facilitan la fagocitosis (13).

## **FISIOLOGIA DE LOS ASTROCITOS**

Aunque no generan potenciales de acción, los astrocitos son células excitables con propiedades de comunicación: se activan por señales internas o externas, y envían mensajes específicos a las células vecinas en lo que se conoce como proceso de «gliotransmisión». Los astrocitos presentan aumentos transitorios de la concentración de calcio intracelular [ $\text{Ca}^{2+}$ ]<sub>i</sub>. Estas oleadas de calcio son las responsables de la comunicación astrocito-astrocito y astrocito-neurona, y ocurren 1) como oscilaciones intrínsecas resultantes de la liberación de calcio de almacenes intracelulares (excitación espontánea), o





2) inducidas por neurotransmisores liberados por las neuronas. En este último caso, las neuronas liberan sustancias como ATP o glutamato, que activan receptores acoplados a proteínas G en los Astrocitos que rodean la sinapsis, esto conduce a un aumento de IP3 y este, a su vez, media la liberación de calcio desde el retículo endoplasmático. Aunque hay autores que demuestran la propagación de « ondas de calcio » en dominios de astrocitos conectados por uniones gap (1), otros autores (15) encontraron que estas oleadas de calcio no se propagan *in vivo* a otros astrocitos, lo que sugiere que los astrocitos responden como células individuales y con patrones únicos de respuesta, de forma análoga a como lo hacen las neuronas.

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

## **FUNCIONES DE LOS ASTROCITOS**

### **1. Desarrollo del sistema nervioso y plasticidad sináptica (formación y eliminación de sinapsis).**

Los astrocitos desempeñan un papel fundamental en el desarrollo del sistema nervioso. Los axones en crecimiento son guiados hacia sus dianas mediante moléculas guía derivadas de astrocitos, como la tenascina C y los proteoglicanos. También, como se comentó anteriormente, se ha sugerido el papel de los astrocitos en el remodelado sináptico. Los astrocitos también participan activamente en la sinaptogénesis, no solo durante el desarrollo sino también tras lesión del SNC. En un estudio con células ganglionares de retina, Pfrieger y Barres(15) observaron que, en ausencia de glía, estas neuronas presentaban poca actividad sináptica, mientras que con astrocitos la actividad sináptica era 100 veces mayor. Curiosamente, en cocultivo con otros tipos celulares, como oligodendrocitos, la actividad sináptica de las células ganglionares de retina no aumentaba. Este incremento de actividad sináptica mediado por astrocitos se debe precisamente al aumento del número de sinapsis, que es 7 veces mayor en células ganglionares de retina cultivadas con astrocitos que en ausencia de astrocitos. Este aumento del número de sinapsis es mediado por unas proteínas asociadas a la matriz, llamadas trombospondinas. Las trombospondinas son una familia de 5 proteínas homólogas, al menos 4 de las cuales son expresadas por los astrocitos durante el desarrollo y tras daño cerebral, que inducen sinaptogénesis. Las trombospondinas son



capaces de inducir la formación de sinapsis ultraestructuralmente normales, tanto a nivel presináptico (promoviendo el agrupamiento de sinapsinas) como postsináptico (PSD-95). Sin embargo, estas sinapsis son silentes y necesitan que los astrocitos secreten otra proteína, todavía no identificada, que induce lo requerido para que pueda haber respuesta postsináptica al glutamato (receptores AMPA). Además, el colesterol formando complejos con lipoproteínas con ApoE también aumenta la función presináptica, según Mauch et al (16). La secreción de trombospondinas por astrocitos inmaduros está mediada por ATP y otros neurotransmisores, lo que sugiere que la actividad neuronal puede a su vez controlar la capacidad sinaptogénica de los astrocitos. Paradójicamente, el gen de la trombospondina es uno de los pocos que están mucho más expresados en seres humanos que en el resto de primates, lo que sugiere que los astrocitos contribuyen a la gran plasticidad cerebral característica de los humanos. Debido a su papel en la construcción y eliminación de sinapsis, se ha propuesto que los astrocitos participan en la construcción de nuevos circuitos y en la reconstrucción de los mismos tras lesión.

## **2. Control de la función sináptica**

Existen evidencias de que los astrocitos participan directamente en la transmisión sináptica a través de la liberación de moléculas sinápticamente activas: los «gliotransmisores». Estas moléculas son liberadas por los astrocitos en respuesta a la actividad sináptica neuronal, que produce excitación de los astrocitos con oleadas de  $[Ca^{2+}]_i$ , y producen a su vez excitabilidad neuronal. Las evidencias que prueban el impacto de los astrocitos sobre la actividad sináptica son cada vez más numerosas. Por ejemplo, Kang et al. (10) muestran cómo los astrocitos median la potenciación de la transmisión sináptica inhibitoria en rodajas de hipocampo. Fellin et al.(17) proporcionan la primera evidencia de que los astrocitos inducen sincronía neuronal mediada por glutamato y Shigetomi et al.(18) demuestran que dos formas de excitabilidad astrocítica por calcio tienen efectos distintos sobre receptores NMDA en las neuronas piramidales de CA1 (la capa del hipocampo).

Uno de los gliotransmisores más estudiados es el glutamato. La liberación de glutamato por parte de la subpoblación de astrocitos NG2-positivos, células precursoras de oligodendrocitos, ha sido ya demostrada, aunque la vía por la que lo hacen es objeto de controversia. Se ha propuesto que los astrocitos liberan glutamato mediante vesículas, sin embargo, algunos autores son escépticos. Barres propone 2 razones por las que la liberación por vesículas es improbable: 1) a diferencia de las neuronas, los astrocitos tienen altas concentraciones de la enzima glutamina sintetasa, que cataliza la conversión de glutamato en glutamina, siendo los niveles de glutamato en astrocitos relativamente bajos y difíciles de





detectar por técnicas inmunológicas; y 2) además, *in vivo* los astrocitos no expresan ninguno de los componentes que intervienen en la liberación vesicular de neurotransmisores en neuronas. No se han encontrado en astrocitos ni SNAP25 ni las proteínas vesiculares sinápticas sinaptotagmina I y sinaptofisina, ni tampoco la glucoproteína 2 de vesículas sinápticas.

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

Otra sustancia liberada por los astrocitos que actúa como «gliotransmisor» es la D-serina, un coagonista, junto con el glutamato, del receptor NMDA. Aunque la serin-racemasa es expresada también por las neuronas, solo los astrocitos son capaces de sintetizar serina, por lo que los niveles de D-serina en la sinapsis dependen de la cantidad de serina que los astrocitos producen. Otra enzima expresada fundamentalmente por astrocitos es la piruvato carboxilasa, que proporciona el esqueleto de 4 carbonos necesario para la síntesis *de novo* de glutamato y GABA neuronales, lo que sugiere que la velocidad a la que los astrocitos liberan este precursor determina la velocidad a la que las neuronas disparan.

Además, los astrocitos liberan factores de crecimiento y citoquinas que ejercen efectos más potentes y prolongados sobre la sinapsis. Por ejemplo, el TNF  $\alpha$  induce la inserción de receptores AMPA en la membrana presináptica, aunque aún no se conoce con exactitud si este factor es producido por microglía o por astrocitos. Otras sustancias secretadas por astrocitos que pueden estar implicadas en la función sináptica son los ácidos grasos poliinsaturados y esteroides como el estradiol, la progesterona y otros intermediarios y metabolitos que son neuroactivos y tienen especial afinidad por receptores GABA. Todas estas evidencias han dado lugar a la hipótesis de la «sinapsis tripartita», según la cual los astrocitos tienen un papel directo e interactivo en la actividad sináptica y son indispensables para el correcto procesamiento de la información en los circuitos cerebrales (19).

Más allá de la liberación de gliotransmisores, los astrocitos participan en la correcta actividad sináptica mediante el mantenimiento de la homeostasis del fluido intersticial



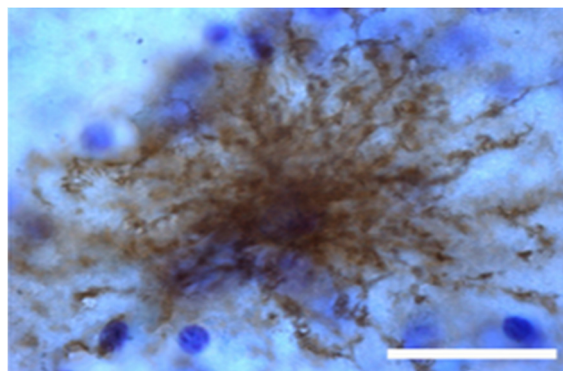
sináptico. Los astrocitos envuelven la sinapsis y mantienen los niveles adecuados de pH, iones, neurotransmisores y fluido. Así, por ejemplo, los procesos astrocitarios son ricos en acuaporina 4 para el transporte de agua y en transportadores para la captación de K<sup>+</sup>. Los astrocitos presentan también en su membrana transportadores Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>, distintos tipos de transportadores de bicarbonato, transportadores de ácido monocarboxílico y la protón - ATPasa de tipo vacuolar, todos ellos implicados en la regulación del pH.

### 3. Regulación del flujo sanguíneo

Los astrocitos regulan también el flujo sanguíneo que llega al sistema nervioso, acoplado los cambios en la microcirculación cerebral con la actividad neuronal. De hecho, las oleadas de calcio en astrocitos se correlacionan con aumentos de la microcirculación vascular y hay evidencias de que las señales neuronales inducen oleadas de calcio en los astrocitos que liberan mediadores como prostaglandina E, óxido nítrico o ácido araquidónico, que tienen efectos vasodilatadores o vasoconstrictores.

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

La regulación del fluido extracelular se realiza regulando la cantidad de H<sub>2</sub>O en el líquido extracelular gracias a las aquoporinas (Figura 3).



**Figura 3.** La acuaporina 4 regula el transporte de agua, se expresa en los astrocitos y desempeña un rol importante en la neuroinflamación. Tomado de Guillamón-Vivancos et al. (5).

#### **4. Energía y metabolismo de sistema nervioso central**

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

#### **5. Barrera hematoencefálica**

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

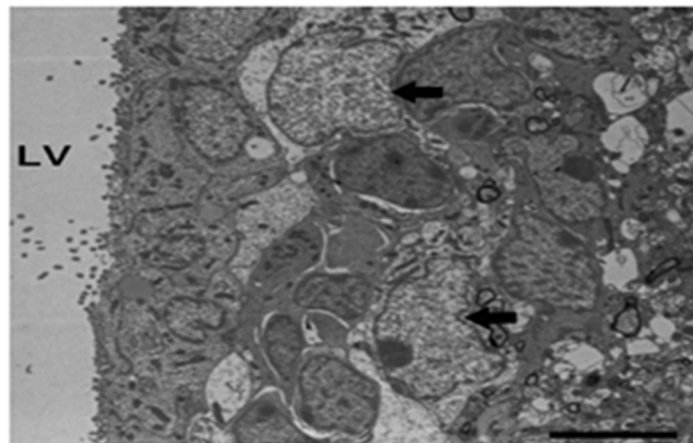
#### **6. Metabolismo lipídico y secreción de lipoproteínas**

El cerebro es el órgano del cuerpo humano más rico en colesterol. Los niveles de colesterol están estrechamente regulados entre neuronas y glía, y alteraciones en el metabolismo de lípidos, especialmente del colesterol, están estrechamente relacionadas con el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer o la enfermedad de Niemann- Pick tipo C. Las lipoproteínas y el colesterol en SNC no proceden de sangre periférica, sino que son sintetizados por la glía, fundamentalmente por los astrocitos. La ApoE es la principal apolipoproteína del SNC y las lipoproteínas gliales que contienen con Apo E suministran a las neuronas colesterol y otras moléculas por medio de receptores de la familia LDL. Estos receptores actúan no solo internalizando las lipoproteínas, sino también como transductores de señales ante la unión de sus ligandos. Así, las lipoproteínas con ApoE estimulan el crecimiento axonal en SNC, y el colesterol unido a lipoproteínas con ApoE participa en la sinaptogénesis. También se ha visto que la ApoE media el efecto neuroprotector de los estrógenos en la isquemia global en un modelo de ratón. Además, la ApoE tiene efectos antiinflamatorios y de protección frente a la apoptosis. En definitiva, los lípidos producidos por la glía, y más concretamente por los astrocitos, median funciones esenciales y su alteración podría afectar a la homeostasis del SNC. De hecho, se han descrito alteraciones en la biosíntesis de colesterol cerebral y reducción de la secreción de

lipoproteínas que contienen ApoE en la enfermedad de Huntington, tanto en seres humanos como en modelos animales. También la relación entre la enfermedad de Alzheimer y la ApoE ha sido ampliamente estudiada, ya que la herencia del alelo E4 de la Apo E es un factor de riesgo para padecer la enfermedad y está relacionado con una eliminación de péptido A  $\beta$  menos efectiva.

## 7. Neurogénesis adulta

Una de las funciones más recientemente descritas de los astrocitos es la de capacidad neurogénica en el cerebro adulto. Las NSC están presentes en los mamíferos no solo durante el desarrollo, sino también en el cerebro adulto, en la SVZ, en la pared de los ventrículos laterales (Figura 4).



**Figura 4.** En la zona subventricular de los mamíferos se han descrito astrocitos células madre. Tomado de Guillamón- Vivancos et al.(5).

Estas células generan nuevas neuronas, que migran a través de la corriente migratoria rostral (RMS, del inglés *rostral migratory stream*) hasta el bulbo olfatorio (BO), donde se diferencian a interneuronas granulares y periglomerulares. Las células madre de la SVZ, también llamadas células B, expresan GFAP, y tienen morfología y ultraestructura de astrocitos. Los precursores neurales migran hasta el BO en cadenas rodeadas por procesos astrocitarios y utilizando como andamiaje la red de vasos sanguíneos que delimita la RMS. Recientemente se ha demostrado que los astrocitos orquestan la formación y la reorganización estructural de este andamiaje microvascular.

En cuanto al cerebro humano, los astrocitos de la SVZ se comportan como NSC *in vitro*, pero su significado funcional *in vivo* permanece sin resolver. Inicialmente se describió que existían células madre en la SVZ, pero no se encontraron evidencias de cadenas migradoras en humanos adultos. Un estudio posterior encontró evidencias de RMS, y por tanto de migración, en el cerebro humano adulto. Más recientemente, Sanai et al. (20) han

proporcionado evidencias de que existen neurogénesis posnatal y migración en seres humanos hasta los 18 meses de edad, pero que se ven reducidas en niños mayores y es mínima en adulto. Sorprendentemente, en esta corta ventana temporal, la migración se produce no solo a BO sino también a la corteza prefrontal.

También hay neurogénesis en el hipocampo, zona relacionada con la memoria.

### **ASTROGLIOSIS REACTIVA Y CICATRIZ GLIAL**

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

1) *Astrogliosis reactiva leve o moderada*. En este nivel aumenta la expresión de GFAP por los astrocitos y hay hipertrofia tanto del cuerpo celular como de los procesos astrocitarios. Esto se produce dentro del propio dominio del astrocito y no hay solapamiento con astrocitos vecinos, y hay poca o ninguna proliferación. Este grado de astrogliosis reactiva es reversible y se da en traumatismos leves y no penetrantes, en caso de activación difusa de inmunidad innata y en áreas distantes del lugar de una lesión focal.

2) *Astrogliosis reactiva severa difusa*. En caso de lesiones focales graves, infecciones o áreas con neurodegeneración crónica, la sobreexpresión de GFAP y la hipertrofia de cuerpo celular y procesos son más pronunciadas. Además, hay solapamiento de astrocitos y aumento de su proliferación. Estos cambios pueden conducir a una reorganización tisular duradera.

3) *Astrogliosis reactiva severa con formación de cicatriz glial compacta*. En este caso, además de los cambios anteriores, se forma la cicatriz glial, que inhibe la regeneración axonal y la migración celular, pero también protege frente a la llegada de células inflamatorias y agentes infecciosos. Los desencadenantes son lesiones graves del SNC, penetrantes y/o contusas, infecciones invasivas y abscesos, neurodegeneración crónica e incluso infecciones sistémicas. La cicatriz glial supone reorganización tisular y cambios estructurales persistentes, que permanecen incluso cuando ha desaparecido el desencadenante. Aunque durante mucho tiempo se ha considerado solo la inhibición de la





regeneración axonal, lo cierto es que los astrocitos reactivos ejercen también funciones beneficiosas. Por ejemplo, protegen a las células del SNC captando glutamato potencialmente excitotóxico, liberando glutatión para contrarrestar el estrés oxidativo, degradando péptido  $\beta$ -amiloide o facilitando la reparación de la BHE. Además, como ya se ha mencionado, limitan la difusión de células inflamatorias y agentes infecciosos.

### **DISFUNCIÓN NEURONAL Y DE FILAMENTOS INTERMEDIOS ASTROCITARIOS: ENFERMEDAD DE ALEXANDER**

La enfermedad de Alexander fue descrita por primera vez en 1949. Es una leucodistrofia rara (se caracteriza por fallo o pérdida de mielina, que conduce a una degeneración progresiva de la sustancia blanca del cerebro). Su incidencia es desconocida, y es causada por una mutación dominante en la región codificante del gen GFAP. La mayoría de los pacientes presentan sus primeros síntomas (convulsiones o retraso en crecimiento), antes de los dos años de edad. La enfermedad se caracteriza por una pérdida de sustancia blanca en el lóbulo frontal, y los pacientes sufren un deterioro progresivo, con muerte antes de los 6 años. El signo patognomónico es la presencia de una agregación de proteínas llamadas las fibras de Rosenthal, (Figura 5) en el interior del citoplasma de los astrocitos, especialmente los perivasculares y los que se localizan en el espacio subependimario. Estas fibras son complejos de proteínas de estrés, inclusiones ubiquitinadas que contienen un número todavía sin definir de proteínas constituyentes además de la versión mutada de GFAP.

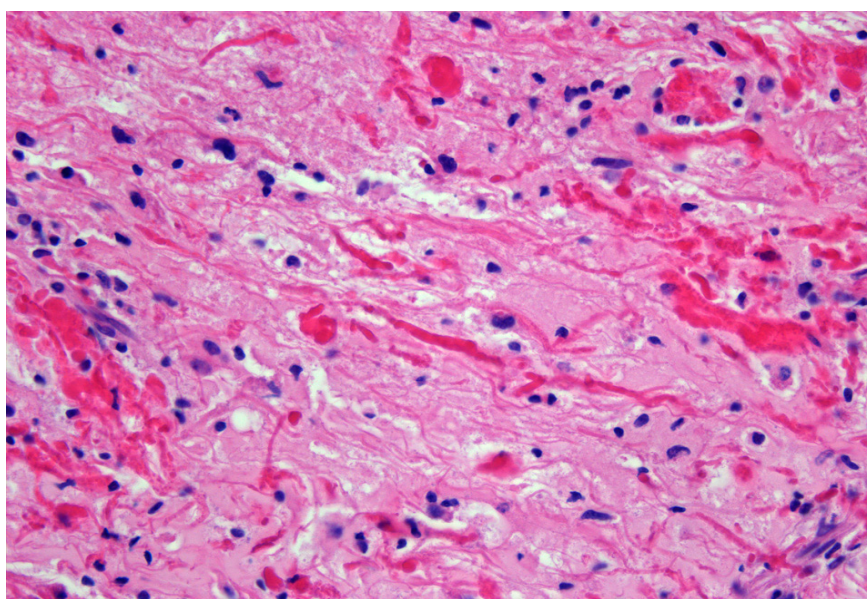


Figura 5. Fibras de Rosenthal: tinción Hematoxilina-Eosina mostrando las estructuras alargadas eosinofílicas. Tomado de Messing et al. (10)



Hasta la fecha, no se han encontrado mutaciones GFAP con desaparición total de la proteína, sino síntesis de variantes con cambios sutiles de aminoácidos con ganancia de función. La isoforma  $\alpha$  de GFAP humano contiene 432 aminoácidos, y en la actualidad 91 mutaciones que afectan a 62 aminoácidos y que han sido asociados con la enfermedad Alexander. Una lista completa de todos (y algunas mutaciones no publicados) se mantiene en el Centro Waisman de la Universidad de Wisconsin- Madison (<https://www.waisman.wisc.edu/>).

Las mutaciones asociadas a la enfermedad de Alexander parecen conducir a la acumulación de la proteína GFAP, y puede que esta elevación de la proteína sea más perjudicial para los astrocitos que la propia proteína mutante. Aún no se han descubierto los aspectos específicos de las funciones de los astrocitos que están comprometidos por las mutaciones, sin embargo, los mecanismos que conducen a la acumulación de proteínas están empezando a ser revelados. Como en otros trastornos de agregación de proteínas del SNC, varias líneas de evidencia sugieren que la disminución de la degradación juega un papel clave. Los estudios realizados en líneas celulares, modelos animales y tejidos humanos indican que se activa varias vías de respuesta al estrés dentro de los astrocitos que expresan GFAP mutante. Por ejemplo, la expresión de la forma R239C de GFAP, que es una de las mutaciones asociadas a la enfermedad, activa las vías de JNK y p38 con la consiguiente alteración de la función proteasomal. La disminución de la actividad proteasomal también se ha encontrado en cultivos primarios de astrocitos preparados a partir de ratones que expresan la mutación R236H (equivalente a la mutación R239H humano) en el locus endógeno de GFAP.

Además de GFAP, se desconocen los sustratos que se ven afectados por esta inhibición de la actividad proteasomal. GFAP tiene una vida media larga *in vivo*, y cuando se interfiere con la degradación de la proteína podría tener efectos prolongados. El estrés oxidativo que está claramente presente en los astrocitos que expresan mutantes de GFAP probablemente conduce a un aumento de la transcripción del gen GFAP, de modo que tanto el aumento de la transcripción como la disminución de la degradación podría promover la acumulación de GFAP. Los mecanismos que conducen al aumento de la transcripción aún no se han determinado.

Otras proteínas de importancia para las enfermedades neurodegenerativas, tales como  $\alpha$ -sinucleína, se degradan por dos vías: proteosoma y autofagia. Aunque en un principio no se pensaba que la autofagia contribuyera a la degradación de GFAP, parece que esta vía está en realidad más activa en el contexto de formas mutantes de GFAP por la acumulación



de ésta. Estos cambios fueron evidentes no sólo en líneas celulares transfectadas, sino también en tejidos y células de los modelos de ratón y en cerebro de pacientes con enfermedad de Alexander. Morfológicamente, la proteína I de la cadena ligera asociada a los microtúbulos 3 (LC3) , un marcador de autofagosomas, Se localiza cerca de fibras de Rosenthal , y estudios de EM de líneas celulares, tejidos de ratón, y un paciente con la enfermedad de Alexander han revelado estructuras unidas a membranas similares a autofagosomas y autolisosomas junto a fibras de Rosenthal.

El impacto de la autofagia en los niveles de GFAP puede deducirse gracias a varias observaciones. El tratamiento de células de astrocitomas humanos U251 transfectadas con un inhibidor de la autofagia condujo a una mayor elevación de los niveles de GFAP, mientras que la inducción de la autofagia redujo los niveles de GFAP, así como el número de inclusiones encontrado en las células. Estos cambios en la autofagia no tienen efectos globales medibles en la degradación de proteínas, en general lo que implica un cierto nivel de selectividad para GFAP y quizás otros componentes de los agregados. Se ha visto que la estimulación de la autofagia no es suficiente para contrarrestar los efectos de la inhibición proteasomal, por lo que se produce la acumulación de GFAP. Como potencial terapéutico, la respuesta autofagica está regulada, al menos en parte, por la rapamicina (mTOR) y se mejoró en presencia de la rapamicina inhibidor de mTOR. Por lo tanto, la rapamicina y sus análogos, actualmente el tema de mucha investigación clínica para otros trastornos, deben ser evaluados para su posible utilidad en la enfermedad de Alexander.

Las formas mutantes de GFAP muestran un desequilibrio entre su forma soluble (es decir, monómeros, pequeños oligómeros) y su forma insoluble (filamentos ensamblados o agregados).

Entre las isoformas menores de GFAP, GFAP $\delta$  parece expresado preferentemente en las poblaciones de astrocitos que contienen la mayor cantidad de fibras de Rosenthal (astrocitos subpiales y periventriculares). Estudios recientes muestran que GFAP  $\delta$  altera la unión de  $\alpha$ B -cristalina a los filamentos de GFAP. En la médula espinal humana normal, GFAP  $\Delta$  representa por lo menos 10 % de la GFAP total, pero en la enfermedad de Alexander, GFAP- $\Delta$  se incrementa de manera desproporcionada, afectando aún más la solubilidad de filamentos.

La respuesta al estrés que se activa en los astrocitos en los individuos con enfermedad de Alexander podría ser tanto perjudicial como beneficiosa. Los estudios en cultivo celular sugieren que tales astrocitos se ven comprometidos en su capacidad para responder a los daños adicionales, tal como la camptotecina o peróxido de hidrógeno.



### **GFAP: marcador del líquido cefalorraquídeo y suero**

Aparte de su papel como elemento causal en la enfermedad, vale la pena considerar cómo la simple medición de los niveles de GFAP en diversos fluidos corporales podría ser útil para el seguimiento y diagnóstico de la enfermedad. El análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR) es una forma no invasiva de “biopsia” en el SNC. GFAP normalmente está presente en niveles bajos en este líquido (dentro de vesículas extracelulares o exosomas), por lo que requiere el desarrollo de métodos sensibles de detección, típicamente ELISA de tipo “sándwich”. Las comparaciones directas de los niveles absolutos de GFAP en el LCR por diferentes laboratorios han sido difíciles, con varios grupos de informes en los niveles medios de los individuos sanos que van desde por debajo de 10 ng / l a casi 4000 ng / l. El sexo no influye, y existe una controversia acerca de si la edad es una variable de confusión, de ahí que cada laboratorio establezca su propio grado de referencia.

Para la enfermedad de Alexander, hasta ahora se han registrado niveles de GFAP en el LCR en tres pacientes (45). Este es un grupo pequeño, y el grado en que se elevan los niveles de GFAP en LCR era variable. Sin embargo, GFAP es la causa fundamental de la enfermedad de Alexander y elevaciones de GFAP en astrocitos se cree que son fundamentales para la patogénesis, su medición podría ser especialmente valiosa en esta condición particular para evaluar la gravedad o bien la progresión de la enfermedad.

GFAP es generalmente indetectable en suero (a pesar de su presencia en LCR) en ausencia de enfermedad o lesión probablemente por dilución. Sin embargo, en ciertas condiciones, GFAP aparece en el suero, especialmente en relación con traumatismos y accidentes vasculares. Determinaciones simultáneas de niveles de GFAP en LCR y suero sólo se ha realizado en dos estudios, y los niveles medios de suero fueron aproximadamente de tres a seis veces menores que en LCR. GFAP sólo se ha detectado en la orina una vez, en un niño que murió de shock séptico.

### **Modelos experimentales en la investigación de la función de los astrocitos y enfermedad de Alexander**

Los ratones transgénicos y *knockout* han proporcionado valiosa información acerca de los efectos de las alteraciones en los astrocitos. La delección de GFAP no produjo ninguna patología específica en ratones en ausencia de lesión, aunque sí ciertas anomalías en respuesta a lesiones. La expresión de GFAP humana en ratones provoca en astrocitos la formación de fibras de Rosenthal, características de la enfermedad de Alexander.



## CONCLUSIONES

1. Los astrocitos han sido considerados como células de sostén en el SNC. Sin embargo, hoy día se sabe que participan de forma activa en muchas de las funciones del SNC y que pueden tener un papel destacado en las enfermedades neurodegenerativas. Existen numerosas evidencias de que las alteraciones de la función astrocitaria pueden contribuir al desarrollo, e incluso provocar, patología del SNC, especialmente patología neurodegenerativa. Por un lado, la pérdida de funciones de los astrocitos podría tener efectos negativos; por otro, el exceso de reactividad astrocitaria podría causar, de modo análogo a la inflamación, efectos perjudiciales en el SNC.
2. La enfermedad de Alexander es una enfermedad genética extremadamente rara, normalmente de aparición en la infancia y perteneciente al grupo de leucodistrofias. El mecanismo propuesto más aceptado para entender la enfermedad es:
  - ✓ Acumulación de proteína ácida fibrilar glial y la consiguiente formación de fibras de Rosenthal en varios tipos celulares, sobretodo en astrocitos. La acumulación se debe a una ganancia de función por causa de la mutación que bloquea parcialmente el ensamblaje de los filamentos de GFAP.
  - ✓ Secuestro posterior de ubiquitina y las proteínas chaperonas  $\alpha$ - $\beta$  cristalina y HSP27 en las fibras de Rosenthal.
  - ✓ Activación tanto de la proteína Jnk como de la respuesta de estrés.
  - ✓ La mutación de GFAP hace que ésta se degrade menos y que aumente con el estrés, lo que lleva a un aumento de sus niveles. Esto provoca una gliosis reactiva que estimula a su vez más formación de GFAP, produciéndose así un círculo vicioso.
3. Aunque en un principio no se pensaba que la autofagia contribuyera a la degradación de GFAP, parece que esta vía es en realidad mayor en el contexto de formas mutantes de GFAP por la acumulación de ésta. Estos cambios fueron evidentes no sólo en líneas celulares transfectadas, sino también en tejidos y células de los modelos de ratón y cerebro de pacientes con enfermedad de Alexander. Como potencial terapéutico, la respuesta autofágica parecía estar regulada, al menos en parte, por la rapamicina (mTOR) y se mejoró en presencia de la rapamicina inhibidor de mTOR. Por lo tanto, la rapamicina y sus análogos, actualmente el tema de mucha investigación clínica para otros trastornos, deben ser evaluados para su posible



utilidad en la enfermedad de Alexander, ya que actualmente no existe ningún tratamiento eficaz.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Allen NJ, Barres BA. Neuroscience: Glia - more than just brain glue. *Nature*. 2009 Feb 5;457(7230):675–7.
2. Rossi D, Volterra A. Astrocytic dysfunction: Insights on the role in neurodegeneration. *Brain Res Bull*. 2009 Oct;80(4–5):224–32.
3. García-Marín V, García-López P, Freire M. Cajal's contributions to glia research. *Trends Neurosci*. 2007 Sep;30(9):479–87.
4. Pérez-Cerdá F, Sánchez-Gómez MV, Matute C. Pío del Río Hortega and the discovery of the oligodendrocytes. *Front Neuroanat [Internet]*. 2015 Jul 7 [cited 2016 Apr 25];9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4493393/>
5. Guillamón-Vivancos T, Gómez-Pinedo U, Matías-Guiu J. Astrocytes in neurodegenerative diseases (I): function and molecular description. *Neurol Barc Spain*. 2015 Mar;30(2):119–29.
6. Oberheim NA, Takano T, Han X, He W, Lin JH, Wang F, et al. Uniquely hominid features of adult human astrocytes. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2009 Mar 11;29(10):3276.
7. Eroglu C, Barres BA. Regulation of synaptic connectivity by glia. *Nature*. 2010 Nov 11;468(7321):223–31.
8. Volterra A, Meldolesi J. Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. *Nat Rev Neurosci*. 2005 Agosto;6(8):626–40.
9. Nedergaard M, Ransom B, Goldman SA. New roles for astrocytes: redefining the functional architecture of the brain. *Trends Neurosci*. 2003 Oct;26(10):523–30.
10. Liem RKH, Messing A. Dysfunctions of neuronal and glial intermediate filaments in disease. *J Clin Invest*. 2009 Jul 1;119(7):1814–24.
11. Eng LF, Vanderhaeghen JJ, Bignami A, Gerstl B. An acidic protein isolated from fibrous astrocytes. *Brain Res*. 1971 May 7;28(2):351–4.
12. Hol EM, Roelofs RF, Moraal E, Sonnemans M a. F, Sluijs JA, Proper EA, et al. Neuronal expression of GFAP in patients with Alzheimer pathology and identification of novel GFAP splice forms. *Mol Psychiatry*. 2003 Sep;8(9):786–96.
13. Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2010 Jan;119(1):7–35.
14. Chen Y, Du T, Peng L, Gibbs ME, Hertz L. Sequential Astrocytic 5-HT<sub>2B</sub> Receptor Stimulation, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> Regulation, Glycogenolysis, Glutamate Synthesis, and K<sup>+</sup> Homeostasis are Similar but Not Identical in Learning and Mood Regulation. *Front*



Integr Neurosci [Internet]. 2016 Jan 8 [cited 2016 May 8];9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4705236/>

15. Pfrieger FW, Barres BA. Synaptic efficacy enhanced by glial cells in vitro. *Science*. 1997 Sep 12;277(5332):1684–7.
16. Mauch DH, Nægler K, Schumacher S, Göritz C, Müller EC, Otto A, et al. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science*. 2001 Nov 9;294(5545):1354–7.
17. Fellin T, Pascual O, Gobbo S, Pozzan T, Haydon PG, Carmignoto G. Neuronal synchrony mediated by astrocytic glutamate through activation of extrasynaptic NMDA receptors. *Neuron*. 2004 Sep 2;43(5):729–43.
18. Schummers J, Yu H, Sur M. Tuned responses of astrocytes and their influence on hemodynamic signals in the visual cortex. *Science*. 2008 Jun 20;320(5883):1638–43.
19. Volman V, Bazhenov M, Sejnowski TJ. Computational models of neuron-astrocyte interaction in epilepsy. *Front Comput Neurosci* [Internet]. 2012 Aug 13 [cited 2016 May 25];6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3459315/>
20. Sanai N, Nguyen T, Ihrie RA, Mirzadeh Z, Tsai H-H, Wong M, et al. Corridors of migrating neurons in the human brain and their decline during infancy. *Nature*. 2011 Oct 20;478(7369):382–6.

