



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**“PARTICIPACIÓN DE LOS ASTROCITOS EN EL PROCESAMIENTO DE LA
INFORMACIÓN SENSORIAL EN LA CORTEZA SOMATOSENSORIAL
SECUNDARIA DE RATONES”**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA:
FRIDA HIGINIO RODRÍGUEZ

TUTOR PRINCIPAL
DRA. MÓNICA ANDREA LÓPEZ HIDALGO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES (ENESJ)

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DR. ABRAHAM JOTSSEL CISNEROS MEJORADO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, UNAM

DR. ELIAS MANJARREZ LÓPEZ.
INSTITUTO DE FISIOLOGÍA, BUAP

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO ENERO DE 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca No. 778405, al proyecto CONACyT Ciencia de Frontera 171874, PAPIIT-DGAPA IA208120 y PAPIIT-DGAPA IA208022 para la realización de mis estudios de maestría.

A la Dra. Maricela Luna Muñoz, Coordinadora del Programa de Maestría en Ciencias (Neurobiología).

A mi tutora, la Dra. Mónica Andrea López Hidalgo por todo el apoyo tanto académico como personal brindado a lo largo de estos años.

A los miembros de mi comité tutorial, el Dr. Abraham Jotsel Cisneros Mejorado y el Dr. Elías Manjarrez López por todas las observaciones y sugerencias que ayudaron a mejorar nuestro trabajo.

Al Dr. Gerardo Rojas Piloni y el Dr. Rafael Olivares Moreno del Laboratorio de Integración Sensorimotora, por su apoyo durante la realización de las técnicas.

A la Dra. Elsa Nydia Hernández Ríos y a la Dra. Ericka de los Ríos Arellano, de la Unidad de Microscopía, por el apoyo técnico.

A mi familia, por acompañarme en esta etapa. Han sido la inspiración para llegar tan lejos y la motivación para no rendirme. Ustedes lo son todo para mí, los amo con la vida.

En memoria de mi tío y mi abuela, quienes fueron un ejemplo en mi formación personal y profesional, gracias a ustedes tomé este camino. Se que están muy orgullosos. Un abrazo hasta el cielo.

A la segunda familia que hice en el Aging Lab:

A Alejandra por su sinceridad, su apoyo y consejos que me ayudaron a tomar la decisión de quedarme.

A Angélica por su confianza, sus pláticas honestas y su extraña manera de demostrar cariño hacia los demás.

A Bárbara por tantos abrazos, memes, canciones y palabras de aliento en el momento preciso. ¿Quién lo diría?.

A todo aquel que, con un mensaje, una llamada, un abrazo, un presente o cualquier acto de amor desinteresado ayudaron a la realización de esta tesis.

RESUMEN

Los astrocitos son células gliales que realizan funciones homeostáticas, además de participar en la modulación de la transmisión sináptica, la plasticidad sináptica y procesos cognitivos. Los astrocitos pueden integrar la actividad sináptica a través de incrementos de Ca^{2+} citoplasmático. Esta actividad de Ca^{2+} también puede ser provocada por la estimulación sensorial. En la corteza somatosensorial primaria (S1), se ha reportado que los astrocitos responden a estímulos somatosensoriales codificando las propiedades intrínsecas del estímulo como la duración y la frecuencia, mientras que su papel en la corteza somatosensorial secundaria (S2), permanece desconocido. El objetivo de esta tesis fue analizar la participación de los astrocitos en la modulación de la red neuronal durante el procesamiento de información sensorial en S2. Para ello, realizamos registros extracelulares unitarios y multiunitarios en ratones anestesiados (C47BL/6) para caracterizar la respuesta neuronal ante estímulos somatosensoriales. Nuestros resultados demuestran que S1 y S2 presentan mecanismos de adaptación ante la estimulación repetida. Posteriormente, activamos a los astrocitos a través de la expresión de DREADDs en S2 mediante la inyección del virus pAAV-GFAP-hM3D(Gq)-mCherry. Estos receptores fueron activados por la administración intraperitoneal de su ligando exógeno N-óxido de clozapina (CNO) (1 mg/kg). Para la caracterización del efecto de CNO en la actividad del Ca^{2+} , monitoreamos la dinámica de Ca^{2+} con un microscopio en miniatura (Minoscope V4), usando el indicador GCaMP6f. Nuestros resultados mostraron que la inyección de CNO provoca aumentos de Ca^{2+} que se observan a partir de los 20 minutos con una duración de una hora. Para la evaluación del efecto de la activación de los astrocitos en S2 sobre las neuronas, realizamos un protocolo de estimulación eléctrica en la pata delantera (5 Hz, 3 pulsos), en presencia y ausencia de CNO. El análisis de las respuestas provocadas se dividió en actividad espontánea y actividad provocada de latencia temprana (primeros 50 ms) y tardía (siguientes 150 ms). Nuestros resultados demuestran que la activación de los astrocitos en S2 no modifica la actividad espontánea y aumenta la actividad provocada de latencia temprana mientras que durante la latencia tardía disminuye la actividad espontánea. Finalmente comparamos la dinámica del decaimiento de la respuesta provocada (adaptación sensorial), en condiciones control y posterior a la administración de CNO. Encontramos que la activación de los astrocitos incrementa la adaptación sensorial. Estos resultados sugieren que la activación de los astrocitos en S2 pueden contribuir a una mejor percepción de los estímulos sensoriales y mejorar el desempeño conductual en la discriminación táctil.

SUMMARY

Astrocytes are glial cells that perform homeostatic functions, in addition they also participate in the modulation of synaptic transmission, synaptic plasticity, and cognitive processes. Astrocytes can integrate synaptic activity through increases in cytoplasmic Ca^{2+} . This Ca^{2+} activity can also be triggered by sensory stimulation. In the primary somatosensory cortex (S1), it has been reported that astrocytes respond to somatosensory stimuli by encoding the intrinsic properties of the stimulus such as duration and frequency, while their role in the secondary somatosensory cortex (S2), remains unknown. The aim of this thesis was to analyze the participation of astrocytes in the modulation of the neuronal network during the processing of sensory information in S2. For this purpose, we performed extracellular single-unit and multi-unit recordings in anesthetized mice (C47BL/6), to characterize the neuronal response to somatosensory stimuli. Our results show that S1 and S2 present mechanisms of adaptation in response to repeated stimulation. Subsequently, we activated astrocytes through the expression of DREADDs in S2 cortex by injecting pAAV-GFAP-hM3D(Gq)-mCherry virus. These receptors were activated by intraperitoneal administration of their exogenous ligand clozapine N-oxide (CNO) (1 mg/kg). For the characterization of the effect of CNO on Ca^{2+} activity, we monitored Ca^{2+} dynamics with a miniature microscope (Minoscope V4), using the indicator GCaMP6f. Our results showed that the injection of CNO causes increases in Ca^{2+} that are observed after 20 minutes with a duration of one hour. To assess the effect of S2 astrocyte activation on neurons, we performed an electrical stimulation protocol of the forepaw (5 Hz, 3 pulses), in the presence and absence of CNO. Analysis of evoked responses was divided into spontaneous activity and early latency (first 50 ms) and late (next 150 ms) evoked activity. Our results show that astrocyte activation in S2 does not modify spontaneous activity and increases early latency evoked activity while spontaneous activity decreases during late latency response. Finally, we compared the dynamics of the decay of the evoked response (sensory adaptation) in control conditions and after CNO administration. We found that activation of astrocytes increases sensory adaptation. These results suggest that the activation of astrocytes in S2 may contribute to a better perception of sensory stimuli and improve behavioral performance in tactile discrimination.

ÍNDICE

RESUMEN	3
SUMMARY	4
1. INTRODUCCIÓN	7
2. ANTECEDENTES	9
2.1 Clasificación	11
2.2 Funciones.....	12
2.3 Sinapsis tripartita.....	15
2.4 Herramientas para el estudio de los astrocitos	18
2.5 El procesamiento de la información sensorial	21
2.6 Los astrocitos participan en el procesamiento de la información sensorial 24	
2.6.1 Médula espinal.....	25
2.6.2 Corteza visual	25
2.6.3 Bulbo olfatorio.....	26
2.6.4 Corteza somatosensorial	26
2.6.4.1 Corteza de los barriles.....	26
2.6.4.2 Corteza somatosensorial primaria y secundaria.....	27
3. HIPÓTESIS	28
4. OBJETIVOS	28
4.1 General	28
4.2 Particulares	28
5. MATERIAL Y MÉTODOS	29
5.1 Animales	29
5.2 Cirugía estereotáxica	29
5.3 Registro electrofisiológico y estimulación eléctrica	29
5.4 Quimiogenética	30
5.5 Inmunofluorescencia	31
5.6 Adquisición de imágenes de calcio	31
5.7 Análisis datos	32
5.6 Análisis estadístico.....	34
6. RESULTADOS	35

7. DISCUSIÓN	46
8. CONCLUSIONES	52
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

1. INTRODUCCIÓN

Los astrocitos son un subtipo de células gliales presentes en el Sistema Nervioso Central (SNC) (Yoon *et al.*, 2017). Son las células gliales más abundantes ya que representan alrededor del 30% del número total de células en el sistema nervioso central (Liddeloy y Barres, 2017), encontrándose en una proporción de 1:1 respecto a las células neuronales (Vasile *et al.*, 2017). Se ha descrito que realizan funciones homeostáticas como brindar soporte metabólico y estructural a las neuronas (Sofroniew y Vinters, 2010), participar en el mantenimiento del medio extracelular a través de la recaptura de K^+ (Murakami y Kurachi, 2016; Bellot-Saez *et al.*, 2017) y la recaptura de neurotransmisores (Murphy-Royal *et al.*, 2017; Mahmoud *et al.*, 2019), entre otros. Recientemente se ha propuesto que, debido a su relación anatómica y funcional con las neuronas, los astrocitos pueden establecer una comunicación bidireccional con las neuronas a través de sinapsis tripartitas (Farhy-Tselnicker y Allen, 2018; Semyanov y Verkhratsky, 2021). Este concepto propone que los astrocitos detectan la liberación de los neurotransmisores durante la transmisión sináptica y responden mediante incrementos de Ca^{2+} intracelular, que llevan a la liberación de gliotransmisores (Araque *et al.*, 1999). Así, los astrocitos pueden participar activamente en la transmisión sináptica (Perea y Araque, 2007), plasticidad sináptica (Navarrete y Araque, 2011), procesos cognitivos (López-Hidalgo *et al.*, 2012) y durante el procesamiento sensorial (Ghosh *et al.*, 2013; Lines *et al.*, 2020).

El procesamiento sensorial inicia cuando se activan mecanorreceptores en la piel, posteriormente esta información asciende sobre la médula espinal hasta el bulbo raquídeo, en donde decusan hacia el tálamo para finalmente ser transmitida a las cortezas somatosensoriales primaria (S1) y secundaria (S2) (Fitzpatrick, 2004; Liao y Yen, 2008; Abaira y Ginty, 2013). En este sentido, se ha reportado que, las neuronas en S1 codifican la presencia o ausencia del estímulo, mientras que las neuronas de S2 se correlacionan con el desempeño conductual (de Lafuente y Romo, 2005; Romo *et al.*, 2012).

En el caso de los astrocitos, evidencia acumulada indica que, en áreas de relevo sensorial, como en la médula espinal (Cirillo *et al.*, 2012; Sekiguchi *et al.*, 2016), el bulbo olfatorio (Petzold *et al.*, 2008; Otsu *et al.*, 2015), la corteza visual (Schummers *et al.*, 2008; Sonoda *et al.*, 2018; Slezak *et al.*, 2019, López-Hidalgo *et al.*, 2016) y la corteza primaria somatosensorial (Ghosh *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2016; Lines *et al.*, 2020), los astrocitos responden con incrementos de Ca^{2+} . Se ha propuesto que estos incrementos de Ca^{2+} están mediados por la activación de receptores acoplados a proteína G (GPCR) en los astrocitos como los receptores de glutamato metabotrópicos de tipo 1 y 5 (mGluR 1/5) (Sun *et al.*, 2013), el receptor purinérgico P_2Y_1 (Shigotemi *et al.*, 2018), el receptor muscarínico de acetilcolina (mAChR) (Takata *et al.*, 2011) y el receptor adrenérgico α_1 (α_1 -AR) (Ding *et al.*, 2013). Estos receptores, a su vez activan la vía dependiente de la fosfolipasa C (PLC) que lleva a la liberación de Ca^{2+} desde el retículo endoplasmático (Kofuji y Araque, 2021).

En estas cortezas primarias, la actividad de Ca^{2+} de los astrocitos codifica las propiedades intrínsecas del estímulo como la duración y la frecuencia (Lines *et al.*, 2020). Sin embargo, su participación en cortezas de asociación como la corteza somatosensorial secundaria permanece desconocida, por lo que nos planteamos analizar la participación de los astrocitos de la corteza somatosensorial secundaria en la actividad neuronal inducida por la estimulación sensorial.

2. ANTECEDENTES

Los astrocitos se describieron por primera vez por Ramón y Cajal como células en forma de estrella (Ramón y Cajal, 1913). Posteriormente, con el desarrollo de nuevas técnicas de visualización se describieron como células con forma esponjiforme que poseían procesos que se extienden desde el soma y se ramifican para crear cientos de ramas finas, esta morfología es tan diversa que su tamaño y complejidad dependen de la especie (Figura 1) (López-Hidalgo *et al.*, 2016). Sus procesos pueden rodear las terminales neuronales al mismo tiempo que recubren los vasos sanguíneos denominándose “unidad neurovascular” (Schiweck *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2019).

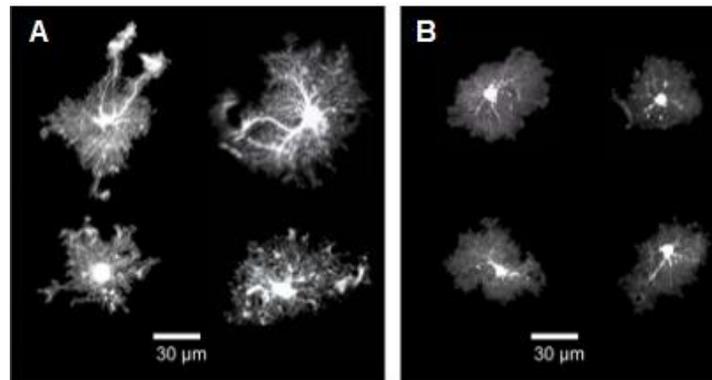


Figura 1. Diversidad de la morfología de los astrocitos en diferentes especies. A. Reconstrucción tridimensional de un astrocito de la corteza visual de hurón marcado intracelularmente con sulforrodamina 101 (SR101). **B.** Reconstrucción de astrocitos de la corteza visual de ratón marcado intracelularmente con sulforrodamina 101 (SR101) (López-Hidalgo *et al.*, 2016).

En roedores, los procesos de los astrocitos se organizan espacialmente (Bushong *et al.*, 2002; López-Hidalgo *et al.*, 2016), ocupando territorios altamente segregados donde los procesos se superponen en tan solo un 5% formando dominios bien delimitados (Ogata y Kosaka, 2002). Estos dominios pueden estar conectados por uniones Gap lo que les permitiría a los astrocitos actuar como un sincitio conectado a través de conexinas (Giaume y Liu, 2012). Esta organización se ha reportado en regiones como el hipocampo (Bushong *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2013) y la corteza (Halassa *et al.*, 2007).

Los astrocitos pueden expresar canales iónicos, receptores para neurotransmisores y transportadores para llevar a cabo sus funciones (Bazargani y Attwell, 2016). En su superficie poseen canales de K⁺ como los Kir4.1 y los canales de dominio de dos poros (K₂P) (Seifert *et al.*, 2018), canales dependientes de voltaje como Cav1.2 (Zamora *et al.*, 2020) y Bestrofina-1 (Best-1) (Oh y Lee, 2017), además de conexinas no emparejadas como la conexina 43 (Cx43), que pueden actuar como hemicanales (Xing *et al.*, 2019). De manera similar se ha reportado la expresión de transportadores de monocarboxilato (MCT4) (Bergersen, 2007) y transportadores de glucosa (GLUT1) (Jakoby *et al.*, 2014).

Los astrocitos expresan receptores a una diversidad de neurotransmisores como el glutamato, que es el neurotransmisor excitador más abundante por lo que la expresión de sus receptores y transportadores es altamente heterogénea (Mahmoud *et al.*, 2019). En este sentido, se ha reportado la expresión de receptores acoplados a proteína G (GPCR), tales como los receptores metabotrópicos tipo 1, 2 y 3 (mGlu1, mGlu3 y mGlu5) (Spampinato *et al.*, 2018) que se han descrito ampliamente en el hipocampo (Rose *et al.*, 2018); receptores ionotrópicos como el receptor del ácido α -Amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) (Höft *et al.*, 2014), el receptor a kainato (KAR) (Vargas *et al.*, 2013) y el receptor N-metil-D-aspartato (NMDAR) (Skowrońska *et al.*, 2019) que se ha visto que se expresan funcionalmente en cortes de cerebro aislados de regiones del cerebro como el cerebelo, hipocampo y tronco encefálico (Lalo *et al.*, 2006; Lalo *et al.*, 2011). Además de la presencia de transportadores de glutamato-1 (GLT-1) que es responsable del 95 % de la actividad de transporte de glutamato y se expresa de manera heterogénea en prosencéfalo, tronco encefálico y médula espinal de roedores (Oliet *et al.*, 2001; Zschocke *et al.*, 2005), asimismo el transportador glutamato/aspartato (GLAST) que se expresa principalmente en el cerebelo y la neocorteza (Pajarillo *et al.*, 2019).

De manera similar, se ha reportado la expresión de receptores para ácido gamma-aminobutírico (GABA) ionotrópicos como los GABA tipo A (GABA_A) (Yoon y Lee, 2012) y receptores metabotrópicos como los GABA tipo B (GABA_B) (Vélez-Fort *et*

al., 2011), su expresión se ha estudiado en áreas involucradas con la recompensa como el área tegmental ventral (VTA) y el núcleo talámico ventrobasal (VB) (Gould *et al.*, 2014) y en el control del movimiento como el cuerpo estriado (Reyes-Haro *et al.*, 2017) y el cerebelo (Reyes-Haro *et al.*, 2013). Adicionalmente expresan transportadores de GABA tipo 1 y 3 (GAT-1 y GAT-3) (Boddum *et al.*, 2016) que se han identificado en la neocorteza (Melone *et al.*, 2014).

Los astrocitos también expresan receptores a glicina (GlyR) y transportadores de glicina tipo 1 (GlyT-1) (Ghirardini *et al.*, 2018; Morais *et al.*, 2018) que se han reportado no solo en médula espinal (Lu *et al.*, 2022) y tronco encefálico (Raiteri y Raiteri, 2010) donde la transmisión glicinérgica es abundante sino también en hipocampo y corteza (Aroeira *et al.*, 2014), En el caso de los receptores purinérgicos se han identificado tanto ionotrópicos P₂X (P₂X₁ - P₂X₇) que están relacionados con la transmisión sináptica rápida y la plasticidad sináptica (Franke *et al.*, 2012); así como receptores metabotrópicos P₂Y (P₂Y₁, P₂Y₂, P₂Y₄, P₂Y₆, P₂Y₁₂ y P₂Y₁₄) (Franke *et al.*, 2012; Puerto *et al.*, 2013; Verkhratsky *et al.*, 2019) que pueden mediar efectos a largo plazo y respuestas tróficas a través de mecanismos como la activación de genes (Puerto *et al.*, 2013). Asimismo, se ha reportado la expresión de receptores de Acetilcolina nicotínicos (Shen y Yakel, 2012; Sadigh-Eteghad *et al.*, 2016) y muscarínicos (Guizzetti *et al.*, 2011), así como receptores adrenérgicos que se han estudiado principalmente en el locus coeruleus (LC) (Ding *et al.*, 2013)

2.1 Clasificación

Históricamente, se realizó una clasificación de los astrocitos según su morfología y ubicación anatómica en astrocitos protoplásmicos, que se encuentran en la materia gris del cerebro formando procesos finos que rodean los vasos sanguíneos y a las sinapsis neuronales (Tabata, 2015) y astrocitos fibrosos que se distribuyen a lo largo de los tractos de la sustancia blanca, entrando en contacto con los nodos de Ranvier (Lundgaard *et al.*, 2014). Sin embargo, esta clasificación los considera como una población homogénea y no refleja su diversidad (Pestana *et al.*, 2020). Evidencias recientes sugieren una alta heterogeneidad de astrocitos en la corteza cerebral y

que difieren en muchos aspectos, como la morfología, función, propiedades fisiológicas, orígenes del desarrollo y su respuesta a patologías (Batiuk *et al.*, 2020).

Además, se han identificado otros subtipos de astrocitos como son la glia radial, los que poseen forma de velo, las células de Bergmann en el cerebelo, las células de Müller en la retina, tanicitos del hipotálamo y la médula espinal, astrocitos perivasculares y marginales, así como astrocitos positivos a Gomori en el hipotálamo y en el hipocampo (Verkhatsky *et al.*, 2015; Verkhatsky *et al.*, 2017).

2.2 Funciones

Los astrocitos cumplen importantes funciones de soporte para las neuronas (Li *et al.*, 2019). Por ejemplo, contribuyen con el mantenimiento del microambiente mediante la regulación de las concentraciones extracelulares de iones (Kimelberg y Nedergaard, 2010). En particular, se ha visto que seguido de la actividad neuronal, cuando se presenta un incremento en los niveles extracelulares de K^+ , los astrocitos recapturan el K^+ mediante una bomba $Na^+ K^+$ ATPasa (NKA) para posteriormente distribuirlo en el sincitio a través de las uniones Gap (Hertz *et al.*, 2013; Hertz y Chen, 2016; Sibille *et al.*, 2015).

Adicionalmente, los astrocitos regulan el pH del líquido intersticial local mediante la eliminación de H^+ (Xin y Bonci, 2018). El amortiguamiento por el sistema CO_2 / HCO_3^- es uno de los mecanismos más importantes de control de pH del tejido, donde CO_2 y H_2O están en equilibrio dinámico con H^+ y HCO_3^- (Turovsky *et al.*, 2016). Este equilibrio se alcanza rápidamente mediante la actividad de enzimas de la familia de la anhidrasa carbónica (Hansen *et al.*, 2015). La actividad amortiguadora de bicarbonato y la anhidrasa carbónica protegen el tejido cerebral de la acidificación al convertir H^+ y HCO_3^- en H_2O y CO_2 (Theparambil *et al.*, 2020).

Los astrocitos, además, llevan a cabo la regulación metabólica a través de la formación de unidades neurovasculares, que se refiere al compartimiento que forman debido a la estrecha relación que mantienen con los vasos sanguíneos (Liu *et al.*, 2018). Por lo tanto, se considera que los astrocitos forman parte de la estructura de la barrera hematoencefálica y se propuso que podían regular el flujo

sanguíneo local mediante la dilatación y contracción de los vasos sanguíneos (MacVicar y Newman, 2015). Sin embargo, existe controversia al respecto debido a que la respuesta de Ca^{2+} en astrocitos se presenta con un retraso en relación con el inicio de la vasodilatación (Schummers *et al.*, 2008; Schulz *et al.*, 2012; Nizar *et al.*, 2013).

Otro mecanismo de regulación metabólica se da mediante el soporte energético a las neuronas a través de la entrega de sustratos como el lactato (Jha y Morrison, 2018). Además de la utilización de glucosa, las neuronas usan el lactato para obtener energía a través del metabolismo aeróbico (Turner y Adamson, 2011). Esto sugiere que el metabolismo energético del sistema nervioso comienza con la glucólisis en los astrocitos y finaliza con la oxidación en las neuronas (Jha y Morrison, 2020). De manera alternativa, los astrocitos producen lactato a partir de piruvato por la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) (Mächler *et al.*, 2016). En paralelo, los astrocitos también pueden almacenar glucógeno y descomponerlo para formar lactato cuando las neuronas requieren fuentes adicionales de energía (Suzuki *et al.*, 2011).

Adicionalmente, los astrocitos regulan la función sináptica mediante el control de la formación y eliminación de las sinapsis (Lee y Chung, 2019). Se ha observado que los astrocitos inducen la formación de sinapsis a través de la secreción de factores como la trombospondina (TSP), la proteína secretada ácida enriquecida en proteínas de la familia de cisteína (SPARC), el factor de crecimiento transformante Beta-1 (TGF- β 1) y el colesterol (Baldwin y Eroglu, 2017). Estudios posteriores revelaron que los astrocitos también participan en el mantenimiento de la sinapsis y la eliminación de la sinapsis, mediante su función fagocítica o induciendo la expresión de proteínas del complemento para reclutar la microglía (Allen y Eroglu, 2017). Es así como, de esta manera los astrocitos participan en la arquitectura y la actividad de los circuitos neuronales (Farhy-Tselnicker y Allen, 2018).

La regulación de la transmisión sináptica por los astrocitos se lleva a cabo mediante diferentes mecanismos. Por ejemplo, los astrocitos mantienen los niveles óptimos de neurotransmisores como glutamato y GABA. En el caso del glutamato es

sintetizado a partir del piruvato, producto de la glucólisis que se convierte en α -cetoglutarato, que luego se cataliza en glutamato por la enzima aspartato aminotransferasa (Hertz y Rothman, 2017). El glutamato es degradado por la glutamina sintetasa (GS), que se expresa exclusivamente en los astrocitos del cerebro, para formar glutamina que luego se transfiere a las neuronas (Zou *et al.*, 2010). Además, durante la transmisión excitatoria, los astrocitos recapturan el glutamato liberado a través de transportadores GLAST y GLT-1 para renovarlo a través del ciclo glutamato-glutamina por medio de una reacción dependiente de ATP catalizada por la glutamina sintetasa (Newsholme *et al.*, 2003). La glutamina se libera de regreso al espacio extracelular y es captada por las neuronas, donde la glutaminasa la convierte en glutamato para repetir el ciclo (Underhill y Amara, 2009).

En el caso de GABA, los astrocitos realizan su biosíntesis a partir de la vía clásica descarboxilando el glutamato con ayuda de la enzima GABA Descarboxilasa (GAD67 o GAD65) (Lee *et al.*, 2011). Además, se ha reportado la biosíntesis de GABA a través de una vía alterna independiente de GAD, que usa como sustrato la poliamina putrescina, llevando a cabo la oxidación de monoaminas a través de la enzima monoamino oxidasa B (MAOB) (Yoon *et al.*, 2014), así como la acumulación de GABA que ocurre por captación de este a través de sus transportadores (Losi *et al.*, 2014). Para la degradación de GABA, las enzimas encargadas son GABA-transaminasa (GABA-T) y succínico semialdehído deshidrogenasa (SSADH) (Hertz y Rodrigues, 2014).

Los astrocitos regulan la actividad neuronal a través de la liberación de glutamato, GABA, glicina, ATP y D-serina en un proceso denominado gliotransmisión (Schousboe *et al.*, 2014). Esta liberación se lleva a cabo mediante varios mecanismos dependientes de Ca^{2+} como la exocitosis y la liberación a través de canales iónicos (Sahlender *et al.*, 2014). La exocitosis depende de la presencia de maquinaria secretora exocitótica, los astrocitos expresan proteínas del complejo SNARE como las proteínas de membrana asociada a vesículas 2 y 3 (VAMP2 y VAMP3), sintaxinas 1, 2 y 4 y la proteína asociada al sinaptosoma (SNAP-23) (Parpura *et al.*, 2010). Otros mecanismos no dependientes de exocitosis permiten

la liberación de GABA y glicina a través de la operación inversa de sus transportadores GAT1, GAT3 y GlyT1 en condiciones fisiológicas (Verkhratsky *et al.*, 2016). Más recientemente, se ha reportado que el canal Best-1, puede liberar GABA y glutamato en condiciones fisiológicas tras la activación de receptores acoplados a proteína G o cuando la estimulación de los astrocitos induzca aumentos de Ca^{2+} intracelular (Oh y Lee, 2017; Ishibashi *et al.*, 2019). Además, se ha reportado una liberación de glutamato independiente de Ca^{2+} a través del canal de K^+ TREK-1 (Woo *et al.*, 2012).

2.3 Sinapsis tripartita

Debido a la estrecha asociación estructural y funcional de los procesos de los astrocitos con las neuronas pre y postsinápticas, el grupo de Parpura *et al.* en 1999 introdujo el término de “sinapsis tripartita” (Araque *et al.*, 1999) en donde una sinapsis no solo está compuesta por la terminal presináptica y postsináptica de las neuronas, sino que se considera al astrocito como tercer elemento funcional capaz de establecer una comunicación bidireccional con las neuronas. Este proceso se resume en la Figura 2, aquí, durante la transmisión sináptica las neuronas liberan neurotransmisores hacia la hendidura sináptica que son detectados por receptores en la superficie de los astrocitos. Esto incrementa los niveles de Ca^{2+} intracelular del astrocito, seguido de la liberación de gliotransmisores, que a su vez regulan la excitabilidad neuronal y la transmisión sináptica (Araque *et al.*, 1999). Cabe mencionar que las elevaciones de Ca^{2+} de los astrocitos no solo ocurren tras la activación a través de varios transmisores excitadores como Glutamato, ATP o Acetilcolina, sino que también pueden desencadenarse por el transmisor inhibitor GABA (Guerra-Gomes *et al.*, 2018).

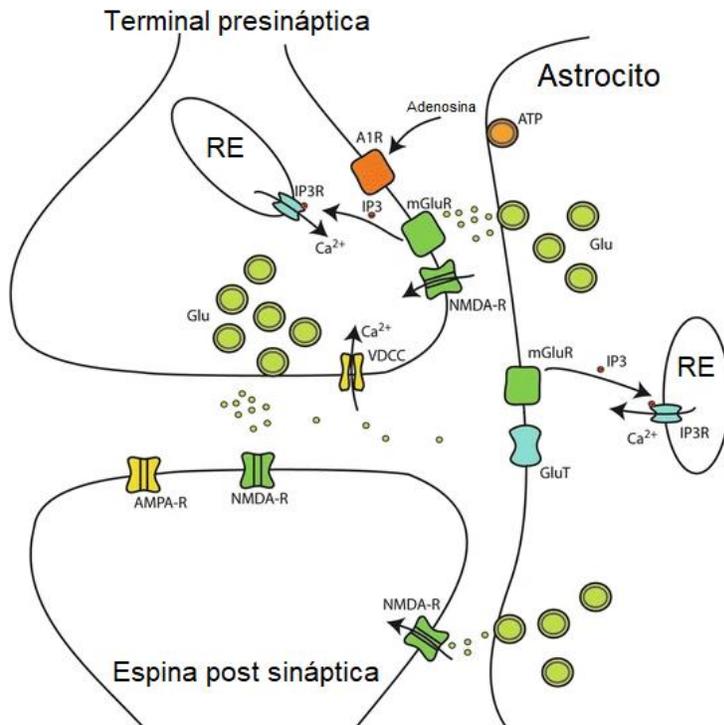


Figura 2. Los astrocitos participan activamente en la sinapsis tripartita. Los astrocitos pueden monitorear y responder a la liberación de neurotransmisores desde la hendidura sináptica a través de receptores expresados en la superficie de su membrana. Estos pueden activar diferentes vías de señalización que permiten el incremento en los niveles de Ca²⁺ intracelular del astrocito y permite la liberación de gliotransmisores (Bouteiller y Berger, 2015).

En respuesta a la actividad de las neuronas, los astrocitos presentan incrementos de Ca²⁺ intracelular, lo que representa una forma de excitabilidad (Bazargani y Attwell, 2016). Se han descrito tres mecanismos que permiten la generación de señales de Ca²⁺ en astrocitos a través de compartimentos clave: El retículo endoplásmico (RE), las mitocondrias y el espacio extracelular (Figura 3) (Guček *et al.*, 2012). En las mitocondrias se puede acumular cantidades significativas de Ca²⁺ a través de proteínas transportadoras tipo uniportadoras mitocondriales (Pathak y Trebak, 2018), para su posterior liberación a través del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (mPTP) (Okubo y Lino, 2020) o intercambiadores de Na⁺/Ca²⁺ (Jackson y Robinson, 2015). En el RE, las ATPasas bombean el Ca²⁺ al interior del retículo activando receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) que desencadenan cascadas de señalización inositol trifosfato (IP₃) liberando el Ca²⁺ a través de receptores de rianodina (RyR) y receptores de inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃R) (Guerra-Gomes *et al.*, 2018). De igual forma, también se puede inducir la entrada de Ca²⁺ desde el espacio extracelular por medio de canales y receptores de la membrana plasmática a través de canales de potencial receptor transitorio

(TRPC) (Verkhratsky *et al.*, 2013). Estas ondas de Ca^{2+} se pueden propagar a los astrocitos vecinos mediante uniones Gap y por la liberación de ATP a través de hemicanales desde otros astrocitos, los cuales activan receptores purinérgicos que permiten los incrementos de Ca^{2+} (Scemes y Giaume, 2006; Fujii *et al.*, 2017). Sin embargo, la generación de ondas in vivo aún está en debate (Schummers *et al.*, 2008).

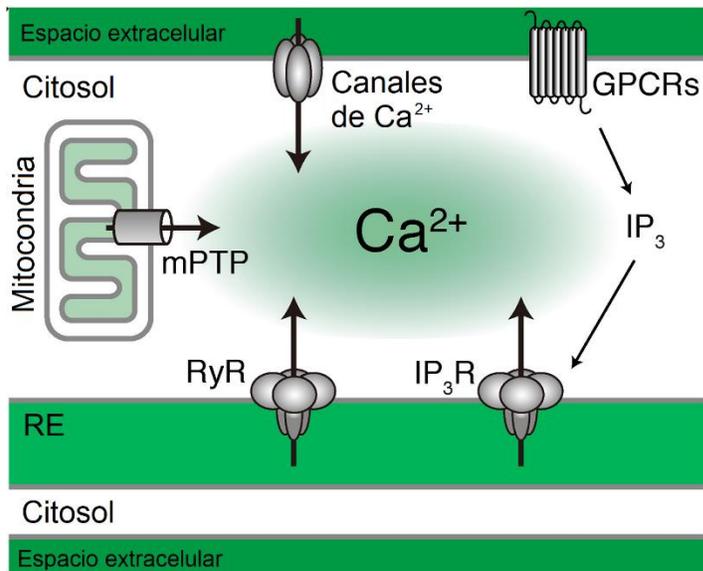


Figura 3. Esquema de la señalización de los incrementos de Ca^{2+} en astrocitos. Los incrementos de Ca^{2+} intracelulares dependen de la liberación de Ca^{2+} mitocondrial por el poro de transición de la permeabilidad mitocondrial (mPTP), la liberación a través del retículo endoplásmico (RE) a través de receptores de rianodina (RyR) y receptores de inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3R) dependientes de la activación de receptores acoplados a proteína G (GPCR) y de receptores ionotrópicos (Okubo, 2020).

En resumen, la capacidad de los astrocitos para liberar diferentes gliotransmisores y así modular la actividad sináptica nos sugiere que los astrocitos, además de cumplir con las funciones homeostáticas tradicionales desempeñan funciones activas en la transmisión sináptica y la plasticidad, así como en la codificación de la información y los procesos cognitivos de circuitos neuronales (Santello *et al.*, 2012; González-Arias y Perea, 2019). Por lo que, el estudio de los astrocitos en la función cerebral mediante métodos que los manipulen específicamente los incrementos de Ca^{2+} es de suma importancia para la demostración de su participación en funciones neuronales y cognitivas.

2.4 Herramientas para el estudio de los astrocitos

Debido a las numerosas contribuciones ahora reconocidas de los astrocitos en el funcionamiento del sistema nervioso, ha aumentado el interés en estudiar la fisiología de los astrocitos y evaluar su participación en los circuitos neuronales, así como su contribución en la conducta tanto en condiciones fisiológicas como fisiopatológicas (Yu *et al.*, 2020). Para poder abordar el papel de los astrocitos, se han usado enfoques moleculares incluidos modelos de ratones transgénicos como los ratones knockout (KO), el control de la expresión génica dirigida a astrocitos utilizando adenovirus asociados (AAV) (Davila *et al.*, 2013), la optogenética (Xie *et al.*, 2020) y la quimiogenética (Philtjens *et al.*, 2020).

En los últimos años, el desarrollo de técnicas genéticas para manipular selectivamente la actividad de un tipo celular en específico ha avanzado rápidamente. Dos de las técnicas genéticas más utilizadas son la optogenética, que utiliza canales iónicos que se activan con la luz (Herlitze y Landmesser, 2007) y la quimiogenética, que utiliza receptores modificados acoplados a proteína G que se activan mediante ligandos inertes (Roth, 2016).

La optogenética usa una familia de proteínas sensibles a la luz, de siete dominios transmembrana, codificadas por genes de opsina como la canalrodopsina (ChR), la halorhodopsina y la arquerodopsina (Arch) (Duebel *et al.*, 2015). Para su expresión selectiva en estirpes celulares, se eligen promotores selectivos de cada tipo de célula y se activan usando una luz azul (473 nm), que corresponde a la longitud de onda en la que estas proteínas son sensibles, permitiendo la apertura de sus canales y el flujo de cationes a través de la membrana celular (Mahmoudi *et al.* 2017; Krueger *et al.*, 2019). Este tipo de estudios requieren instrumentación especializada para administrar la luz, incluidos generadores de formas de onda, fibras ópticas, entre otros dispositivos (Zhang *et al.*, 2010).

Para la quimiogenética, se utilizan una familia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR) diseñados genéticamente (designer receptors exclusively activated by designer drugs, DREADD por sus siglas en inglés) (Armbruster *et al.*, 2007). Estos

receptores no se expresan de manera natural en los astrocitos por lo que su expresión puede ser controlada (Dobrzanski y Kossut, 2017). Para esto, se usan vectores virales que pueden ser dirigidos, en este caso a los astrocitos, usando un promotor específico para cada tipo celular de interés, por ejemplo, la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) (Zhang *et al.*, 2017). Posteriormente, estos vectores expresan sus correspondientes receptores muscarínicos modificados (hM₃Dq o hM₄Di) (Figura 4), que pueden presentar diferentes vías de señalización para inducir la activación o inhibición. Por ejemplo, la señalización de Gq activa la fosfolipasa C beta, que hidroliza el 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol en trifosfato de inositol y diacilglicerol, lo que conduce al aumento de los niveles de Ca²⁺ libre y activación de la proteína quinasa C (Whissell *et al.*, 2016). También, la disminución en los niveles de PIP₂ pueden conducir al cierre de los canales de KCNQ llevando a la despolarización o activación de la célula de interés (Carver y Shapiro, 2019). Por el contrario, la señalización de Gi activa los canales de K⁺ rectificadores internos, lo que produce una hiperpolarización e inhibición. De manera independiente también inhibe a la Adenilato Ciclasa, disminuyendo la formación de AMPc y la activación de la Proteína Quinasa A (Wulff y Arenkiel, 2012).

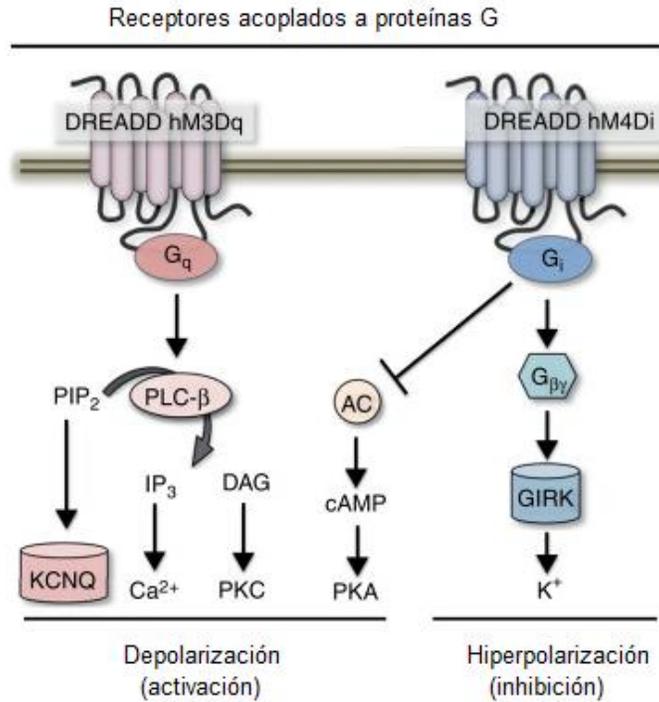


Figura 4. Diagrama de las diferentes vías de activación de acuerdo con el tipo de DREADD expresado. **A.** La activación de los receptores hM3Dq activa la fosfolipasa C beta (PLC-β), hidrolizando el 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol (PIP₂) en trifosfato de inositol (IP₃) y diacilglicerol (DAG), lo que conduce al aumento de los niveles de Ca²⁺ libre y la activación de la proteína quinasa C (PKC) o al cierre de los canales de KCNQ llevando a la despolarización y activación. **B.** La activación de los receptores hM4Di activa los canales de potasio rectificadores internos (GIRK) o inhiben la Adenilato Ciclasa (AC), que promueve la formación de AMPc y la activación de la Proteína Quinasa A (PKA) lo que produce hiperpolarización e inhibición (Wulff y Arenkiel, 2012).

Una particularidad de los DREADDs es que estos receptores ya no son afines al ligando endógeno, la acetilcolina, y solo presentan afinidad por compuestos sintéticos como la N-Óxido de Clozapina (CNO). El CNO es un compuesto no presente en el organismo, y que tiene la capacidad de activarlos selectivamente (Roth, 2016). La administración sistémica de CNO puede activar o inhibir in vivo a las células que expresen DREADDs (Roth y Marshall, 2012).

Una ventaja en el uso de los DREADDs es que su ligando CNO, cruza la barrera hematoencefálica (Manvich *et al.*, 2018), lo que permite la manipulación no invasiva de la actividad del receptor en el SNC mediante inyecciones intraperitoneales (Whissell *et al.*, 2016). Además, los DREADDs no exhiben actividad constitutiva y

su ligando CNO es farmacológicamente inerte en ausencia de DREADDs (Armbruster *et al.*, 2007). En resumen, los DREADDs ofrecen muchas de las ventajas de la optogenética, pero son más sencillos de implementar y en particular con los astrocitos, mimetizan de mejor manera las respuestas fisiológicas de estos (Xie *et al.*, 2015).

2.5 El procesamiento de la información sensorial

A través de la sensación, formamos una imagen inmediata y relevante del mundo y nuestro lugar en él. La sensación proporciona respuestas inmediatas a tres preguntas esenciales: ¿Hay algo ahí? ¿Qué es? y ¿Qué ha cambiado? Para responder a estas preguntas, todos los sistemas sensoriales realizan dos funciones fundamentales: detección y discriminación. Debido a que nuestro mundo y nuestras respuestas necesarias cambian con el tiempo, los sistemas sensoriales pueden responder y adaptarse a los estímulos cambiantes a corto plazo, y también aprender para modificar nuestras respuestas a los estímulos a medida que cambian nuestras necesidades y circunstancias.

El procesamiento de estímulos es iniciado por la activación de mecanorreceptores cutáneos en la superficie de la piel, esta información es llevada al sistema nervioso por vías ascendentes a través de la médula espinal, el tallo cerebral y el tálamo para llegar a la corteza somatosensorial en el lóbulo parietal (Abraira y Ginty, 2013). Todas las señales sensoriales inician como un potencial de receptor que requiere superar un nivel umbral en el potencial de membrana, en el caso de los receptores sensoriales, cuanto más se excede el umbral, mayor es la frecuencia de los potenciales de acción (Marzvanyan y Alhawaj, 2021). La intensidad de un estímulo será entonces codificada por la tasa de disparo de las neuronas sensoriales (Bewick y Banks, 2015).

Los receptores sensoriales se pueden clasificar de acuerdo con su adaptación en tónicos y fásicos. Los receptores de adaptación rápida o fásicos se activan rápidamente cuando se presenta un estímulo, pero su respuesta disminuye si se mantiene de manera continua, algunos ejemplos son los corpúsculos de Meissner

y Pacini (Fitzpatrick, 2004). Mientras que los receptores de adaptación lenta o tónicos generan una descarga sostenida en presencia de un estímulo, como los discos de Merkel y terminaciones de Ruffini (Gardner *et al.*, 2001). La codificación de la información con ambos receptores proporciona información sobre las cualidades dinámicas y estáticas de un estímulo (Fitzpatrick, 2004).

Como se muestra en la Figura 5, los potenciales de acción generados por estímulos táctiles son transmitidos a la médula espinal por axones sensoriales que se encuentran en los ganglios de la raíz dorsal, también conocidas como neuronas de primer orden. Posteriormente, las fibras aferentes primarias ascienden ipsilateralmente a través de las columnas dorsales, hasta el bulbo raquídeo, en donde contactan con neuronas de segundo orden localizadas en los núcleos grácil y cuneatos. Las proyecciones de estas neuronas decusan y ascienden hacia el tálamo en un haz de fibras llamado lemnisco medial que tienen una organización somatotópica (Fitzpatrick, 2004).

El núcleo ventral posterolateral del tálamo transmite estas aferencias a las corteza primarias y secundarias (Liao y Yen, 2008). La corteza somatosensorial está dividida en regiones que se pueden distinguir tanto anatómica como electrofisiológicamente en corteza primaria (S1) y secundaria (S2) (Brett-Green *et al.*, 2004). Ambas están organizadas somatotópicamente, con la representación de la cola ubicada más medialmente y las representaciones de las vibrisas ubicadas más lateralmente, además de que el área cortical que ocupa depende de la densidad de inervación de cada parte del cuerpo (Seelke *et al.*, 2012).

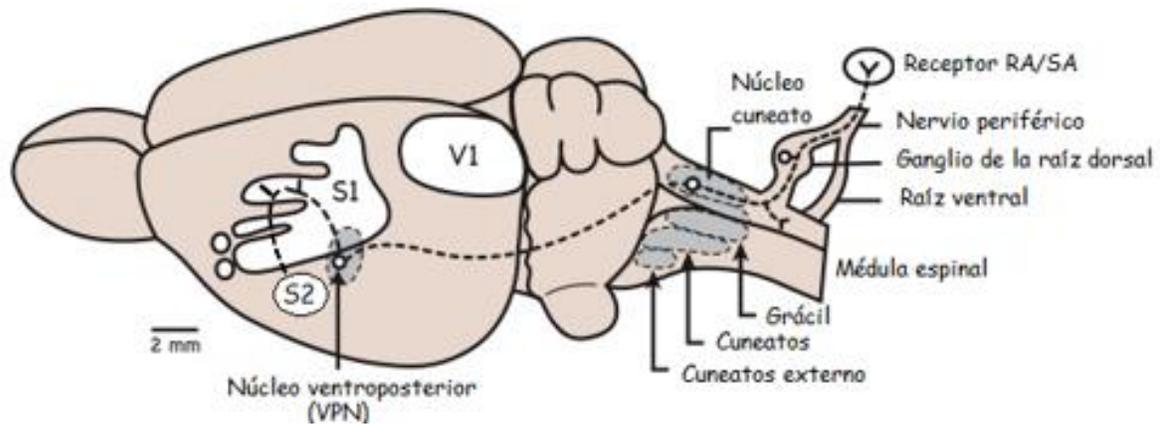


Figura 5. Resumen de la vía de procesamiento sensorial en roedores. Los axones de los nervios periféricos de los receptores de adaptación rápida o lenta (RA/SA) proyectan hacia el ganglio de la raíz dorsal y ascienden hacia el bulbo raquídeo en donde decusan para dirigirse al núcleo talámico Ventral Posterior (VPN) y posteriormente a las cortezas somatosensoriales (S1 y S2) (Adaptado de Ebner y Kaas, 2015).

En primates, las neuronas en S1 son capaces de diferenciar la presencia o ausencia del estímulo, sin embargo, no se asocian con el desempeño conductual en tareas de discriminación táctil (de Lafuente y Romo, 2005; Romo *et al.*, 2012). En estos experimentos, la capacidad de un animal de discriminar entre dos estímulos vibrotáctiles requiere del procesamiento de la información que se lleva a cabo en S2. Por ejemplo, en primates no humanos que desempeñan una tarea de discriminación vibrotáctil con dos estímulos vibrotáctiles de diferente frecuencia, las neuronas de S2 codifican la frecuencia del primer estímulo, pero durante el segundo, las respuestas de estas neuronas actúan en función tanto del estímulo recordado como del actual, correlacionándose con el desempeño conductual. Esto sugiere que pueden combinar la información sensorial de ambos estímulos para poder tomar una decisión (Romo *et al.*, 2002). De manera similar, en ratones se ha reportado que las neuronas en S1 codifican el estímulo en mayor grado que S2, mientras que la actividad de las neuronas de S2 refleja en mayor medida la percepción (Kwon *et al.*, 2016; Goldin *et al.*, 2018). Por lo que se ha propuesto que la interacción entre las cortezas S1 y S2 dan como resultado la percepción (Ackerley y Kavounoudias, 2015).

Sin embargo, el procesamiento de la información no es una propiedad exclusiva de las neuronas, sino que también la comparten con los astrocitos (Araque, 2008). La actividad sináptica puede ser integrada por los astrocitos que responden a esta con incrementos de Ca^{2+} (Perea y Araque, 2005), aunque también puede existir actividad espontánea independiente de la actividad sináptica (Guerra-Gomes *et al.*, 2018). En el caso del procesamiento de la información sensorial, profundizaremos en la siguiente sección sobre la evidencia acumulada que nos indica que los astrocitos tienen un papel importante en este proceso.

2.6 Los astrocitos participan en el procesamiento de la información sensorial

En particular, diversos grupos de trabajo han estudiado el efecto de la estimulación sensorial sobre las respuestas de Ca^{2+} de astrocitos en diferentes áreas de procesamiento de información sensorial como son la médula espinal (Cirillo *et al.*, 2012; Sekiguchi *et al.*, 2016), el bulbo olfatorio (Petzold *et al.*, 2008; Otsu *et al.*, 2015), la corteza visual (Schummers *et al.*, 2008; Sonoda *et al.*, 2018; Slezak *et al.*, 2019, López-Hidalgo *et al.*, 2016), la corteza de los barriles (Wang *et al.*, 2006; Schipke *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2012) y la corteza somatosensorial (Ghosh *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2016; Lines *et al.*, 2020). En estas regiones, las respuestas de Ca^{2+} de los astrocitos a estímulos sensoriales codifican las propiedades intrínsecas del estímulo. Además, se ha demostrado que estas respuestas de Ca^{2+} de los astrocitos corresponden topográficamente con los mapas neuronales (López-Hidalgo *et al.*, 2014, Ghosh *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2016). Esto sugiere que los astrocitos pueden regular la actividad de la red neuronal en respuesta a entradas sensoriales. Sin embargo, dado que estas respuestas pueden ser muy variables dependiendo de la región y de la especie no se comprenden del todo (López-Hidalgo *et al.*, 2017). Para una mejor comprensión de su participación en diferentes áreas que participan en el procesamiento sensorial profundizaremos en la evidencia acumulada en cada una de estas regiones.

2.6.1 Médula espinal

Estudios *in vivo* descritos en la médula espinal han mostrado que los astrocitos pueden responder a la estimulación eléctrica de la pata trasera con incrementos en los niveles de Ca^{2+} de los astrocitos del asta dorsal de la médula espinal (Cirillo *et al.*, 2012). Además, se ha reportado que neuronas y astrocitos en esta región se activan dependiendo de los estímulos cutáneos, en el caso de las neuronas su activación depende del tipo y la intensidad del estímulo codificado, mientras que en los astrocitos solo muestran respuestas de Ca^{2+} a estímulos sensoriales de mayor intensidad, sugiriendo un mayor umbral de activación (Sekiguchi *et al.*, 2016).

2.6.2 Corteza visual

En la corteza visual del hurón, los astrocitos responden de manera robusta a los estímulos visuales con incrementos de Ca^{2+} que muestran un retraso de 3 a 4 segundos en comparación con las neuronas, estas respuestas dependen de las características del estímulo y tienen muchas de las características de campo receptivo de las neuronas (Schummers *et al.*, 2008). De manera particular, estos campos receptivos espaciales se encuentran bien definidos y sintonizan su orientación y frecuencia espacial de manera todavía más específica que las neuronas (Schummers *et al.*, 2008).

En los experimentos realizados en la corteza visual del ratón, las respuestas de los astrocitos ante la estimulación sensorial no se asocian con las características de los estímulos visuales (Asada *et al.*, 2015, Paukert *et al.*, 2014). En contraste, se reportó que los astrocitos muestran respuestas robustas a los estímulos visuales solo cuando están realizando actividad locomotora y dependiente de la activación de entradas noradrenérgicas (Slezak *et al.*, 2019).

La evidencia en la literatura nos indica que los astrocitos corticales pueden integrar la información sensorial local, lo que sugiere un papel en el procesamiento de la información (Slezak *et al.*, 2019). Las contradicciones obtenidas entre diferentes especies podrían deberse a diferencias en el circuito neuronal y en la organización

de los astrocitos como ocurre en la corteza visual de ratones y hurones (López-Hidalgo *et al.*, 2017).

2.6.3 Bulbo olfatorio

Otras de las regiones sensoriales en donde se han observados respuestas de Ca^{2+} asociadas a los estímulos sensoriales es en el bulbo olfatorio. Aquí, las respuestas de Ca^{2+} de los astrocitos ante la estimulación del olor comienzan ~1s posterior al inicio del estímulo. Aquí, los astrocitos responden específicamente a uno o pocos olores como el tiglato de etilo y no respondieron al acetal y al ácido octanoico, lo que sugiere que son estimulados por el glutamato liberado solo en los glomérulos olfatorios activados (Petzold *et al.*, 2008). Estos incrementos se llevan a cabo en los procesos de los astrocitos, pero no en los somas, sugiriendo que, en este caso, los astrocitos actúan como reguladores potenciales del acoplamiento neurovascular (Otsu *et al.*, 2015).

2.6.4 Corteza somatosensorial

2.6.4.1 Corteza de los barriles

La información sensorial de las vibrisas en los roedores es transmitida para su procesamiento hacia unidades morfológicas bien definidas en la corteza somatosensorial primaria llamados barriles (Giaume *et al.*, 2009). Los astrocitos de esta región responden selectivamente a la estimulación táctil de las vibrisas con un aumento en la concentración de Ca^{2+} (Schipke *et al.*, 2008). Estas respuestas se activan de forma coordinada con las neuronas y son dependientes de la frecuencia de estimulación (Zhao *et al.*, 2012). El bloqueo de los receptores mGluR inhiben estos incrementos de Ca^{2+} , lo que sugiere que están mediados por la liberación sináptica de glutamato y la activación de mGluR en astrocitos (Wang *et al.*, 2006).

El diseño de nuevos sensores de Ca^{2+} con cinéticas de activación y desactivación más rápidas han permitido, contrario a los reportes previos, visualizar también respuestas rápidas en astrocitos de la corteza de los barriles (latencia ~120 ms) en los somas y procesos de los astrocitos (Lind *et al.*, 2013; Stobart *et al.*, 2018).

Abriendo las puertas a la posibilidad de una respuesta rápida en los astrocitos en otras modalidades sensoriales.

2.6.4.2 Corteza somatosensorial primaria y secundaria

Los astrocitos de S1 de roedores responden fielmente a la frecuencia, duración e intensidad de la estimulación y presentan una representación topográfica similar a la de las neuronas corticales (Ghosh *et al.*, 2013). Como consecuencia de esto pueden modular la actividad neuronal disminuyendo la actividad gamma y aumentando su rango dinámico (Lines *et al.*, 2020).

En sentido integral, podemos decir que la percepción implica la interpretación de un estímulo sensorial que es procesado a través de áreas sensoriales organizadas jerárquicamente (de Lafuente y Romo, 2006). El paso de la sensación a la decisión depende de la actividad neuronal de diferentes estructuras corticales como S1 y S2 (Kwon *et al.*, 2016). En este sentido, S2 se considera como un área de procesamiento superior que envía proyecciones de retroalimentación a través de S1 y S2 críticas para la percepción (Minamisawa *et al.*, 2018) y conexiones recíprocas desde S2 con la corteza motora primaria (M1) a través de neuronas corticoespinales y su convergencia con la médula espinal (Suter y Shepherd, 2015). Sin embargo, la participación de los astrocitos y su influencia en el circuito neuronal relacionado con la percepción del estímulo es aún desconocido. Es así, que en este trabajo nos planteamos analizar la participación de los astrocitos sobre la actividad neuronal inducida por la estimulación sensorial en la corteza somatosensorial secundaria.

3. HIPÓTESIS

Los astrocitos de la corteza somatosensorial secundaria participan en el procesamiento de la información sensorial modulando el estado de la red neuronal.

4. OBJETIVOS

4.1 General

Analizar la participación de los astrocitos en la modulación de la red neuronal durante el procesamiento de información sensorial en la corteza somatosensorial secundaria.

4.2 Particulares

1. Caracterizar las respuestas neuronales de la corteza somatosensorial primaria (S1) producidas por estímulos somatosensoriales.
2. Caracterizar las respuestas neuronales de la corteza somatosensorial secundaria (S2) producidas por estímulos somatosensoriales.
3. Caracterizar las respuestas neuronales a estímulos somatosensoriales en la corteza somatosensorial secundaria (S2) durante la activación de los astrocitos con DREADDs.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Animales

Todos los procedimientos fueron llevados a cabo de acuerdo con las normas y lineamientos éticos de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y del NIH "Guide for the Care and Use of Experimental Animals". Se usaron ratones adultos jóvenes hembra y macho de la cepa C47BL/6 de 2 meses de edad donde el desarrollo ha finalizado, los cuales fueron obtenidos del Bioterio del Instituto de Neurobiología. Los ratones fueron alojados en cajas, a una temperatura de 24°C, y ventilación constante. Se mantuvieron con ciclos de luz y oscuridad (12/12) con agua y comida ad libitum.

5.2 Cirugía estereotáxica

Los ratones fueron anestesiados con isoflurano (1%) y fijados en un estereotáxico con una almohadilla térmica para mantenerlos a 37°C. Pevio a la incisión de la piel, se les inyectó lidocaína sobre la zona y se removi6 esta de la parte superior del cráneo. Se realizaron dos craneotomías para exponer el área correspondiente a la pata delantera de la corteza somatosensorial primaria S1 (AP = 0.38 mm, ML = 2.5 mm, DV = 0.5 mm) y secundaria S2 (AP = -0.5 mm, ML = 4 mm, DV = 1-2 mm respecto a Bregma) las cuales fueron verificadas inyectando 100 nl del trazador lipofílico 1,1'-Dioctadecyl-3,3,3', Perclorato de 3'-tetrametilindocarbocianina (Dil) con un capilar de vidrio acoplado a una picobomba en las coordenadas correspondientes a S1 para observar las proyecciones hacia S2.

5.3 Registro electrofisiológico y estimulación eléctrica

Se obtuvieron registros extracelulares unitarios de los ratones previamente anestesiados utilizando electrodos de borosilicato que contenían NaCl (2M), con una resistencia de 4-6 MΩ. Las señales eléctricas fueron amplificadas con un equipo de Axo-Clamp para la adquisición y el sistema pClamp 10 para la visualización de datos. Los registros se digitalizaron y se usaron filtros de 0.3Hz-10kHz. Los sitios

de registro se identificaron a través de la activación del campo receptivo periférico de la pata delantera contralateral. Para la estimulación eléctrica se usaron electrodos subdérmicos por los que se aplicaron dos protocolos: el primero que consistió en trenes de pulsos con una duración de 1 ms, de una intensidad entre 0.1-1mA y con frecuencias de 5, 10, 20, 30 y 40 Hz, para analizar la respuesta provocada ante la estimulación repetida a diferentes frecuencias.

En el segundo protocolo, se realizaron registros extracelulares multiunitarios con multielectrodos de 32 canales distribuidos en 4 peines (8 contactos cada uno) con una separación de 25 μm (NeuroNexus Technologies). Para el análisis de la respuesta provocada durante la adaptación se usaron trenes de pulsos (1ms, intensidad entre 0.1-1mA, a una frecuencia de 5 Hz) con una duración de 600ms, 800 ms, 1 segundo y 2 segundos durante diferentes tiempos.

5.4 Quimiogenética

Los ratones usados para el grupo experimental fueron anestesiados con isoflurano y fijados en un estereotáxico con una almohadilla térmica para mantenerlos a una temperatura corporal de 37°C, con flujo constante de isoflurano (1%). Se realizó una incisión en la línea media de la cabeza del animal, exponiendo el cráneo para realizar dos trepanos en el área correspondiente a la pata delantera de S1 (AP = 0.38 mm, ML = 2.5 mm, DV = 0.5 mm) y S2 (AP = -0.5 mm, ML = 4 mm, DV = 1-2 mm respecto a Bregma). Posteriormente, con ayuda de un capilar de borosilicato acoplado a una picobomba, se realizó la inyección de los vectores virales (500 nl en 15 min) para el monitoreo de las señales de Ca^{2+} (AAV-GFAP-GCaMP6f) y la inducción de incrementos de Ca^{2+} de los astrocitos (pAAV-GFAP-hM3D(Gq)-mCherry). Estos virus fueron inyectados tanto en S1 como en S2 y su expresión se estableció en las 3 semanas posteriores a su inyección. Para la activación de los DREADDs, se inyectó por vía intraperitoneal, el ligando N-óxido de clozapina (CNO) 15 min antes de cada experimento para observar su efecto.

5.5 Inmunofluorescencia

Con el fin de verificar los sitios de inyección de los vectores virales, los animales se sacrificaron con pentobarbital y se perfundieron con paraformaldehído (PFA), posteriormente se extrajeron los cerebros, y se obtuvieron rebanadas de 50 μm utilizando el criostato Leica 3050S. Los tejidos fueron colocados en PB, bloqueados con 0.5% Tritón X-100 y 4% suero de cabra NGS e incubados durante 48 horas con anticuerpos primarios. Para el marcaje de las neuronas se utilizó mouse anti-NeuN (1:1500, Millipore, MAB377) y para astrocitos se utilizó rabbit anti-Aldehído Deshidrogenasa (anti-ALDH) (1:500). Posteriormente, se incubaron con los anticuerpos secundarios Alexa Fluor 488 anti-rabbit (1:500, Thermo Fisher Scientific, A11008) y Alexa Fluor 647 anti-mouse (1:500, Thermo Fisher Scientific, A21235), en una solución 0.5% Tritón X-100 Y 4% NGS en agitación constante. Los tejidos fueron montados con SlowFade Gold Antifade Mountant (Thermo Fisher Scientific, S36937) y las secciones se visualizaron con un microscopio Apotome Zeiss (Axio Imager) y se analizaron con el software Zen 3.3.

5.6 Adquisición de imágenes de calcio

Se utilizaron ratones previamente inyectados en S2 con el vector viral AAV5 que contiene el promotor específico para astrocitos (GFAP) y el indicador de calcio genéticamente codificado (GCaMP6f) (AAV5-GFAP2.2-GCaMP6f). La señal de calcio de los astrocitos se adquirió utilizando el microscopio miniatura de fluorescencia (Miniscope V4). Para el análisis de calcio se calculó el dF/F determinándose como basal el promedio de la fluorescencia registrada durante 20 min de actividad espontánea por cada Región de Interés (ROI). Las regiones de interés se hicieron de manera manual con ayuda del software FIJI y la inspección visual del video. Los ROIs seleccionados tuvieron un diámetro aproximado de entre 50 y 150 μm . Las imágenes se grabaron en archivos AVI sin comprimir a través de un Sistema de Adquisición de Datos (DAQ) para ser analizados en el Software Fiji.

5.7 Análisis datos

Para el análisis de los registros extracelulares unitarios tomamos la actividad de cada neurona expresada en eventos por segundo (Hz). Posteriormente, clasificamos la actividad neuronal registrada en: actividad espontánea (AE, 200 ms previos a la estimulación); la actividad provocada, que corresponde a los 25 ms posteriores al estímulo en el campo receptivo y la post descarga (PD), los últimos 200 ms del tren de estimulación (Figura 6).

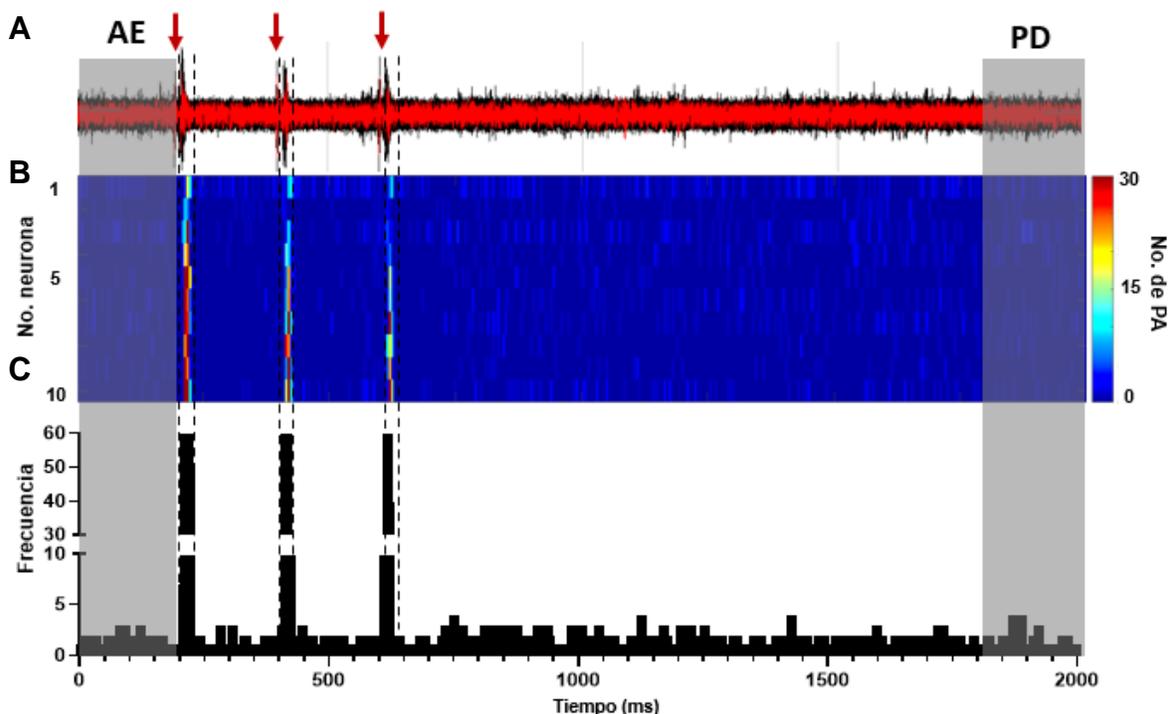


Figura 6. Análisis de las respuestas somatosensoriales de las neuronas de S1. A. Registro representativo de una neurona de S1 en donde se señala en un recuadro gris la actividad espontánea (AE) y la post descarga (PD). La estimulación del campo receptivo se indica con una flecha. Las líneas punteadas indican los 25 ms tomados de la respuesta provocada. **B.** Mapa de color en donde se representa la sumatoria de los potenciales de acción por cada bin (5 ms) de a lo largo del tiempo. Los colores cálidos indican un mayor número de potenciales de acción respecto a los colores fríos. **C.** Histograma peri-estímulo correspondiente a los 25 ms tomados de la actividad provocada.

Para su representación gráfica se usaron mapas de color donde en el eje de las X se encuentran cada una de las neuronas registradas y en el eje de las Y la sumatoria de los potenciales de acción por cada bin (5 ms) de a lo largo del tiempo. En la barra de color, los colores cálidos indican un mayor número de potenciales de acción respecto a los colores fríos. Además, se realizaron histogramas, donde cada barra indica la frecuencia en que ocurre un potencial de acción en el tiempo por cada bin (5 ms).

Para el análisis de los registros extracelulares multiunitarios la respuesta provocada se normalizó como el cambio en la actividad neuronal con respecto a la respuesta neuronal provocada con el primer estímulo. La respuesta se dividió con base en su latencia de respuesta en latencia temprana (que consistía en los primeros 50 ms) y tardía (150 ms posteriores) de cada intervalo (AE, P1, P2 y P3) como se muestra en uno de los histogramas representativos de la Figura 7.

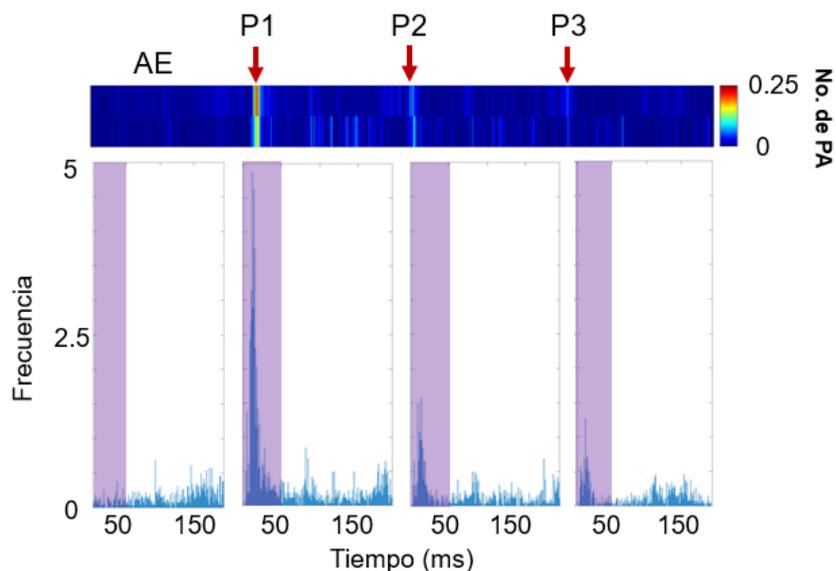


Figura 7. Análisis de las respuestas neuronales de latencia temprana y tardía provocada por estímulos sensoriales de neuronas de S2. A. Mapa de color representativo de una neurona de S2 en donde se indican con flechas el momento de la estimulación del campo receptivo (5Hz). **B.** Histograma peri-estímulo del ejemplo mostrado en A en donde se muestra la respuesta provocada temprana (los primeros 50 ms, recuadro gris) y la actividad tardía (los 150 ms posteriores, recuadro violeta).

Para el análisis del cambio provocado por la activación de los astrocitos, evaluamos el valor de la pendiente resultante de la línea de regresión lineal obtenida de la respuesta provocada por la estimulación sensorial en los diferentes pulsos, estos valores fueron graficados y posteriormente comparados.

5.6 Análisis estadístico

Se realizó la prueba de normalidad Shapiro-Wilk para determinar las pruebas estadísticas más adecuadas para la comparación entre grupos. Para los análisis longitudinales se utilizó una prueba T pareada o una ANOVA de medidas repetidas dependiendo de si se analizaron dos o más grupos (respectivamente). Para el análisis estadístico de datos no paramétricos se realizó la prueba Kruskal-Wallis. Se consideró como significativo una $p \leq 0.05$.

6. RESULTADOS

Con el fin de analizar la actividad neuronal provocada por estímulos somatosensoriales en S1 y S2, primero identificamos las coordenadas de S1 y S2 correspondientes a las patas delanteras. Para esto inyectamos el trazador liposoluble Dil en S1 (Figura 8A), de acuerdo con las coordenadas del Atlas de Allen (AP = 0.38 mm, ML = 2.5 mm, DV = 0.5 mm). Tres semanas posteriores a la inyección, la marca del colorante (rojo), se puede observar en S1 (Figura 8B) y en la región lateral de la corteza en el sitio que coincide con S2 (AP = -1.06 mm, ML = 4 mm, DV = 1-2 mm con respecto a Bregma) (Figura 8D).

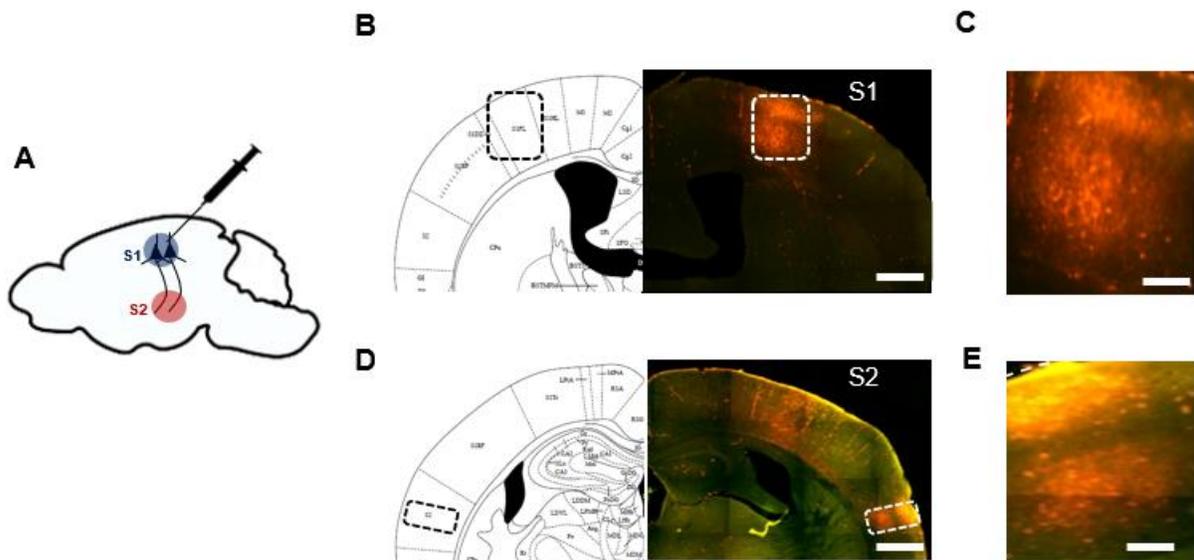


Figura 8. Identificación de las coordenadas de las proyecciones de la región S1 de las patas delanteras hacia la región de S2. A. Paradigma de inyección. Se realizaron inyecciones de trazador retrógrado en el área correspondiente en S1 y se analizó su proyección hacia S2. **B.** Diagrama de un corte coronal del Atlas de Allen en donde se indica con un recuadro el área que corresponde a la pata delantera de la corteza S1 (**B**) y S2 (**D**) Barra de calibración de 1mm. Acercamiento del área de S1 (**C**) y S2 (**E**) en donde se observa la marca del trazador. Barra de calibración de 0.5 mm.

6.1 Caracterización de las respuestas neuronales de S1 producidas por estímulos somatosensoriales.

El procesamiento de la información sensorial llega a S1 en donde las neuronas codifican la presencia de un estímulo, mientras que en S2 la respuesta de las neuronas esta más asociada con el desempeño conductual (Liao y Chen, 2008; LaFuente y Romo, 2005). Para estudiar el papel de los astrocitos durante el procesamiento sensorial, primero caracterizamos las respuestas neuronales inducidas por la estimulación de la pata delantera contralateral a la craneotomía en S1 utilizando registros extracelulares unitarios en ratones anestesiados con protocolos de estimulación eléctrica a diferentes frecuencias (5 Hz, 10 Hz, 20 Hz, 30 Hz y 40 Hz) (Figura 9A). Cuantificamos la actividad espontánea, la actividad provocada y la post descarga para conocer el estado de la red antes, durante y después de la estimulación somatosensorial (Figura 9B) (ver Metodología).

La actividad espontánea se refiere a las actividades intrínsecas que no son propiamente una respuesta provocada a algún estímulo externo (Liu et al., 2022). Para conocer el estado de la red en condiciones basales, comparamos la actividad espontánea de S1 y S2. El promedio de los potenciales de acción durante la actividad espontánea presenta una mayor actividad en S2 en comparación con S1 (Figura 9C) lo que nos indica que el patrón de actividad neuronal intrínseca entre ambos circuitos es diferente.

La estimulación prolongada puede inducir que las neuronas presenten un grado de adaptación dependiendo de los parámetros de estimulación como la frecuencia (Ahissar et al. 2001). Para analizar el efecto de la estimulación somatosensorial repetida sobre la actividad neuronal, aplicamos protocolos de diferente frecuencia para observar la dinámica con diferentes tiempos inter-estímulo. En este caso, ajustamos una curva de decaimiento por cada respuesta neuronal registrada y representamos esta dinámica graficando únicamente los primeros tres pulsos de cada protocolo. Como podemos observar en la Figura 9D-9H, hay una disminución significativa de la actividad neuronal respecto al primer estímulo conforme aumenta la frecuencia de estimulación (estimulación >20Hz). Esto nos sugiere que en S1

existen mecanismos de adaptación que disminuye la respuesta de las neuronas. Posteriormente, caracterizamos la dinámica con la que se adaptan las respuestas a estímulos somatosensoriales, por lo que calculamos la constante de decaimiento exponencial (Tau) ajustando una curva y se obtiene el tiempo en el que decae el 63% de la respuesta provocada de cada neurona registrada (Figura 9I). Como se puede observar en la Figura 9J, la Tau va disminuyendo significativamente conforme aumenta la frecuencia lo que nos indica que, a frecuencias mayores, más rápido decae la respuesta sensorial.

Finalmente, nos preguntamos cómo cambia el circuito neuronal posterior a la estimulación sensorial con la finalidad de conocer la plasticidad de corto plazo en estos circuitos. Para esto comparamos la actividad espontánea y la post descarga de S1 y S2. Como podemos observar en la Figura 9K-L, no hubo una diferencia significativa entre la actividad espontánea y la post descarga tanto en S1 como en S2, lo que nos sugiere que los cambios generados por la estimulación somatosensorial son temporales y que ambos circuitos regresan a su actividad basal.

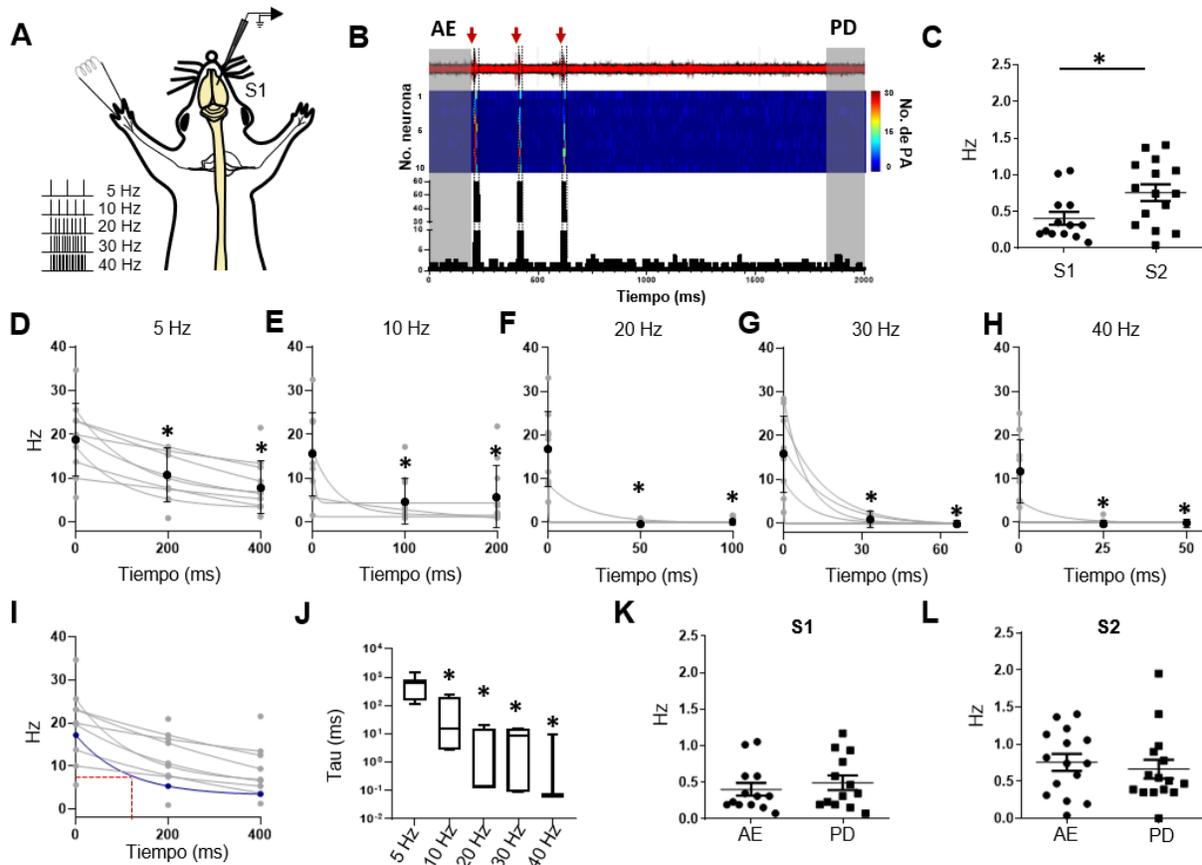


Figura 9. Caracterización del estado de la red antes, durante y después de la estimulación somatosensorial en S1. **A.** Esquema experimental del registro extracelular unitario realizado en S1 durante los protocolos de estimulación eléctrica a diferentes frecuencias. **B.** Representación de los intervalos usados en el análisis de datos. Representada la AE (Actividad espontánea), con flechas los 25 ms posteriores al estímulo y la PD (Post descarga). **C.** Comparación de la actividad espontánea entre S1 y S2. ($n=13$ en S1 y $n=15$ en S2, Prueba t de Student ($p=0.0253$)). **D-H.** Comparación de la actividad provocada 25 ms después del estímulo a diferentes frecuencias (5-40 Hz) ($n=13$, Prueba ANOVA medidas repetidas ($p<0.05$)). **I.** Diagrama representativo para la obtención de la constante de decaimiento exponencial (Tau) de una neurona representada en azul. **J.** Gráfica de decaimiento exponencial de cada protocolo de estimulación a diferentes frecuencias (Prueba Kruskal-Wallis ($p<0.05$)). **K-L.** Comparación de la actividad espontánea y post descarga entre S1 y S2. Prueba t pareada ($p=0.3404$ y $p=0.3813$).

6.2 Caracterización de las respuestas neuronales de S2 producidas por estímulos somatosensoriales.

Una vez caracterizados los mecanismos adaptativos en S1, decidimos caracterizar de manera más detallada esta adaptación en S2. Para esto seleccionamos solo el protocolo de 5Hz y cambiamos la duración del tren de estimulación de 2 pulsos con una duración de 600 ms hasta un tren de 9 pulsos con una duración de 2 segundos (Figura 10A). Posteriormente graficamos la dinámica de cada neurona a través del tiempo, como podemos ver la respuesta neuronal disminuye en comparación con el primer estímulo en cada uno de los protocolos. De acuerdo con los resultados descritos anteriormente, podemos decir que ambos circuitos (S1 y S2), se adaptan después de una estimulación repetida.

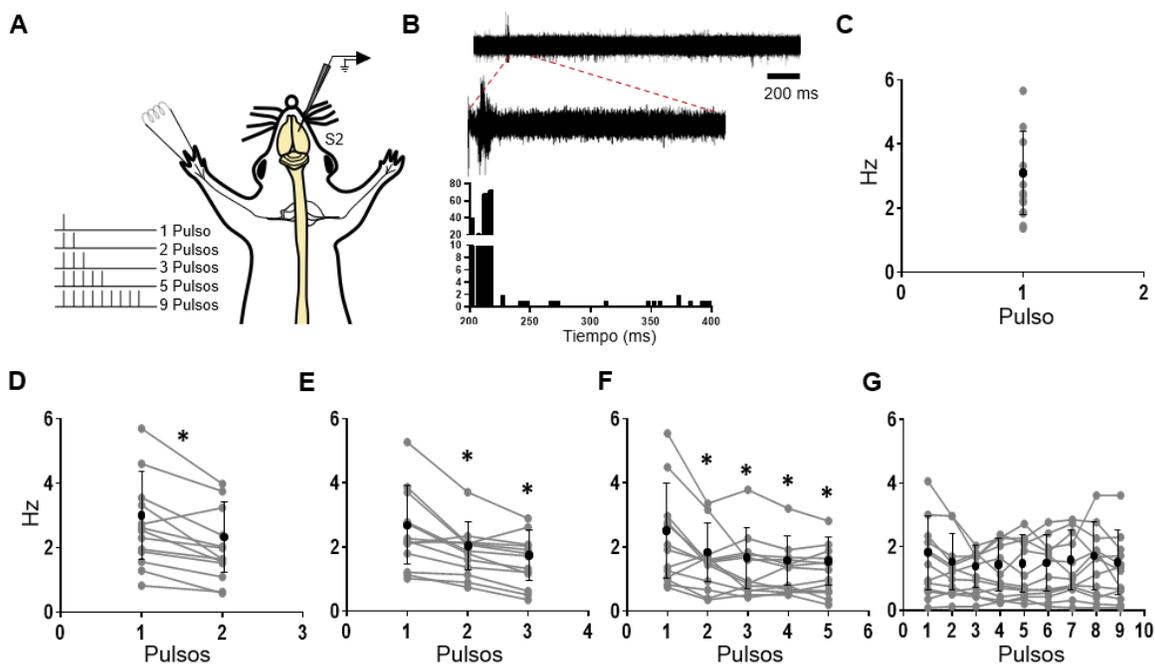


Figura 10. Caracterización de la adaptación sensorial en neuronas de S2. A. Esquema experimental del registro extracelular unitario en S2 durante los protocolos de estimulación eléctrica a 5 Hz con diferente duración. B. Representación de los intervalos usados en el análisis de datos. En la parte superior un registro crudo donde se señalan los 200 ms posteriores al estímulo, con un acercamiento y su histograma correspondiente. C-G. Respuesta provocada en neuronas de S2 usando protocolos de estimulación de la misma frecuencia, con diferente número de pulsos (n=13). Prueba t pareada para protocolo de dos pulsos, Prueba ANOVA medidas repetidas para protocolo de tres pulsos en adelante (p<0.05).

6.3 Caracterización de las respuestas neuronales a estímulos somatosensoriales en S2 durante la activación de los astrocitos con DREADDs.

Varias líneas de evidencia han demostrado que los astrocitos responden a estímulos somatosensoriales (Ghosh et al., 2013; Zhang et al., 2016; Lines et al., 2020). Para analizar la participación de los astrocitos en el procesamiento sensorial, incrementamos los niveles de Ca^{2+} usando la expresión de DREADDs en los astrocitos a través de la inyección en la corteza somatosensorial secundaria del vector viral pAAV-GFAP-hM3D(Gq)-mCherry que contiene un promotor GFAP (específico para astrocitos) y que codifica el receptor muscarínico M3 humano fusionado a mCherry (Figura 11A). Después de tres semanas, corroboramos la expresión de los DREADDs en los astrocitos mediante inmunofluorescencia para la identificación de Neuronas (NeuN) y la visualización de DREADDs a través del reporte mCherry (Figura 11B-C). Como podemos observar en el corte coronal mCherry no colocaliza con NeuN, además de que la morfología de las células que expresan el reportero es característica de un astrocito (Figura 11D), lo que nos indica que la expresión de los DREADDs es exclusiva en astrocitos.

Previamente se ha reportado que la activación de astrocitos con CNO aumenta la amplitud de las ondas de Ca^{2+} , así como la probabilidad de estos eventos (Chen et al., 2016; Martin-Fernandez et al., 2017; Adamsky et al., 2018; Cavaccini et al., 2020; Van Den Herrewegen et al., 2021). Por lo que caracterizamos la dinámica temporal de la activación de astrocitos, analizando la respuesta de Ca^{2+} en los astrocitos tras la aplicación de CNO. Para esto, se tomaron imágenes de Ca^{2+} en ratones anestesiados previamente inyectados para expresar DREADDs y el sensor de Ca^{2+} GCaMP6f (Figura 11E). La dinámica de Ca^{2+} en astrocitos se monitoreó 15 minutos antes y una hora después de la inyección intraperitoneal de CNO (1mg/kg). Como se muestra en el mapa de color, las oscilaciones de Ca^{2+} son periódicas (Figura 11F). Para hacer un análisis más detallado, se cuantificó y graficó el promedio de la amplitud de las respuestas de Ca^{2+} (Figura 11 G), que representa el cambio en la señal de fluorescencia con relación a la fluorescencia basal (dF/F). Se

considero como fluorescencia basal a la actividad espontánea de Ca^{2+} de los astrocitos de S2 10 min previos a la inyección intraperitoneal de CNO. Como podemos observar, la activación de los astrocitos con CNO produce incrementos en la amplitud de los eventos de Ca^{2+} desde los 20 minutos, que tienen una duración de una hora.

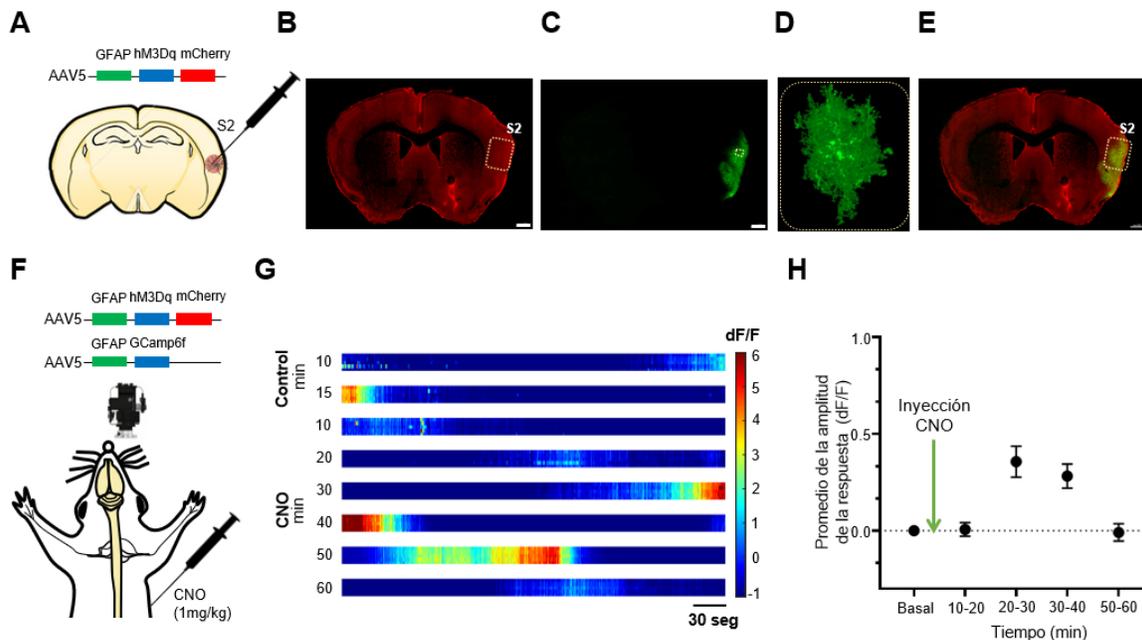


Figura 11. La activación de DREADDs con CNO induce incrementos de calcio en astrocitos de S2. **A** Diagrama experimental de la expresión de DREADDs en astrocitos de S2 a través del vector viral pAAV-GFAP-hM3D(Gq)-mCherry. **B** Corte coronal representativo positivo a NeuN donde esta señalado en el recuadro el área correspondiente a S2. Barra de calibración 500 micras. **C** Expresión de DREADDs bajo el promotor GFAP. Barra de calibración 500 micras. **D** Acercamiento donde se observa la morfología de un astrocito. Barra de calibración 20 micras. **E** Co-localización de ambas imágenes. Barra de calibración 500 micras. **F** Diagrama experimental de la expresión de DREADDs y el sensor de calcio GCaMP6f para la obtención de imágenes de calcio. **G** Mapa de color representativo de la dinámica de Ca^{2+} antes y después de la inyección de CNO. **H** Cuantificación del promedio de la amplitud de las respuestas de Ca^{2+} (dF/F), con una flecha se indica el momento de la inyección de CNO.

En el caso del procesamiento sensorial, se ha reportado que los astrocitos de S1 pueden codificar las características intrínsecas del estímulo sensorial como la duración y la frecuencia, así como modular la actividad neuronal provocada sensorialmente (Lines et al., 2020). Sin embargo, en la actualidad la participación

de los astrocitos en S2 permanece desconocida. Lo que nos llevó a caracterizar las respuestas neuronales provocadas por estímulos somatosensoriales en S2 durante la activación de los astrocitos. Para esto, realizamos registros extracelulares multiunitarios, aplicando el protocolo de estimulación sensorial de 5 Hz con tres pulsos en la pata delantera y activando a los astrocitos con la inyección de CNO (Figura 12A). Posteriormente, promediamos la actividad neuronal durante: la actividad espontánea (AE) y los 200 ms posteriores al estímulo durante cada pulso, mostrados en el eje de las X (descrito en Metodología), mientras que el tiempo transcurrido antes y después de la inyección lo representamos en el eje Y. Como podemos ver, se observa un aumento en la respuesta provocada entre los 30 y 50 minutos después de la inyección de CNO (Figura 12B).

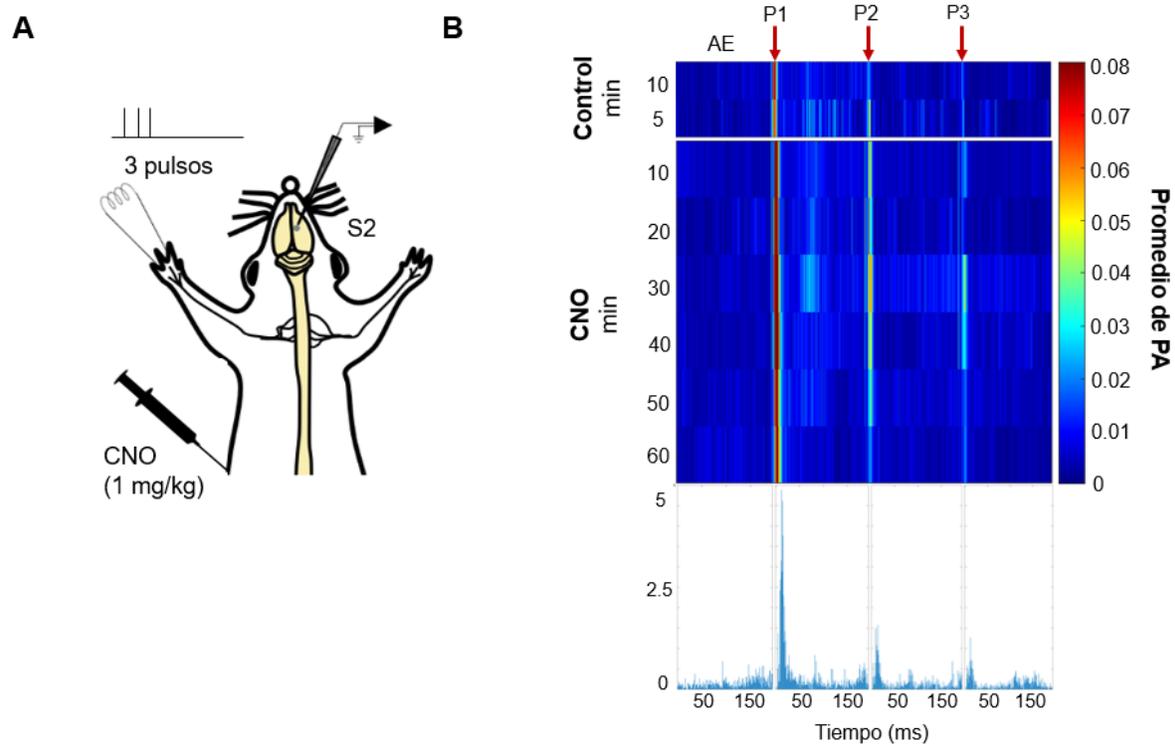


Figura 12. La activación de DREADDs en astrocitos induce un aumento en las respuestas provocadas por estímulos somatosensoriales en neuronas de S2. A Esquema experimental del registro extracelular multiunitario en S2 durante el protocolo de estimulación eléctrica a 5 Hz con 3 pulsos y la inyección intraperitoneal de CNO. **B** Mapa de color con el promedio de la respuesta provocada por estímulos somatosensoriales en neuronas de S2 antes y después de la inyección de CNO en los intervalos analizados: AE actividad espontánea, la actividad provocada después de los 200 ms de cada estímulo (P1, P2 y P3). n = 50.

Para analizar la actividad neuronal provocada por estímulos sensoriales, la clasificamos de acuerdo con su latencia en respuesta de latencia temprana a los 50 ms que corresponde con la respuesta provocada inmediata (Figura 13A) y la respuesta de latencia tardía que puede reflejar la actividad reverberante del circuito a través de conexiones recíprocas entre las cortezas somatosensoriales (S1-S2) y motoras (M1) (Figura 13F). Para una mejor representación, graficamos la dinámica poblacional de la respuesta a través de un histograma de frecuencias durante el control y cada 30 minutos posteriores a la aplicación de CNO. Como se puede observar, durante la respuesta de latencia temprana (Figura 13B), no se observan cambios la actividad espontánea, es decir, la activación de los astrocitos no modifica la actividad espontánea. Sin embargo, en el caso de la actividad provocada (Figura 13C-E), el CNO aumenta la respuesta provocada a los 30 minutos durante la presentación de los 3 pulsos, representado por el desplazamiento de la línea amarilla hacia la derecha. Además, esta actividad regresa a su condición inicial después de una hora, lo que podría estar indicando que la activación de los astrocitos por la administración de CNO no altera el estado de excitabilidad del circuito, sino que actúa directamente sobre las respuestas a los estímulos somatosensoriales.

Por otro lado, en la respuesta de latencia tardía podemos ver que posterior a la aplicación de CNO, la actividad espontánea disminuye, es decir, se desplaza hacia la izquierda desde los primeros 10 minutos, el cual es máximo a los 30 minutos y regresar hacia la línea control una hora después (Figura 13G). Sin embargo, no se observan cambios en la actividad provocada por la estimulación sensorial. Esto nos indica que la activación de astrocitos en S2 en la respuesta de latencia tardía puede disminuir la actividad espontánea, es decir, reducir la excitabilidad del estado basal del circuito sin modificar la actividad provocada. Lo que nos sugiere que puede haber una reducción de la actividad reverberante del circuito que no tiene un efecto directo sobre las respuestas provocada ante estímulos somatosensoriales.

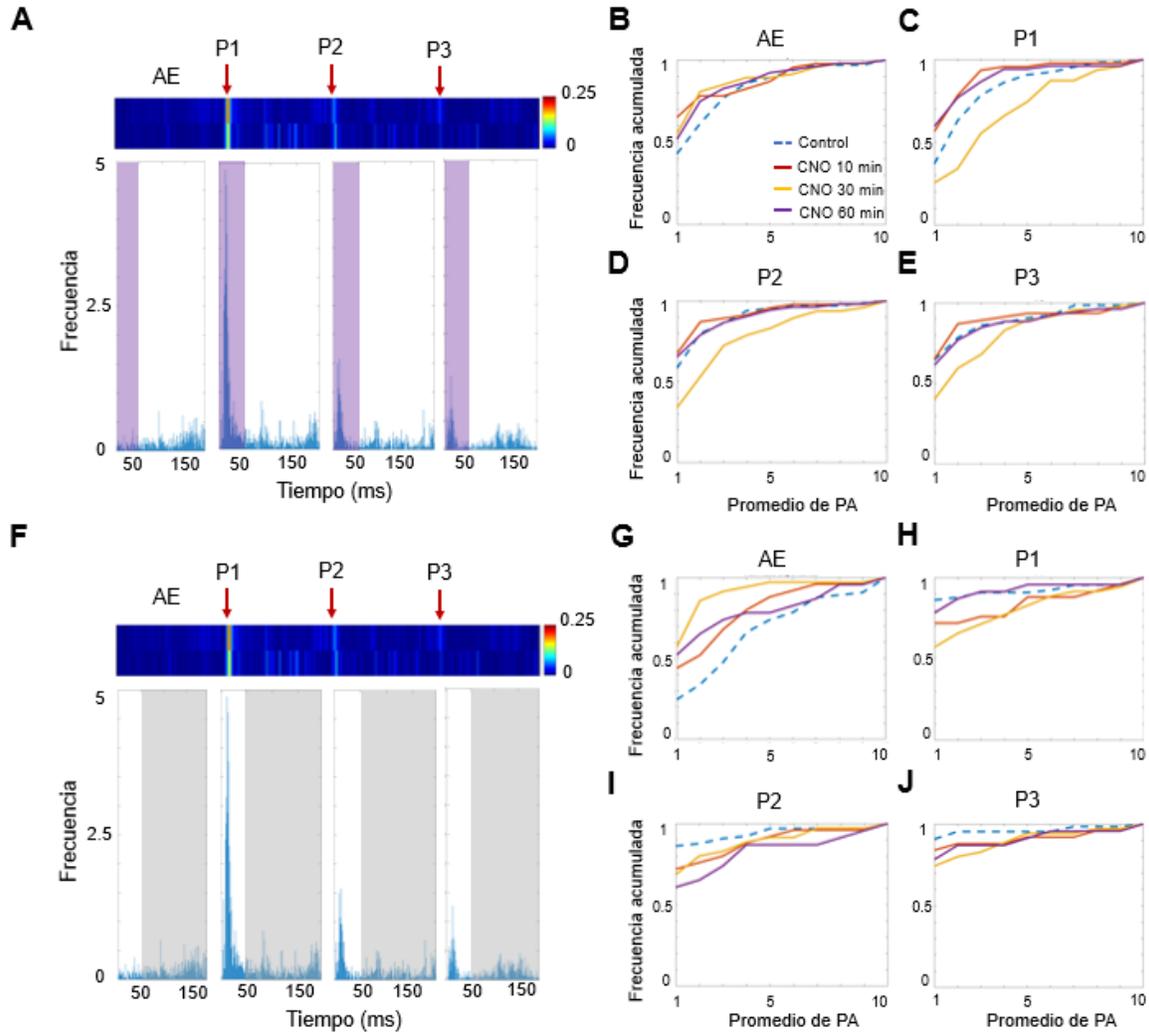


Figura 13. La activación de astrocitos aumenta la actividad provocada por estímulos somatosensoriales durante la respuesta de latencia temprana y disminuye la actividad espontánea durante la respuesta de latencia tardía en neuronas de S2. A Mapa de color con su respectivo histograma peri-estímulo donde se indica la actividad neuronal correspondiente a la respuesta de latencia temprana (primeros 50 ms) indicados en morado de cada uno de los intervalos usados: actividad espontánea (AE), pulso 1 (P1), pulso 2 (P2) y pulso 3 (P3). **B-E** Histogramas de frecuencia acumulada correspondientes a la actividad espontánea (AE) (B), pulso 1 (P1) (C), Pulso 2 (P2) (D), Pulso 3 (P3) (E) en las diferentes condiciones (Control representado por la línea azul punteada, CNO 10 min representado por la línea roja, CNO 30 min representado por la línea amarilla y CNO 1 hr representado por la línea morada). **F** Mapa de color con su respectivo histograma peri-estímulo donde se indica la actividad neuronal correspondiente a la respuesta de latencia tardía (siguientes 150 ms) indicados en gris de cada uno de los intervalos usados: actividad espontánea (AE), pulso 1 (P1), pulso 2 (P2) Y pulso 3 (P3). **G-J** Histogramas de frecuencia acumulada correspondientes a la actividad espontánea (AE) (B), pulso 1 (P1) (C), Pulso 2 (P2) (D), Pulso 3 (P3) (E) en las diferentes condiciones (Control representado por la línea azul punteada, CNO 10 min representado por la línea roja, CNO 30 min representado por la línea amarilla y CNO 1 hr representado por la línea morada).

Para evaluar si había cambios en la adaptación sensorial durante la activación de los astrocitos, graficamos la actividad neuronal durante la estimulación somatosensorial y ajustamos una línea de regresión lineal para obtener los valores de la pendiente resultante de este patrón de decaimiento antes y 30 minutos después de la administración de CNO que es cuando se observó un máximo en la actividad neuronal provocada (Figura 14A-B). Posteriormente graficamos los valores de la pendiente en cada condición (Figura 14C), como podemos observar la administración de CNO disminuyó la pendiente de la línea de ajuste que representa la dinámica de la respuesta provocada, lo que demuestra que hubo un aumento significativo de la adaptación sensorial con la activación de los astrocitos.

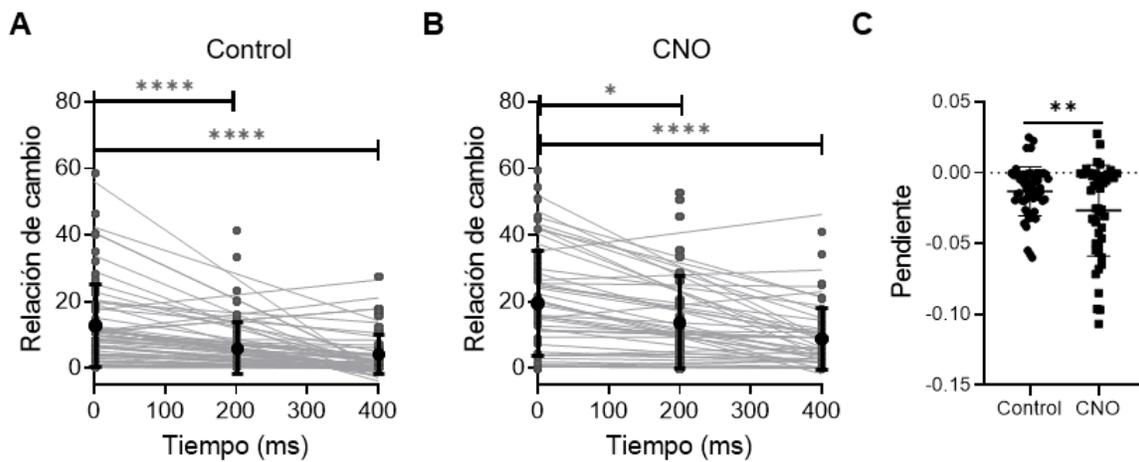


Figura 14. La activación de los astrocitos disminuye la adaptación sensorial en neuronas de S2. **A.** Respuesta provocada en neuronas de S2 usando el protocolo de estimulación de 5 Hz antes de la administración de CNO. Prueba ANOVA medidas repetidas. **B.** Respuesta provocada en neuronas de S2 usando el protocolo de estimulación de 5 Hz 30 minutos después de la administración de CNO. Prueba ANOVA medidas repetidas. **C.** Comparación de la pendiente de las líneas de ajuste en la condición control y con CNO. Prueba t de Student ($p = 0.0065$). $n = 50$.

7. DISCUSIÓN

Durante el procesamiento de información sensorial, S1 está involucrada en la codificación de las características del estímulo y se comunica con otras regiones de orden superior como S2 para poder formar la percepción (Helmchen et al., 2018). En este sentido, nos enfocamos en caracterizar, a través de registros electrofisiológicos, los patrones de actividad en las redes neuronales de S1 y S2 generados durante la estimulación somatosensorial para poder conocer la participación de los astrocitos durante el procesamiento sensorial utilizando enfoque quimiogénico para la activación de estos.

En S1, observamos que la respuesta a estímulos sensoriales disminuye significativamente conforme se aplican frecuencias más altas (Figura 9D-H). Este proceso de atenuación de las respuestas después de una estimulación repetida es una característica común en el procesamiento sensorial a la que se le llama adaptación sensorial y ha sido ampliamente reportado en todos los sistemas sensoriales (Nicoletti, 2002). Sin adaptación cada neurona codificaría una respuesta por cada estímulo recibido en un tiempo determinado, por lo que la relación entrada-salida sería lineal y limitaría el rango dinámico de las salidas (Whitmire y Stanley, 2016). Con la adaptación, la función de entrada-salida se ajusta para cambiar el rango respuesta de la neurona al estímulo que es más relevante, lo que resulta en una codificación más eficiente (Díaz-Quesada y Maravall, 2008). Por lo que su función es la de ajustar la sensibilidad mediante la reducción de la capacidad de respuesta a la estimulación ambiental que se traduce como una mejor adaptación al cambio (Wark et al., 2007).

En el sistema somatosensorial, la adaptación neuronal se observa en todas las etapas del procesamiento sensorial. En la periferia, los receptores participan en la percepción dependiendo de la frecuencia del estímulo. Los receptores fásicos o de adaptación rápida se activan inmediatamente cuando se presenta un estímulo y luego permanecen silentes en respuesta a la estimulación constante, sirviendo para detectar los cambios en la información que el receptor reporta (Fitzpatrick, 2004).

Las terminaciones encapsuladas, como los corpúsculos de Meissner y Pacini, se adaptan rápidamente y dependen de fibras sensoriales A α y A β (Vega et al., 2009). Los corpúsculos de Meissner son sensibles a bajas frecuencias (5-40 Hz), se encuentran justo debajo de la epidermis y tienen campos receptivos pequeños; mientras que los corpúsculos de Pacini son sensibles a frecuencias más altas (60-300 Hz), están localizados en lo profundo de la dermis y tienen campos receptivos difusos (Harrington y Hunter, 2001). Por otro lado, los receptores de adaptación lenta o tónica generan una descarga sostenida en presencia de un estímulo continuo, dando información sobre la persistencia de un estímulo, para en conjunto brindar información sobre las cualidades dinámicas como estáticas de un estímulo (Feher, 2012). En este caso los discos de Merkel, en la superficie de la epidermis y los corpúsculos de Ruffini, en la dermis, se adaptan lentamente (Fitzpatrick, 2004).

A través de toda la vía existen otros relevos a distintos niveles incluidas las proyecciones desde la médula espinal hasta el cerebelo en los que la respuesta se puede adaptar. En particular, en S1 la adaptación aumenta a lo largo del tren de estimulación y es más fuerte conforme aumenta la frecuencia (Kheradpezhouh et al., 2019), lo que es consistente con nuestros resultados (Figura 9J). Además, se ha descrito que esta adaptación y su posterior recuperación depende del curso temporal de la estimulación, en donde una estimulación de corto tiempo produce una adaptación rápida mientras que una estimulación prolongada puede producir formas de adaptación más lentas y duraderas (Chung y Nelson, 2002).

Para explicar el fenómeno de adaptación se han sugerido diversos mecanismos que involucran la modulación de corrientes iónicas como corrientes de K⁺ dependientes de voltaje (corrientes de tipo M) (Wang y Li, 2016; Ha y Cheong, 2017), las corrientes de K⁺ activadas por Ca²⁺ y por Na⁺ (Reijntjes et al., 2019) y la recuperación lenta de la inactivación de los canales de Na⁺ que llevan a un aumento en el umbral de disparo (Venkatesan et al., 2014). También se relaciona esta adaptación con plasticidad sináptica como la depresión a corto plazo que modula la entrada sináptica dando lugar a la adaptación para implementar el control de ganancia (Abbott, 1997). Este mecanismo de plasticidad sináptica se debe a una disminución

en los neurotransmisores presináptico, además de una reducción en la probabilidad de liberación (Beck et al., 2005). En este sentido, varios autores han propuesto que este mecanismo contribuye en mayor medida a la depresión de las sinapsis excitatorias corticales (Castro-Alamancos, 2004; Heiss et al., 2008; Adibi y Lampl, 2021). Asimismo, la depresión a corto plazo podría modular los circuitos corticales llevando a la adaptación de las respuestas sensoriales a través de la disminución de las entradas talamocorticales que reduce la excitación del circuito (Chung y Nelson, 2002; Chung et al., 2013; Whitmire y Stanley, 2016). Recientemente se ha sugerido que, en la corteza somatosensorial primaria, los circuitos inhibitorios están involucradas en la adaptación de la entrada sensorial (Quon et al., 2018).

Además de determinar que la adaptación en S1, nos enfocamos en conocer si S2 presentaba las mismas características. Para esto aplicamos un protocolo de estimulación de una sola frecuencia (5Hz) durante un tiempo prolongado. En esta región se observó una disminución de la respuesta (Figura 10D-G). Si bien, ambas cortezas presentan mecanismos de adaptación, es importante mencionar que podrían tener una aportación diferente dependiendo de la función de la corteza somatosensorial en la que suceda, es decir, en S1 está más asociado a la codificación más eficiente de la presencia de estímulos novedosos, mientras que en S2 podría estar más relacionada con su papel como corteza de asociación que permita un mejor desempeño cognitivo.

En este sentido se ha reportado que en S2 las características de las respuestas neuronales son más complejas. En un estudio donde se analizó la respuesta de neuronas individuales en S2, Burton y Sinclair (1991), encontraron que las entradas provenientes de los corpúsculos de Meissner y Pacini se organizan en regiones distintas, de estas células, la mayoría respondió mayormente a frecuencias más bajas (10-30 Hz) y sus respuestas se redujeron significativamente a frecuencias > 30 Hz. Posteriormente, Romo y de Lafuente (2013), observaron que las neuronas en S2 no representan la estructura temporal del estímulo y sugieren que la presencia de poblaciones neuronales dependientes de la frecuencia contribuye a la discriminación. Finalmente, en S2 las neuronas no solo dependen de las

características intrínsecas del estímulo, sino también del contexto. En este sentido, un estudio reciente caracterizó las respuestas neuronales y las clasificó en neuronas que responden invariablemente al estímulo sensorial y en otro grupo de neuronas especializado en codificar categóricamente la identidad del estímulo dependiente del contexto (Rossi-Pool et al., 2021).

De manera complementaria, S2 esta densamente interconectada ya que posee proyecciones de S1 hacia S2 y M1 (Aronoff et al., 2010) y de manera recíproca de S2 a S1 (Suter y Shepherd, 2015) con una somatotopia invertida en espejo (Hubatz et al., 2020). De manera interesante, S2 no solo posee esas inervaciones, sino que también recibe proyecciones directas del tálamo, tiene conexiones recíprocas de manera contralateral y muestran campos receptivos bilaterales (Schluppeck y Francis, 2015). Lo que en su conjunto nos sugiere que S2 es una región donde existe una gran variabilidad en las poblaciones neuronales que le permiten que la información sensorial se traduzca en percepción.

Con el fin de estudiar el efecto de la activación de los astrocitos en la dinámica de estos circuitos neuronales, usamos un enfoque quimiogénico para modificar la actividad de Ca^{2+} de los astrocitos para investigar si contribuyen a la adaptación sensorial cortical. Para esto nos basamos en evidencia previa sobre la actividad de Ca^{2+} fisiológica en astrocitos. Se ha reportado que los astrocitos responden a la estimulación sensorial con incrementos de Ca^{2+} que tienen un retraso de entre 300 ms y 10 segundos (Gu et al., 2018; Lines et al., 2020), dependiendo de la frecuencia y la intensidad de estimulación, estos eventos de Ca^{2+} son duraderos (~1 seg) y se acumulan (Gu et al., 2018). Esta dinámica se puede dirigir a través de la expresión del receptor diseñado hM3Dq que se activa con su ligando CNO. Se ha reportado que la activación quimiogénica de los astrocitos aumenta tanto la amplitud de las ondas de Ca^{2+} como la probabilidad de eventos (Chen et al., 2016; Martín-Fernández et al., 2017; Adamsky et al., 2018; Cavaccini et al., 2020; Van Den Herrewegen et al., 2021). De manera específica, se han observado en el soma y arborizaciones (Chai et al., 2017; Durkee et al., 2019) con una duración de hasta una hora (Lines et al., 2020; Iwai et al., 2021)

Con la finalidad de delimitar el estudio, elegimos dos periodos importantes: la Actividad Espontánea (AE), para saber si los astrocitos modifican el estado de la red en general y las respuestas provocadas, si es que los astrocitos únicamente modifican la respuesta al estímulo. Anteriormente la AE era considerada como ruido y se pensaba que no tenía influencia en las respuestas provocadas. Sin embargo, más recientemente se ha sugerido que agregar una cantidad óptima de ruido a una señal subumbral permite que la señal cruce un umbral y por lo tanto mejorar significativamente la capacidad de detección de estímulos táctiles (Manjarrez *et al.*, 2003; van der Groen *et al.*, 2008).

La activación de los astrocitos en S2 no modificó la AE durante la respuesta temprana, mientras que incrementó la actividad provocada a los 30 minutos (Figura 13). En S2 no se encontraron antecedentes sobre la influencia de la activación de los astrocitos en la actividad de la red neuronal provocada sensorialmente, sin embargo, se ha reportado que su activación mejora la transmisión sináptica tanto excitatoria como inhibitoria, dependiendo de la célula diana, a través de la activación de los receptores mGluR en el caso de la corteza visual (Perea *et al.* 2014). Por lo que, la activación de los astrocitos puede incrementar las respuestas provocadas a través de mecanismos como la liberación de glutamato que activa los receptores NMDA en neuronas presinápticas y promueve una mayor comunicación excitatoria (Jourdain *et al.* 2017). Esta liberación también puede aumentar la probabilidad de liberación de neurotransmisores mediante la activación de receptores mGluR y receptores ionotrópicos de glutamato en neuronas presinápticas (Perea y Araque, 2007; Nadkarni y Levine, 2008; Bonansco *et al.*, 2011).

Por otro lado, en la respuesta de latencia tardía podemos ver que la actividad espontánea disminuye (Figura 13G), lo que nos indica que hubo una disminución de la excitabilidad del estado basal del circuito. En este sentido, además de glutamato, los astrocitos también liberan ATP que a su vez deprime la transmisión sináptica excitatoria (Panatier *et al.*, 2011; Araque *et al.*, 2014). En conjunto, esta señalización inhibitoria de los astrocitos podría inducir una disminución de la actividad espontánea que a su vez delimite la respuesta sensorial provocada

(Hartmann et al., 2015). Se sabe que las conexiones reverberantes determinan la relación entre los patrones de actividad espontánea y provocada (Han et al., 2008), por lo que una reducción de estas podría disminuir la variabilidad de la respuesta a un mismo estímulo (Neri, 2010).

Para evaluar si los astrocitos modifican la adaptación sensorial, comparamos la pendiente de la dinámica de decaimiento que habíamos observado previamente (Figura 10) durante la administración de CNO. Nuestros resultados muestran que la activación de los astrocitos de S2 aumenta la adaptación sensorial ante estímulos sostenidos. Los astrocitos pueden modificar la adaptación sensorial a través de mecanismos relacionados con la modulación de circuitos inhibitorios. En este sentido, se ha demostrado que los astrocitos regulan la actividad inhibitoria de las interneuronas (Quon *et al.*, 2018). Las interneuronas GABAérgicas son importantes mediadores de la excitabilidad de las neuronas que es fundamental para mantener una actividad adecuada de la red (Tremblay et al., 2016). En la corteza visual los astrocitos son reclutados por interneuronas y modulan la señalización inhibitoria para controlar el tono inhibitorio del circuito, sugiriendo un papel en la regulación fina de la adaptación (Henriques *et al.*, 2022). En la corteza somatosensorial, los astrocitos pueden regular la actividad inhibitoria produciendo una depresión sináptica y la liberación de neuromoduladores como la serotonina que está involucrada con la adaptación de las entradas sensoriales (Quon *et al.* 2018).

Estudios previos indican que a través de estos mecanismos los astrocitos pueden modular los circuitos neuronales a niveles más complejos para integrar la información sensorial funcionalmente. En este sentido, se ha sugerido que los astrocitos regulan la actividad de la red neuronal provocada sensorialmente, maximizando su rango dinámico a través de mecanismos de adaptación sensorial (Lines *et al.*, 2020) y que pueden mejorar el rendimiento durante tareas de discriminación táctil a través de la inhibición tónica (Kwak *et al.*, 2020). Por lo que proponemos que la activación de los astrocitos en S2 puede contribuir a una mejor percepción de los estímulos sensoriales a través de mecanismos que permiten una codificación más eficiente y que a su vez tiene un impacto en la mejora del

desempeño conductual en tareas relacionadas con la agudeza sensorial como la discriminación táctil.

8. CONCLUSIONES

Nuestros resultados demostraron que la activación de los astrocitos en S2 induce incrementos de Ca^{2+} citoplasmático que disminuyen la actividad espontánea y aumentan la actividad provocada durante el periodo de latencia temprana mientras que durante la latencia tardía disminuye la actividad espontánea. Además, al comparar la dinámica de adaptación de las neuronas al estímulo somatosensorial encontramos que la activación de los astrocitos en S2 provoca un aumento de la adaptación sensorial. Esto nos lleva a concluir que los astrocitos de la corteza somatosensorial secundaria participan en el procesamiento de la información sensorial modulando la actividad neuronal provocada a través de mecanismos que influyen en la adaptación sensorial. Si bien se necesitan más estudios para relacionar estos mecanismos con su influencia en la fisiología sensorial, nos abre la puerta a futuras investigaciones para conocer de qué manera pueden los astrocitos contribuir a una mejor percepción de los estímulos sensoriales y mejorar el desempeño conductual durante tareas de discriminación táctil.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbott, L. F. (1997). Synaptic Depression and Cortical Gain Control. *Science*, 275(5297), 221–224. doi:10.1126/science.275.5297.221.

Abraira, V. E., & Ginty, D. D. (2013). The sensory neurons of touch. *Neuron*, 79(4), 618–639. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.07.051>.

Ackerley, R., & Kavounoudias, A. (2015). The role of tactile afference in shaping motor behaviour and implications for prosthetic innovation. *Neuropsychologia*, 79(Pt B), 192–205.

Adamsky, A., Kol, A., Kreisel, T., Doron, A., Ozeri-Engelhard, N., Melcer, T., Refaeli, R., Horn, H., Regev, L., Groysman, M., London, M., Goshen, I. (2018). Astrocytic Activation Generates De Novo Neuronal Potentiation and Memory Enhancement. *Cell*, 174(1), 59-71. e14. doi: 10.1016/j.cell.2018.05.002.

Adibi, M., & Lampl, I. (2021). Sensory Adaptation in the Whisker-Mediated Tactile System: Physiology, Theory, and Function. *Frontiers in neuroscience*, 15, 770011. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.770011>.

Ahissar E., Sosnik R., Bagdasarian K., Haidarliu S. (2001) Temporal frequency of whisker movement. II. Laminar organization of cortical representations. *Journal of Neurophysiology*, 86: 354-367.

Allen, N. J., & Eroglu, C. (2017). Cell Biology of Astrocyte-Synapse Interactions. *Neuron*, 96(3), 697–708.

Araque A., Carmignoto G., Haydon P. G., Oliet S. H. R., Robitaille R., Volterra A. (2014) Gliotransmitters travel in time and space. *Neuron*, 81:728–739. doi:10.1016/j.neuron.2014.02.007.

Araque A., Parpura V., Sanzgiri R. P., Haydon P. G. (1999) Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends in Neurosciences*. 22(5):208-15.

Araque A. (2008). Astrocytes process synaptic information. *Neuron glia biology*, 4(1), 3–10. <https://doi.org/10.1017/S1740925X09000064>.

- Armbruster B. N., Li X., Pausch M. H., Herlitze S., Roth B. L. (2007). Evolving the lock to fit the key to create a family of G protein-coupled receptors potently activated by an inert ligand. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(12), 5163–5168. <https://doi.org/10.1073/pnas.0700293104>.
- Aroeira, R. I., Sebastião, A. M., & Valente, C. A. (2014). GlyT1 and GlyT2 in brain astrocytes: expression, distribution and function. *Brain structure & function*, 219(3), 817–830. <https://doi.org/10.1007/s00429-013-0537-3>.
- Aronoff, R., Matyas, F., Mateo, C., Ciron, C., Schneider, B., Petersen, C. C. H. (2010). Long-range connectivity of mouse primary somatosensory barrel cortex. *European Journal of Neuroscience*, 31(12), 2221–2233.
- Asada, A., Ujita, S., Nakayama, R., Oba, S., Ishii, S., Matsuki, N., Ikegaya, Y. (2015). Subtle modulation of ongoing calcium dynamics in astrocytic microdomains by sensory inputs. *Physiological reports*, 3(10), e12454.
- Baldwin, K. T., & Eroglu, C. (2017). Molecular mechanisms of astrocyte-induced synaptogenesis. *Current opinion in neurobiology*, 45, 113–120.
- Batiuk, M. Y., Martirosyan, A., Wahis, J., de Vin, F., Marneffe, C., Kusserow, C., Koeppen, J., Viana, J. F., Oliveira, J. F., Voet, T., Ponting, C. P., Belgard, T. G., Holt, M. G. (2020). Identification of region-specific astrocyte subtypes at single cell resolution. *Nature Communications*, 11(1).
- Bazargani, N., & Attwell, D. (2016). Astrocyte calcium signaling: the third wave. *Nature Neuroscience*, 19, 182–189.
- Beck, O., Chistiakova, M., Obermayer, K., Volgushev, M. (2005) Adaptation at synaptic connections to layer 2/3 pyramidal cells in rat visual cortex. *Journal of Neurophysiology*, 94, 363-376.
- Bellot-Saez, A., Kékesi, O., Morley, J., Buskila, Y. (2017). Astrocytic modulation of neuronal excitability through K⁺ spatial buffering. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 77, 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.03.002>.

Bergersen, L. H. (2007). Is lactate food for neurons? Comparison of monocarboxylate transporter subtypes in brain and muscle. *Neuroscience*, 145, 11–19.

Bewick, G. S., & Banks, R. W. (2015). Mechanotransduction in the muscle spindle. *Pflügers Archiv: European journal of physiology*, 467(1), 175–190. <https://doi.org/10.1007/s00424-014-1536-9>.

Boddum, K., Jensen, T. P., Magloire, V., Kristiansen, U., Rusakov, D. A., Pavlov, I., & Walker, M. C. (2016). Astrocytic GABA transporter activity modulates excitatory neurotransmission. *Nature Communications*, 7(1).

Bonansco, C., Couve, A., Perea, G., Ferradas, C. Á., Roncagliolo, M., Fuenzalida, M. (2011). Glutamate released spontaneously from astrocytes sets the threshold for synaptic plasticity. *European Journal of Neuroscience*, 33(8), 1483-1492.

Bouteiller, J. M., & Berger, T. W. (2015). Tripartite Synapse (Neuron–Astrocyte Interactions), Conductance Models. In *Encyclopedia of Computational Neuroscience* (pp. 1–4). Springer New York.

Brett-Green, B., Paulsen, M., Staba, R. J., Fifková, E., Barth, D. S. (2004). Two distinct regions of secondary somatosensory cortex in the rat: topographical organization and multisensory responses. *Journal of neurophysiology*, 91(3), 1327–1336.

Bushong E. A., Martone M. E., Jones Y. Z., Ellisman M. H. (2002). Protoplasmic astrocytes in CA1 stratum radiatum occupy separate anatomical domains. *Journal of Neuroscience*, 22, 183–192.

Carver, C. M., & Shapiro, M. S. (2019). Gq-Coupled Muscarinic Receptor Enhancement of KCNQ2/3 Channels and Activation of TRPC Channels in Multimodal Control of Excitability in Dentate Gyrus Granule Cells. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 39(9), 1566–1587. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1781-18.2018>.

Castro-Alamancos, M. A. (2004). Dynamics of sensory thalamocortical synaptic networks during information processing states. *Progress in Neurobiology*, 74, 213–247. doi: 10.1016/j.pneurobio.2004.09.002.

Chai, H., Diaz-Castro, B., Shigetomi, E., Monte, E., Oceau, J., Yu, X., Cohn, W., Rajendran, P. S., Vondriska, T. M., Whitelegge, J. P., Coppola, G., Khakh, B. S. (2017). Neural Circuit-Specialized Astrocytes: Transcriptomic, Proteomic, Morphological, and Functional Evidence. *Neuron*, 95(3), 531–549.e9. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.06.029>.

Chen, N., Sugihara, H., Kim, J., Fu, Z., Barak, B., Sur, M., Feng, G., Han, W. (2016). Direct modulation of GFAP-expressing glia in the arcuate nucleus bi-directionally regulates feeding. *Elife*, 5. doi: 10.7554/elife.18716.

Chung, S., Li, X., & Nelson, S. B. (2002). Short-Term Depression at Thalamocortical Synapses Contributes to Rapid Adaptation of Cortical Sensory Responses In Vivo. *Neuron*, 34(3), 437–446.

Chung, Y. G., Kim, J., Han, S. W., Kim, H. S., Choi, M. H., Chung, S. C., Park, J. Y., Kim, S. P. (2013). Frequency-dependent patterns of somatosensory cortical responses to vibrotactile stimulation in humans: A fMRI study. *Brain Research*, 1504, 47–57.

Cirillo, G., De Luca, D., & Papa, M. (2012). Calcium Imaging of Living Astrocytes in the Mouse Spinal Cord following Sensory Stimulation. *Neural Plasticity*, 2012, 1–6.

Davila, D., Thibault, K., Fiacco, T. A., Agulhon, C. (2013). Recent molecular approaches to understanding astrocyte function in vivo. *Frontiers in cellular neuroscience*, 7, 272.

de Lafuente, V., & Romo, R. (2005). Neuronal correlates of subjective sensory experience. *Nature neuroscience*, 8(12), 1698–1703. <https://doi.org/10.1038/nn1587>.

de Lafuente, V., & Romo, R. (2006). Neural correlate of subjective sensory experience gradually builds up across cortical areas. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences of the United States of America, 103(39), 14266–14271.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0605826103>.

Diaz-Quesada, M., & Maravall, M. (2008). Intrinsic Mechanisms for Adaptive Gain Rescaling in Barrel Cortex. *Journal Of Neuroscience*, 28(3), 696-710. doi: 10.1523/jneurosci.4931-07.2008.

Ding, F., O'Donnell, J., Thrane, A. S., Zeppenfeld, D., Kang, H., Xie, L., Wang, F., Nedergaard, M. (2013). α 1-Adrenergic receptors mediate coordinated Ca²⁺ signaling of cortical astrocytes in awake, behaving mice. *Cell calcium*, 54(6), 387–394.

Dobrzanski, G., & Kossut, M. (2017). Application of the DREADD technique in biomedical brain research. *Pharmacological Reports*, 69(2), 213–221.
<https://doi.org/10.1016/j.pharep.2016.10.015>.

Duebel, J., Marazova, K., & Sahel, J. A. (2015). Optogenetics. *Current opinion in ophthalmology*, 26(3), 226–232.

Durkee, C., Covelo, A., Lines, J., Kofuji, P., Aguilar, J., & Araque, A. (2019). G i/o protein-coupled receptors inhibit neurons but activate astrocytes and stimulate gliotransmission. *Glia*, 67(6), 1076-1093. doi: 10.1002/glia.23589.

Ebner, F. F., & Kaas, J. H. (2015). Somatosensory System. *The Rat Nervous System*, 675–701. doi:10.1016/b978-0-12-374245-2.00024-3.

Farhy-Tselnicker, I., & Allen, N. J. (2018). Astrocytes, neurons, synapses: a tripartite view on cortical circuit development. *Neural development*, 13(1), 7.
<https://doi.org/10.1186/s13064-018-0104-y>.

Feher, J. (2012). Cutaneous Sensory Systems. *Quantitative Human Physiology*, 321–331. doi:10.1016/b978-0-12-382163-8.00035-9.

Fitzpatrick D. (2004). Sensation and sensory processing. En: Purves D., Augustine G.J., Fitzpatrick D., Hall W.C., LaMantia A.S., McNamara J.O. y Williams S.M., Ed. *Neuroscience*. USA, Sinauer Associates: 189-208.

Franke, H., Verkhratsky, A., Burnstock, G., Illes, P. (2012). Pathophysiology of astroglial purinergic signalling. *Purinergic signalling*, 8(3), 629–657. <https://doi.org/10.1007/s11302-012-9300-0>.

Fujii, Y., Maekawa, S. & Morita, M. (2017). Astrocyte calcium waves propagate proximally by gap junction and distally by extracellular diffusion of ATP released from volume-regulated anion channels. *Scientific Reports*, 7, 13115.

Gandolfi, D., Bigiani, A., Porro, C. A., Mapelli, J. (2020). Inhibitory Plasticity: From Molecules to Computation and Beyond. *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1805. <https://doi.org/10.3390/ijms21051805>

Gardner E.P., Martin J.H. & Jessell T.L. (2001). Los sentidos corporales. En: Kandel ER, Schwartz JH y Jessell TM, Ed. *Principios de Neurociencia*. Reino Unido, McGraw Hill: 430-450.

Ghirardini, E., Wadle, S. L., Augustin, V., Becker, J., Brill, S., Hammerich, J., Seifert, G., Stephan, J. (2018). Expression of functional inhibitory neurotransmitter transporters GlyT1, GAT-1, and GAT-3 by astrocytes of inferior colliculus and hippocampus. *Molecular brain*, 11(1), 4.

Ghosh A., Wyss M. T., & Weber B. (2013). Somatotopic astrocytic activity in the somatosensory cortex. *Glia*, 61, 601–610. [10.1002/glia.22458](https://doi.org/10.1002/glia.22458).

Giaume, C., & Liu, X. (2012). From a glial syncytium to a more restricted and specific glial networking. *Journal of Physiology-Paris*, 106(1–2), 34–39

Giaume, C., Maravall, M., Welker, E., Bonvento, G. (2009). The barrel cortex as a model to study dynamic neuroglial interaction. *The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology, and psychiatry*, 15(4), 351–366.

Goldin, M. A., Harrell, E. R., Estebanez, L., Shulz, D. E. (2018). Rich spatio-temporal stimulus dynamics unveil sensory specialization in cortical area S2. *Nature Communications*, 9(1).

González-Arias C., & Perea G. (2019) Gliotransmission at Tripartite Synapses. In: De Pittà M., Berry H. (eds) Computational Glioscience. Springer Series in *Computational Neuroscience*. Springer, Cham.

Gould, T., Chen, L., Emri, Z., Pirttimaki, T., Errington, A. C., Crunelli, V., Parri, H. R. (2014). GABA(B) receptor-mediated activation of astrocytes by gamma-hydroxybutyric acid. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 369(1654), 20130607. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0607>

Gu, X., Chen, W., Volkow, N., Koretsky, A., Du, C., Pan, Y. (2018). Synchronized Astrocytic Ca²⁺ Responses in Neurovascular Coupling during Somatosensory Stimulation and for the Resting State. *Cell Reports*, 23(13), 3878-3890. doi: 10.1016/j.celrep.2018.05.091

Guček, A., Vardjan, N., & Zorec, R. (2012). Exocytosis in Astrocytes: Transmitter Release and Membrane Signal Regulation. *Neurochemical Research*, 37(11), 2351–2363.

Guerra-Gomes, S., Sousa, N., Pinto, L., & Oliveira, J. F. (2018). Functional Roles of Astrocyte Calcium Elevations: From Synapses to Behavior. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11.

Guizzetti, M., Moore, N. H., VanDeMark, K. L., Giordano, G., Costa, L. G. (2011). Muscarinic receptor-activated signal transduction pathways involved in the neurotogenic effect of astrocytes in hippocampal neurons. *European journal of pharmacology*, 659(2-3), 102–107.

Ha, G. E., & Cheong, E. (2017). Spike Frequency Adaptation in Neurons of the Central Nervous System. *Experimental neurobiology*, 26(4), 179–185. <https://doi.org/10.5607/en.2017.26.4.179>.

Halassa, M. M., Fellin, T., Takano, H., Dong, J. H., Haydon, P. G. (2007). Synaptic islands defined by the territory of a single astrocyte. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(24), 6473–6477. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1419-07.2007>.

- Hansen, D. B., Garrido-Comas, N., Salter, M., Fern, R. (2015). HCO₃⁻-independent pH Regulation in Astrocytes in Situ Is Dominated by V-ATPase. *Journal of Biological Chemistry*, 290(13), 8039–8047.
- Harrington, G. S., & Hunter Downs III, J. (2001). fMRI mapping of the somatosensory cortex with vibratory stimuli. *Brain Research*, 897(1-2), 188–192. doi:10.1016/s0006-8993(01)02139-4.
- Hartmann, C., Lazar, A., Nessler, B., Triesch, J. (2015). Where's the Noise? Key Features of Spontaneous Activity and Neural Variability Arise through Learning in a Deterministic Network. *PLOS Computational Biology*, 11(12), e1004640. doi: 10.1371/journal.pcbi.1004640.
- Heiss, J. E., Katz, Y., Ganmor, E., Lampl, I. (2008). Shift in the balance between excitation and inhibition during sensory adaptation of s1 neurons. *Journal Of Neuroscience*, 28, 13320–13330. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2646-08.2008.
- Helmchen, F., Gilad, A., & Chen, J. L. (2018). Neocortical dynamics during whisker-based sensory discrimination in head-restrained mice. *Neuroscience*, 368, 57–69.
- Henriques, V., Chiavegato, A., Carmignoto, G., & Gómez-Gonzalo, M. (2022). Astrocytes Modulate Somatostatin Interneuron Signaling in the Visual Cortex. *Cells*, 11(9), 1400. doi: 10.3390/cells11091400
- Herlitze, S., & Landmesser, L. T. (2007). New optical tools for controlling neuronal activity. *Current Opinion in Neurobiology*, 17(1), 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2006.12.002>.
- Hertz, L., & Chen, Y. (2016). Importance of astrocytes for potassium ion (K⁺) homeostasis in brain and glial effects of K⁺ and its transporters on learning. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 71, 484–505. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.09.018>.
- Hertz, L., & Rodrigues, T. B. (2014). Astrocytic-Neuronal-Astrocytic Pathway Selection for Formation and Degradation of Glutamate/GABA. *Frontiers in Endocrinology*, 5.

Hertz, L., & Rothman, D. L. (2017). Glutamine-Glutamate Cycle Flux Is Similar in Cultured Astrocytes and Brain and Both Glutamate Production and Oxidation Are Mainly Catalyzed by Aspartate Aminotransferase. *Biology*, 6(1), 17.

Hertz, L., Xu, J., Song, D., Yan, E., Gu, L., Peng, L. (2013). Astrocytic and neuronal accumulation of elevated extracellular K(+) with a 2/3 K(+)/Na(+) flux ratio-consequences for energy metabolism, osmolarity and higher brain function. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 7, 114.

Höft, S., Griemsmann, S., Seifert, G., Steinhäuser, C. (2014). Heterogeneity in expression of functional ionotropic glutamate and GABA receptors in astrocytes across brain regions: insights from the thalamus. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 369(1654), 20130602.

Hubatz, S., Hucher, G., Shulz, D. E., Férézou, I. (2020). Spatiotemporal properties of whisker-evoked tactile responses in the mouse secondary somatosensory cortex. *Scientific Reports*, 10(1).

Ishibashi, M., Egawa, K., & Fukuda, A. (2019). Diverse Actions of Astrocytes in GABAergic Signaling. *International journal of molecular sciences*, 20(12), 2964.

Iwai, Y., Ozawa, K., Yahagi, K., Mishima, T., Akther, S., Vo, C. T., Lee, A. B., Tanaka, M., Itohara, S., Hirase, H. (2021). Transient Astrocytic Gq Signaling Underlies Remote Memory Enhancement. *Frontiers in Neural Circuits*, 15, 658343.

Jackson, J. G., & Robinson, M. B. (2015). Reciprocal Regulation of Mitochondrial Dynamics and Calcium Signaling in Astrocyte Processes. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 35(45), 15199–15213.

Jakoby, P., Schmidt, E., Ruminot, I., Gutiérrez, R., Barros, L. F., Deitmer, J. W. (2014). Higher transport and metabolism of glucose in astrocytes compared with neurons: a multiphoton study of hippocampal and cerebellar tissue slices. *Cerebral Cortex*, 24(1), 222–231. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs309>.

Jha, M. K., & Morrison, B. M. (2018). Glia-neuron energy metabolism in health and diseases: New insights into the role of nervous system metabolic transporters. *Experimental Neurology*, 309, 23–31.

Kheradpezhoh, E., Adibi, M., & Arabzadeh, E. (2019). Publisher Correction: Response dynamics of rat barrel cortex neurons to repeated sensory stimulation. *Scientific Reports*, 9(1), 4149. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33000-1>

Kimelberg, H. K., & Nedergaard, M. (2010). Functions of astrocytes and their potential as therapeutic targets. *Neurotherapeutics*, 7(4), 338–353.

Kofuji, P., & Araque, A. (2021). G-Protein-Coupled Receptors in Astrocyte–Neuron Communication. *Neuroscience*, 456, 71-84. doi: 10.1016/j.neuroscience.2020.03.025.

Krueger, D., Izquierdo, E., Viswanathan, R., Hartmann, J., Pallares Cartes, C., De Renzis, S. (2019). Principles and applications of optogenetics in developmental biology. *Development*, 146(20).

Kwak, H., Koh, W., Kim, S., Song, K., Shin, J. I., Lee, J. M., Lee, E. H., Bae, J. Y., Ha, G. E., Oh, J. E., Park, Y. M., Kim, S., Feng, J., Lee, S. E., Choi, J. W., Kim, K. H., Kim, Y. S., Woo, J., Lee, D., Son, T., Kwon S. W., Park K. D., Yoon B. E., Lee J., Li Y., Lee H., Bae Y. C., Lee C. J., Cheong E. (2020). Astrocytes Control Sensory Acuity via Tonic Inhibition in the Thalamus. *Neuron*, 108(4), 691–706.e10. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.08.013>.

Kwon, S. E., Yang, H., Minamisawa, G., O'Connor, D. H. (2016). Sensory and decision-related activity propagate in a cortical feedback loop during touch perception. *Nature Neuroscience*, 19(9), 1243–1249.

Lalo, U., Pankratov, Y., Kirchhoff, F., North, R., Verkhratsky, A. (2006). NMDA Receptors Mediate Neuron-to-Glia Signaling in Mouse Cortical Astrocytes. *The Journal Of Neuroscience*, 26(10), 2673-2683. doi: 10.1523/jneurosci.4689-05.2006.

Lalo, U., Pankratov, Y., Parpura, V., Verkhratsky, A. (2011). Ionotropic receptors in neuronal–astroglial signalling: What is the role of “excitable” molecules in non-

excitable cells. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1813(5), 992-1002. doi: 10.1016/j.bbamcr.2010.09.007.

Lee, E., & Chung, W. S. (2019). Glial Control of Synapse Number in Healthy and Diseased Brain. *Frontiers in cellular neuroscience*, 13, 42.

Lee, M., Schwab, C., & McGeer, P. L. (2011). Astrocytes are GABAergic cells that modulate microglial activity. *Glia*, 59(1), 152–165.

Li, J., Khankan, R. R., Caneda, C., Godoy, M. I., Haney, M. S., Krawczyk, M. C., Bassik, M. C., Sloan, S. A., Zhang, Y. (2019). Astrocyte-to-astrocyte contact and a positive feedback loop of growth factor signaling regulate astrocyte maturation. *Glia*, 67(8), 1571–1597. <https://doi.org/10.1002/glia.23630>.

Liao, C. C., & Yen, C. T. (2008). Functional connectivity of the secondary somatosensory cortex of the rat. *Anatomical record (Hoboken, N.J. : 2007)*, 291(8), 960–973. <https://doi.org/10.1002/ar.20696>.

Liddel, S. A., & Barres, B. A. (2017). Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. *Immunity*, 46(6), 957–967. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.006>.

Lind, B. L., Brazhe, A. R., Jessen, S. B., Tan, F. C. C., Lauritzen, M. J. (2013). Rapid stimulus-evoked astrocyte Ca²⁺ elevations and hemodynamic responses in mouse somatosensory cortex in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(48), E4678–E4687.

Lines, J., Martin, E.D., Kofuji, P., Aguilar, J., Araque, A. (2020). Astrocytes modulate sensory-evoked neuronal network activity. *Nature Communication*, 11, 3689.

Liu, C. Y., Yang, Y., Ju, W. N., Wang, X., Zhang, H. L. (2018). Emerging Roles of Astrocytes in Neuro-Vascular Unit and the Tripartite Synapse With Emphasis on Reactive Gliosis in the Context of Alzheimer's Disease. *Frontiers in cellular neuroscience*, 12, 193.

Liu, Y., Nour, M. M., Schuck, N. W., Behrens, T., Dolan, R. J. (2022). Decoding cognition from spontaneous neural activity. *Nature reviews. Neuroscience*, 23(4), 204–214. <https://doi.org/10.1038/s41583-022-00570-z>.

López-Hidalgo M., Salgado-Puga K., Alvarado-Martínez R., Medina A. C., Prado-Alcalá R. A., García-Colunga J. (2012). Nicotine uses neuron-glia communication to enhance hippocampal synaptic transmission and long-term memory. *PLoS ONE*, 7:e49998. [10.1371/journal.pone.0049998](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049998).

López-Hidalgo, M., & Schummers, J. (2014). Cortical maps: a role for astrocytes? *Current Opinion in Neurobiology*, 24, 176–189.

López-Hidalgo, M., Hoover, W. B., & Schummers, J. (2016). Spatial organization of astrocytes in ferret visual cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 524(17), 3561–3576.

López-Hidalgo, M., Kellner, V., & Schummers, J. (2017). Astrocyte Calcium Responses to Sensory Input: Influence of Circuit Organization and Experimental Factors. *Frontiers in Neural Circuits*, 11, 16.

Losi, G., Mariotti, L., & Carmignoto, G. (2014). GABAergic interneuron to astrocyte signalling: a neglected form of cell communication in the brain. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 369(1654), 20130609.

Lu, K., Zhao, L., Zhang, Y., Yang, F., Zhang, H., & Wang, J. et al. (2022). Bupivacaine reduces GlyT1 expression by potentiating the p-AMPK α /BDNF signalling pathway in spinal astrocytes of rats. *Scientific Reports*, 12(1). doi: [10.1038/s41598-022-05478-3](https://doi.org/10.1038/s41598-022-05478-3).

Lundgaard, I., Osório, M. J., Kress, B. T., Sanggaard, S., Nedergaard, M. (2014). White matter astrocytes in health and disease. *Neuroscience*, 276, 161–173. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.10.050>.

Mächler, P., Wyss, M. T., Elsayed, M., Stobart, J., Gutierrez, R., von Faber-Castell, A., Kaelin, V., Zuend, M., San Martín, A., Romero-Gómez, I., Baeza-Lehnert, F.,

Lengacher, S., Schneider, B. L., Aebischer, P., Magistretti, P. J., Barros, L. F., Weber, B. (2016). In Vivo Evidence for a Lactate Gradient from Astrocytes to Neurons. *Cell metabolism*, 23(1), 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.10.010>.

MacVicar, B. A., & Newman, E. A. (2015). Astrocyte regulation of blood flow in the brain. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(5), a020388. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020388>.

Mahmoud, S., Gharagozloo, M., Simard, C., Gris, D. (2019). Astrocytes Maintain Glutamate Homeostasis in the CNS by Controlling the Balance between Glutamate Uptake and Release. *Cell*, 8(2), 184. <https://doi.org/10.3390/cells8020184>.

Mahmoudi, P., Veladi, H., & Pakdel, F. G. (2017). Optogenetics, Tools and Applications in Neurobiology. *Journal of Medical Signals and Sensors*, 7(2), 71–79.

Manjarrez, E., Rojas-Piloni, G., Méndez, I., Flores, A. (2003). Stochastic resonance within the somatosensory system: effects of noise on evoked field potentials elicited by tactile stimuli. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(6), 1997–2001. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-06-01997.2003>.

Manvich, D. F., Webster, K. A., Foster, S. L., Farrell, M. S., Ritchie, J. C., Porter, J. H., Weinshenker, D. (2018). The DREADD agonist clozapine N-oxide (CNO) is reverse-metabolized to clozapine and produces clozapine-like interoceptive stimulus effects in rats and mice. *Scientific Reports*, 8(1), 3840.

Martin-Fernandez, M., Jamison, S., Robin, L., Zhao, Z., Martin, E., Aguilar, J., Benneyworth M. A., Marsicano G., Araque A. (2017). Synapse-specific astrocyte gating of amygdala-related behavior. *Nature Neuroscience*, 20(11), 1540-1548. doi: 10.1038/nn.4649.

Marzvanyan A., Alhawaj A. F. Physiology, Sensory Receptors. [Updated 2021 Aug 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 January. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539861/>

- Melone, M., Ciappelloni, S., & Conti, F. (2014). Plasma membrane transporters GAT-1 and GAT-3 contribute to heterogeneity of GABAergic synapses in neocortex. *Frontiers in Neuroanatomy*, 8. doi: 10.3389/fnana.2014.00072.
- Minamisawa, G., Kwon, S. E., Chevée, M., Brown, S. P., O'Connor, D. H. (2018). A Non-canonical Feedback Circuit for Rapid Interactions between Somatosensory Cortices. *Cell Reports*, 23(9), 2718-2731.e6.
- Morais, T. P., Coelho, D., Vaz, S. H., Sebastião, A. M., & Valente, C. A. (2018). Glycine Receptor Activation Impairs ATP-Induced Calcium Transients in Cultured Cortical Astrocytes. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10, 444.
- Murakami, S., & Kurachi, Y. (2015). Mechanisms of astrocytic K⁺ clearance and swelling under high extracellular K⁺ concentrations. *The Journal of Physiological Sciences*, 66(2), 127-142. doi: 10.1007/s12576-015-0404-5.
- Murphy-Royal, C., Dupuis, J., Groc, L., Oliet, S. H. R. (2017). Astroglial glutamate transporters in the brain: Regulating neurotransmitter homeostasis and synaptic transmission. In *Journal of Neuroscience Research* (Vol. 95, Issue 11, pp. 2140–2151). Wiley. <https://doi.org/10.1002/jnr.24029>.
- Nadkarni, S., Jung, P., & Levine, H. (2008). Astrocytes Optimize the Synaptic Transmission of Information. *Plos Computational Biology*, 4(5), e1000088. doi: 10.1371/journal.pcbi.1000088.
- Navarrete, M., & Araque, A. (2011). Basal Synaptic Transmission: Astrocytes Rule!. *Cell*, 146(5), 675-677. doi: 10.1016/j.cell.2011.08.006.
- Neri P. (2010). How inherently noisy is human sensory processing?. *Psychonomic Bulletin & Review*, 17(6), 802–808. <https://doi.org/10.3758/PBR.17.6.802>.
- Newsholme, P., Lima, M. M. R., Procopio, J., Pithon-Curi, T. C., Doi, S. Q., Bazotte, R. B., Curi, R. (2003). Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36(2), 153–163.
- Nicolelis, M. A. L. (2002). Depression at Thalamocortical Synapses. *Neuron*, 34(3), 331–332.

Nizar K., Uhlířova H., Tian P., Saisan P. A., Cheng Q., Reznichenko L., Weldy K. L., Steed T. C., Sridhar V. B., MacDonald C. L., Cui J., Gratiy S. L., Sakadzić S., Boas D. A., Beka T. I., Einevoll G. T., Chen J., Masliah E., Dale A. M., Silva G. A., Devor A. (2013). In vivo Stimulus-Induced Vasodilation Occurs without IP3 Receptor Activation and May Precede Astrocytic Calcium Increase. *Journal of Neuroscience*, 33(19), 8411–8422.

Noriega-Prieto, J. A., Maglio, L. E., Zegarra-Valdivia, J. A., Pignatelli, J., Fernandez, A. M., Martinez-Rachadell, L., Fernandes, J., Núñez, Á., Araque, A., Torres-Alemán, I., Fernández de Sevilla, D. (2021). Astrocytic IGF-IRs Induce Adenosine-Mediated Inhibitory Downregulation and Improve Sensory Discrimination. *The Journal of Neuroscience*, 41(22), 4768-4781. doi: 10.1523/jneurosci.0005-21.2021.

Ogata, K. & Kosaka, T. (2002) Structural and quantitative analysis of astrocytes in the mouse hippocampus. *Neuroscience*, 113, 221–233.

Oh, S. J., & Lee, C. J. (2017). Distribution and Function of the Bestrophin-1 (Best1) Channel in the Brain. *Experimental Neurobiology*, 26(3), 113–121.

Okubo Y & Lino M. (2020). Visualization of astrocytic intracellular Ca²⁺ mobilization. *The Journal of Physiology*, 598(9), 1671-1681.

Okubo, Y. (2020). Astrocytic Ca²⁺ signaling mediated by the endoplasmic reticulum in health and disease. *Journal of Pharmacological Sciences*, 144(2), 83–88.

Oliet, S. H., Piet, R., & Poulain, D. A. (2001). Control of glutamate clearance and synaptic efficacy by glial coverage of neurons. *Science*, 292, 923–926.

Otsu, Y., Couchman, K., Lyons, D. G., Collot, M., Agarwal, A., Mallet, J. M., Pfrieger, F. W., Bergles, D. E., Charpak, S. (2015). Calcium dynamics in astrocyte processes during neurovascular coupling. *Nature Neuroscience*, 18(2), 210–218. <https://doi.org/10.1038/nn.3906>.

Pajarillo, E., Rizor, A., Lee, J., Aschner, M., Lee, E. (2019). The role of astrocytic glutamate transporters GLT-1 and GLAST in neurological disorders: Potential

targets for neurotherapeutics. *Neuropharmacology*, 161, 107559. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.03.002>

Panatier A, Vallée J, Haber M, Murai KK, Lacaille JC, Robitaille R (2011) Astrocytes are endogenous regulators of basal transmission at central synapses. *Cell*, 146:785–798. doi:10.1016/j.cell.2011.07.022

Parpura, V., Baker, B. J., Jeras, M., & Zorec, R. (2010). Regulated exocytosis in astrocytic signal integration. *Neurochemistry International*, 57(4), 451–459.

Pathak, T., & Trebak, M. (2018). Mitochondrial Ca²⁺ signaling. *Pharmacology & Therapeutics*, 192, 112–123.

Paukert, M., Agarwal, A., Cha, J., Doze, V. A., Kang, J. U., Bergles, D. E. (2014). La noradrenalina controla la respuesta astrogliar a la actividad del circuito local. *Neuron*, 82(6), 1263-1270.

Perea G., & Araque A. (2007). Astrocytes potentiate transmitter release at single hippocampal synapses. *Science*, 317, 1083–1086. 10.1126/science.1144640

Perea, G., & Araque, A. (2005). Properties of synaptically evoked astrocyte calcium signal reveal synaptic information processing by astrocytes. *The Journal of Neuroscience*, 25(9), 2192–2203.

Pestana, F., Edwards-Faret, G., Belgard, T. G., Martirosyan, A., Holt, M. G. (2020). No Longer Underappreciated: The Emerging Concept of Astrocyte Heterogeneity in Neuroscience. *Brain Sciences*, 10(3), 168.

Petzold, G. C., Albeanu, D. F., Sato, T. F., Murthy, V. N. (2008). Coupling of neural activity to blood flow in olfactory glomeruli is mediated by astrocytic pathways. *Neuron*, 58(6), 897–910. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.04.029>.

Philtjens, S., Turnbull, M. T., Thedy, B. P., Moon, Y., Kim, J. (2020). Chemogenetic activation of astrocytes in the hippocampus and cortex changes the transcriptome of microglia and other cell types. Cold Spring Harbor Laboratory. doi: 10.1101/2020.04.27.064881.

Puerto, A. del, Wandosell, F., & Garrido, J. J. (2013). Neuronal and glial purinergic receptors functions in neuron development and brain disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7.

Quon, E. F., Wotton, C. A., & Bekar, L. K. (2018). Evidence for astrocyte purinergic signaling in cortical sensory adaptation and serotonin-mediated neuromodulation. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 88, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2017.12.008>.

Raiteri, L., & Raiteri, M. (2010). Functional 'glial' GLYT1 glycine transporters expressed in neurons. *Journal of neurochemistry*, 114(3), 647–653. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06802.x>

Ramón y Cajal, S. (1913). Un nuevo proceder para la impregnación de la neuroglía. *Boletín de la Sociedad Española de Biología*. 2, 104–108.

Reijntjes, D., Lee, J. H., Park, S., Schubert, N., van Tuinen, M., Vijayakumar, S., Jones, T. A., Jones, S. M., Gratton, M. A., Xia, X. M., Yamoah, E. N., & Pyott, S. J. (2019). Sodium-activated potassium channels shape peripheral auditory function and activity of the primary auditory neurons in mice. *Scientific reports*, 9(1), 2573. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39119-z>

Reyes-Haro D., González-González M.A., Pétriz A., Rosas-Arellano A., Kettenmann H., Miledi R., Martínez-Torres A. (2013) γ -Aminobutyric acid-p expression in ependymal glial cells of the mouse cerebellum. *Journal of Neuroscience Research*, 91:527–534. doi: 10.1002/jnr.23183.

Reyes-Haro D., Hernández-Santos J.A., Miledi R., Martínez-Torres A. (2017) GABA_A selective antagonist TPMPA partially inhibits GABA-mediated currents recorded from neurones and astrocytes in mouse striatum. *Neuropharmacology*, 113:407–415. doi: 10.1016/j.neuropharm.2016.10.024.

Romo, R., Hernández, A., Zainos, A., Lemus, L., Brody, C. D. (2002). Neuronal correlates of decision-making in secondary somatosensory cortex. *Nature Neuroscience*, 5(11), 1217–1225.

- Romo, R., Lemus, L., & de Lafuente, V. (2012). Sense, memory, and decision-making in the somatosensory cortical network. *Current Opinion in Neurobiology*, 22(6), 914–919.
- Rose, C., Felix, L., Zeug, A., Dietrich, D., Reiner, A., & Henneberger, C. (2018). Astroglial Glutamate Signaling and Uptake in the Hippocampus. *Frontiers In Molecular Neuroscience*, 10. doi: 10.3389/fnmol.2017.00451.
- Rossi-Pool, R., Zainos, A., Alvarez, M., Diaz-deLeon, G., & Romo, R. (2021). A continuum of invariant sensory and behavioral-context perceptual coding in secondary somatosensory cortex. *Nature Communications*, 12(1), 2000. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22321-x>.
- Roth B. L. (2016). DREADDs for Neuroscientists. *Neuron*, 89(4), 683–694.
- Roth, B. L., & Marshall, F. H. (2012). NOBEL 2012 Chemistry: Studies of a ubiquitous receptor family. *Nature*, 492(7427), 57. <https://doi.org/10.1038/492057a>.
- Sadigh-Eteghad, S., Majdi, A., Mahmoudi, J., Golzari, S., & Talebi, M. (2016). Astrocytic and microglial nicotinic acetylcholine receptors: an overlooked issue in Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, 123(12), 1359–1367.
- Sahlender, D. A., Savtchouk, I., & Volterra, A. (2014). What do we know about gliotransmitter release from astrocytes?. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 369(1654), 20130592.
- Santello, M., Cali, C., & Bezzi, P. (2012). Gliotransmission and the tripartite synapse. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 970, 307–331.
- Scemes E, & Giaume C. (2006). Astrocyte calcium waves: what they are and what they do. *Glia*, 54(7):716-25. doi: 10.1002/glia.20374.
- Schipke, C. G., Haas, B., & Kettenmann, H. (2008). Astrocytes Discriminate and Selectively Respond to the Activity of a Subpopulation of Neurons within the Barrel Cortex. *Cerebral Cortex*, 18(10), 2450–2459.

Schiweck, J., Eickholt, B. J., & Murk, K. (2018). Important Shapeshifter: Mechanisms Allowing Astrocytes to Respond to the Changing Nervous System During Development, Injury and Disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12.

Schluppeck, D., & Francis, S. (2015). Somatosensory Processing. In *Brain Mapping* (pp. 549–552). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-397025-1.00045-2>.

Schousboe, A., Scafidi, S., Bak, L. K., Waagepetersen, H. S., McKenna, M. C. (2014). Glutamate metabolism in the brain focusing on astrocytes. *Advances in Neurobiology*, 11, 13–30.

Schulz, K., Sydekum, E., Krueppel, R., Engelbrecht, C. J., Schlegel, F., Schröter, A., Rudin, M., Helmchen, F. (2012). Simultaneous BOLD fMRI and fiber-optic calcium recording in rat neocortex. *Nature Methods*, 9(6), 597–602. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2013>.

Schummers, J., Yu, H. & Sur, M. (2008). Tuned responses of astrocytes and their influence on hemodynamic signals in the visual cortex. *Science*, 320, 1638–1643.

Seelke, A. M., Dooley, J. C., & Krubitzer, L. A. (2012). The emergence of somatotopic maps of the body in S1 in rats: the correspondence between functional and anatomical organization. *PLoS one*, 7(2), e32322.

Seifert, G., Henneberger, C., & Steinhäuser, C. (2018). Diversity of astrocyte potassium channels: An update. *Brain Research Bulletin*, 136, 26–36.

Sekiguchi, K. J., Shekhtmeyster, P., Merten, K., Arena, A., Cook, D., Hoffman, E., Ngo, A., Nimmerjahn, A. (2016). Imaging large-scale cellular activity in spinal cord of freely behaving mice. *Nature Communications*, 7(1).

Semyanov, A., & Verkhratsky, A. (2021). Astrocytic processes: from tripartite synapses to the active milieu. *Trends in Neurosciences*, 44(10), 781-792. doi: 10.1016/j.tins.2021.07.006.

Shen, J., & Yakel, J. L. (2012). Functional $\alpha 7$ Nicotinic ACh Receptors on Astrocytes in Rat Hippocampal CA1 Slices. *Journal of Molecular Neuroscience*, 48(1), 14–21.

Shigetomi, E., Hirayama, Y. J., Ikenaka, K., Tanaka, K. F., & Koizumi, S. (2018). Role of Purinergic Receptor P2Y1 in Spatiotemporal Ca²⁺ Dynamics in Astrocytes. *The Journal of neuroscience*, 38(6), 1383–1395. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2625-17.2017>.

Sibille J, Dao Duc K, Holcman D, Rouach N (2015) The Neuroglial Potassium Cycle during Neurotransmission: Role of Kir4.1 Channels. *PLoS Computational Biology*, 11(3): e1004137.

Skowrońska, K., Obara-Michlewska, M., Zielińska, M., Albrecht, J. (2019). NMDA Receptors in Astrocytes: In Search for Roles in Neurotransmission and Astrocytic Homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 309.

Slezak, M., Kandler, S., Van Veldhoven, P. P., Van den Haute, C., Bonin, V., & Holt, M. G. (2019). Distinct Mechanisms for Visual and Motor-Related Astrocyte Responses in Mouse Visual Cortex. *Current Biology*, 29(18), 3120–3127.e5.

Sofroniew, M. V., & Vinters, H. V. (2010). Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, 119(1), 7–35. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0619-8>.

Sonoda, K., Matsui, T., Bito, H., Ohki, K. (2018). Astrocytes in the mouse visual cortex reliably respond to visual stimulation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 505(4), 1216–1222.

Spampinato, S. F., Copani, A., Nicoletti, F., Sortino, M. A., Caraci, F. (2018). Metabotropic Glutamate Receptors in Glial Cells: A New Potential Target for Neuroprotection? *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11.

Stobart J.L., Ferrari K.D., Barrett M.J.P., Stobart M.J., Looser Z.J., Saab A.S., Weber B. (2018). Long-term In Vivo Calcium Imaging of Astrocytes Reveals Distinct Cellular Compartment Responses to Sensory Stimulation, *Cerebral Cortex*, 28(1), 184–198.

Sun, W., McConnell, E., Pare, J. F., Xu, Q., Chen, M., Peng, W., Lovatt, D., Han, X., Smith, Y., Nedergaard, M. (2013). Glutamate-dependent neuroglial calcium

signaling differs between young and adult brain, 339(6116), 197–200. <https://doi.org/10.1126/science.1226740>.

Suter, B., & Shepherd, G. (2015). Reciprocal Interareal Connections to Corticospinal Neurons in Mouse M1 and S2. *Journal of Neuroscience*, 35(7), 2959-2974. doi: 10.1523/jneurosci.4287-14.2015.

Suzuki A, Stern SA, Bozdagi O, Huntley GW, Walker RH, Magistretti PJ, Alberini CM. (2011). Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation. *Cell*, 144(5), 810-23.

Tabata, H. (2015). Diverse subtypes of astrocytes and their development during corticogenesis. *Frontiers in Neuroscience*, 9.

Theparambil, S.M., Hosford, P.S., Ruminot, I., Kopach, O., Reynolds, J.R., Sandoval, P.I., Rusakov, D.A., Barros, L.F., Gourine A.V. (2020). Astrocytes regulate brain extracellular pH via a neuronal activity-dependent bicarbonate shuttle. *Nature Communication*, 11, 5073.

Tremblay, R., Lee, S., & Rudy, B. (2016). GABAergic Interneurons in the Neocortex: From Cellular Properties to Circuits. *Neuron*, 91(2), 260–292. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.033>.

Turner, D. A., & Adamson, D. C. (2011). Neuronal-astrocyte metabolic interactions: understanding the transition into abnormal astrocytoma metabolism. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 70(3), 167–176.

Turovsky, E., Theparambil, S. M., Kasymov, V., Deitmer, J. W., Del Arroyo, A. G., Ackland, G. L., Corneveaux, J. J., Allen, A. N., Huentelman, M. J., Kasparov, S., Marina, N., & Gourine, A. V. (2016). Mechanisms of CO₂/H⁺ Sensitivity of Astrocytes. *The Journal of Neuroscience*, 36(42), 10750–10758.

Underhill, S., & Amara, S. (2009). TRANSPORTERS | Glutamate Transporters in Epilepsy. In *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research* (pp. 1398–1405). Elsevier.

Van Den Herrewegen, Y., Sanderson, T., Sahu, S., De Bundel, D., Bortolotto, Z., Smolders, I. (2021). Side-by-side comparison of the effects of Gq- and Gi-DREADD-

mediated astrocyte modulation on intracellular calcium dynamics and synaptic plasticity in the hippocampal CA1. *Molecular Brain*, 14(1). doi: 10.1186/s13041-021-00856-w.

van der Groen, O., Tang, M., Wenderoth, N., & Mattingley, J. (2018). Stochastic resonance enhances the rate of evidence accumulation during combined brain stimulation and perceptual decision-making. *PLOS Computational Biology*, 14(7), e1006301. doi: 10.1371/journal.pcbi.1006301.

Vargas, J. R., Takahashi, D. K., Thomson, K. E., Wilcox, K. S. (2013). The expression of kainate receptor subunits in hippocampal astrocytes after experimentally induced status epilepticus. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 72(10), 919–932.

Vasile, F., Dossi, E., & Rouach, N. (2017). Human astrocytes: structure and functions in the healthy brain. *Brain Structure and Function*, 222(5), 2017-2029. doi: 10.1007/s00429-017-1383-5.

Vega, J. A., García-Suárez, O., Montaña, J. A., Pardo, B., & Cobo, J. M. (2009). The Meissner and Pacinian sensory corpuscles revisited new data from the last decade. *Microscopy Research and Technique*, 72(4), 299–309. doi:10.1002/jemt.20651.

Vélez-Fort, M., Audinat, E., & Angulo, M. C. (2011). Central Role of GABA in Neuron–Glia Interactions. *The Neuroscientist*, 18(3), 237–250.

Venkatesan, K., Liu, Y., & Goldfarb, M. (2014). Fast-onset long-term open-state block of sodium channels by A-type FHF mediates classical spike accommodation in hippocampal pyramidal neurons. *The Journal of neuroscience*, 34(48), 16126–16139. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1271-14.2014>.

Verkhatsky A., Marutle A., Rodriguez-Arellano J. J., Nordberg A. (2015) Glial asthenia and functional paralysis: A new perspective on neurodegeneration and Alzheimer's disease. *Neuroscientist*, 21, 552–568.

Verkhatsky, A., Matteoli, M., Parpura, V., Mothet, J. P., Zorec, R. (2016). Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion. *The EMBO Journal*, 35(3), 239–257.

Verkhatsky, A., Parpura, V., Vardjan, N., Zorec, R. (2019). Physiology of Astroglia. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1175, 45–91. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9913-8_3.

Verkhatsky, A., Reyes, R. C., & Parpura, V. (2013). “TRP channels coordinate ion signalling in astroglia,” in *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* 166. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Vol. 166, eds B. Nilius, T. Gudermann, R. Jahn, R. Lill, S. Offermanns, and O. H. Petersen (Cham: Springer), 1–22.

Verkhatsky, A., Zorec, R., & Parpura, V. (2017). Stratification of astrocytes in healthy and diseased brain. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 27(5), 629–644.

Wang, J. J. & Li, Y. (2016). KCNQ potassium channels in sensory system and neural circuits. *Acta Pharmacologica Sinica*, 37, 25–33. <https://doi.org/10.1038/aps.2015.131>.

Wang, X., Lou, N., Xu, Q., Tian, G. F., Peng, W. G., Han, X., Kang, J., Takano, T., Nedergaard, M. (2006). Astrocytic Ca²⁺ signaling evoked by sensory stimulation in vivo. *Nature Neuroscience*, 9(6), 816–823. <https://doi.org/10.1038/nn1703>.

Wark B., Lundstrom B. N., & Fairhall, A. (2007) Sensory adaptation. *Current Opinion in Neurobiology*, 17, 423–429.

Whissell, P. D., Tohyama, S., & Martin, L. J. (2016). The Use of DREADDs to Deconstruct Behavior. *Frontiers in Genetics*, 7, 70. <https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00070>

Whitmire, C. J., & Stanley, G. B. (2016). Rapid Sensory Adaptation Redux: A Circuit Perspective. *Neuron*, 92(2), 298–315. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.09.046>

Woo, D. H., Han, K. S., Shim, J. W., Yoon, B. E., Kim, E., Bae, J. Y., Oh, S. J., Hwang, E. M., Marmorstein, A. D., Bae, Y. C., Park, J. Y., Lee, C. J. (2012). TREK-

1 and Best1 Channels Mediate Fast and Slow Glutamate Release in Astrocytes upon GPCR Activation. *Cell*, 151(1), 25–40.

Wulff, P., & Arenkiel, B. R. (2012). Chemical genetics: receptor-ligand pairs for rapid manipulation of neuronal activity. *Current Opinion in Neurobiology*, 22(1), 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.10.008>

Xie Z, Yang Q, Song D, Quan Z, Qing H. (2020). Optogenetic manipulation of astrocytes from synapses to neuronal networks: A potential therapeutic strategy for neurodegenerative diseases. *Glia*, 68(2), 215-226.

Xie, A. X., Petravicz, J., & McCarthy, K. D. (2015). Molecular approaches for manipulating astrocytic signaling in vivo. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9, 144. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00144>

Xin, W., & Bonci, A. (2018). Functional Astrocyte Heterogeneity and Implications for Their Role in Shaping Neurotransmission. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12.

Xing, L., Yang, T., Cui, S., & Chen, G. (2019). Connexin Hemichannels in Astrocytes: Role in CNS Disorders. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12, 23.

Xu, G., Wang, W., & Zhou, M. (2013). Spatial organization of NG2 glial cells and astrocytes in rat hippocampal CA1 region. *Hippocampus*, 24(4), 383–395.

Yoon, B. E., Woo, J., Chun, Y. E., Chun, H., Jo, S., Bae, J. Y., An, H., Min, J. O., Oh, S. J., Han, K. S., Kim, H. Y., Kim, T., Kim, Y. S., Bae, Y. C., Lee, C. J. (2014). Glial GABA, synthesized by monoamine oxidase B, mediates tonic inhibition. *The Journal of Physiology*, 592(22), 4951–4968. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.278754>

Yoon, BE., Woo, J. & Justin Lee, C. (2012). Astrocytes as GABA-ergic and GABA-ceptive Cells. *Neurochemical Research*, 37, 2474–2479.

Yoon, H., Walters, G., Paulsen, A. R., Scarisbrick, I. A. (2017). Astrocyte heterogeneity across the brain and spinal cord occurs developmentally, in adulthood and in response to demyelination. *PLOS ONE*, 12(7), e0180697.

- Yu, X., Nagai, J. & Khakh, B. S. (2020). Improved tools to study astrocytes. *Nature Reviews Neuroscience*, 21, 121–138.
- Zamora, N. N., Cheli, V. T., Santiago González, D. A., Wan, R., Paez, P. M. (2020). Deletion of Voltage-Gated Calcium Channels in Astrocytes during Demyelination Reduces Brain Inflammation and Promotes Myelin Regeneration in Mice. *The Journal of Neuroscience*, 40(17), 3332–3347.
- Zhang, F., Gradinaru, V., Adamantidis, A. R., Durand, R., Airan, R. D., de Lecea, L., Deisseroth, K. (2010). Optogenetic interrogation of neural circuits: technology for probing mammalian brain structures. *Nature Protocols*, 5, 439–456.
- Zhang, K., Chen, C., Yang, Z., He, W., Liao, X., Ma, Q., Deng, P., Lu, J., Li, J., Wang, M., Li, M., Zheng, L., Zhou, Z., Sun, W., Wang, L., Jia, H., Yu, Z., Zhou, Z., Chen, X. (2016). Sensory Response of Transplanted Astrocytes in Adult Mammalian Cortex In Vivo. *Cerebral Cortex*, 26(9), 3690–3704.
- Zhang, S., Wu, M., Peng, C., Zhao, G., Gu, R. (2017). GFAP expression in injured astrocytes in rats. *Experimental and therapeutic medicine*, 14(3), 1905–1908.
- Zhao, J., Wang, D. & Wang, J. H. (2012). Barrel cortical neurons and astrocytes coordinately respond to an increased whisker stimulus frequency. *Molecular Brain*, 5, 12.
- Zhou, B., Zuo, Y., & Jiang, R. (2019). Astrocyte morphology: Diversity, plasticity, and role in neurological diseases. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 25(6), 665–673.
- Zou, J., Wang, Y. X., Dou, F. F., Lü, H. Z., Ma, Z. W., Lu, P. H., Xu, X. M. (2010). Glutamine synthetase down-regulation reduces astrocyte protection against glutamate excitotoxicity to neurons. *Neurochemistry International*, 56(4), 577–584.
- Zschocke, J., Bayatti, N., Clement, A. M., Witan, H., Figiel, M., Engele, J., Behl, C. (2005). Differential promotion of glutamate transporter expression and function by glucocorticoids in astrocytes from various brain regions. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(41), 34924–34932. <https://doi.org/10.1074/jbc.M502581200>.