



*Revista Médica de la
Universidad Veracruzana*

ISSN: 1870 3267

Investigación, Docencia y Servicio

Instituto de Ciencias de la Salud
Facultad de Medicina Xalapa
Hospital Escuela

Volumen Especial 2012



Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Director

Carlos Blázquez Domínguez - Hospital Escuela

Editor

Patricia Pavón León - Instituto de Ciencias de la Salud

Editores Asociados

Rafael Velasco Fernández

Carlos M. Contreras Pérez

Lilia Irene Durán González

Consejo Editorial

Patricia Pavón León - Instituto de Ciencias de la Salud

Irma del Carmen Osorno Estrada - Fac. de Medicina-Xalapa

Director Fundador

José Arenas Benhumea

Indizada:

- Imbiomed
- Latindex

Diseño interior y formación

Víctor Olivares García - Instituto de Ciencias de la Salud

Diseño Portada

Gabriela Blázquez Bello

Corrección de estilo

Donajé Cuéllar Escamilla - Instituto de Invest. Lingüístico-Literarias

Asistente: Iván Partida Partida

Comité Editorial

Instituto de Ciencias de la Salud

Leodegario Oliva Zárate

María Gabriela Nachón García

María del Carmen Gogeoascoechea Trejo

María Sobeida Leticia Blázquez Morales

Pedro Guillermo Coronel Brizio

Víctor Landa Ortiz

Facultad de Medicina-Xalapa

Ángel Alberto Casillas Cruz

Armando Méndez Pérez

Lorena de los Ángeles Mendoza Camacho

Pedro Chavarría Xicoténcatl

Francisco Malpica Ramón

Saturnino Navarro Ramírez

Hospital Escuela

Carlos Alejandro Galván Peña

Raúl Martínez Campos

Cynthia Elizabeth Díaz Marte

Cirenia Hernández Trejo

Omar Lagunes Merino

John O. Fleming - Inatención Internacional Universidad de Wisconsin, U.S.A

Centro Estatal de Cancerología

Lourdes Vega Vega

José Luis Noguera Martínez

Fernando Quistian Navarrete

Edgar Antonio Libreros Morales

Kenneth León Córdoba

Universidad Veracruzana

Rector

Raúl Arias Lovillo

Secretario Académico

Porfirio Carrillo Castilla

Secretario de Administración y Finanzas

Víctor Aguilar Pizarro

Director General de Investigaciones

César I. Beristain Guevara



Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Volumen Especial 2012

Contenido

> ARTÍCULOS

- **Mecanismos de Proyección Axonal Durante el Desarrollo Embrionario, Lecciones importantes para la Neuroregeneración y el desarrollo de Biomateriales** **6**
Elisa H. Tamariz Domínguez.
- **Necrosis Neuronal Programada** **17**
María Leonor López-Meraz, Enrique Juárez-Aguilar, Jesús Servando Medel-Matus,
Dulce Mariely Álvarez Croda, Ricardo Galán Zamora, César A. Pérez Estudillo,
María Elena Hernández, Marta Miquel, Jorge Manzo.
- **Mecanismos centrales de la generación del ritmo respiratorio** **23**
Luis Beltran-Parrazal, Roberto Meza-Andrade, Fabio García-García, Rebeca Toledo,
Jorge Manzo, Consuelo Morgado-Valle.
- **La Hormona de Crecimiento en el Sistema Nervioso Central** **29**
Citlalli Regalado Santiago, María Leonor López Meraz, Enrique Juárez Aguilar.
- **Aprendizaje visomotor en la salud y la enfermedad** **36**
Juan Fernández Ruiz, Rosalinda Díaz, Pablo Moreno-Briseño, Juan Manuel Gutiérrez Garralda.
- **El cerebro adicto** **43**
Alejandra Evelyn Ruiz Contreras, Mónica Méndez Díaz, Antonio Romano López,
Seraid Caynas, Oscar Prospéro García.

> COMUNICACIÓN CIENTÍFICA

51



Mecanismos de Proyección Axonal Durante el Desarrollo Embrionario, Lecciones importantes para la Neuroregeneración y el desarrollo de Biomateriales

Mechanisms of Axonal Projection during Development, Important lessons for Neuroregeneration and Biomaterials Fields

Elisa H. Tamariz Domínguez.

RESUMEN

La formación de redes neuronales se da principalmente durante el desarrollo embrionario, en esta etapa los axones en crecimiento siguen numerosas señales que los guían hasta llegar a su blanco o sitio de inervación. Estas señales guía son de diversos tipos y su expresión es modulada de manera que en el adulto pueden desaparecer o expresarse en sitios diferentes en comparación con el tejido embrionario. Durante el proceso de regeneración del sistema nervioso en adultos también existe una fina regulación de la expresión de señales guía, influyendo de manera positiva o negativa en la adecuada regeneración del tejido dañado. En la presente revisión se abordan los diferentes tipos de señales guía y su papel durante el desarrollo embrionario, resaltando la importancia de conocer su función durante el establecimiento de las redes neuronales, para comprender su posible papel durante la reparación del sistema nervioso, y su utilidad para mejorar los procesos de regeneración; particularmente en terapias de sustitución neuronal o en el desarrollo de biomateriales para aplicaciones biomédicas.

Palabras Clave: Proyección neuronal, moléculas guía, neuroregeneración, biomateriales.

ABSTRACT

During development neural axons navigate to reach their target and to wire the nervous system. Several guidance cues are involved in the correct innervation and in the targeting of the axons. Guidance cues can be up or down regulated in the adult tissue as compared with the embryonic tissue, or can be expressed in different locations than during development. During regeneration of the adult nervous system exists a fine regulation of guidance cues, influencing in a positive or negative way the regeneration process of the damaged tissue. In this review the different kind of guidance cues present during the embryonic development are summarized, focusing on their role of wiring the nervous system; besides, it will be discussed the importance to understand some aspects of the adult neural tissue regeneration, particularly to enhance regeneration through neuronal replacement therapies and to develop materials for medical applications.

Key words: Neuronal projection, guidance cues, neuroregeneration, biomaterials

INTRODUCCIÓN

La compleja estructura del sistema nervioso central se forma durante el desarrollo embrionario con la proyección axonal de neuronas que pueden localizarse cercanas al sitio de innervación, o a gran distancia de este. La precisión de este proceso es fundamental para el correcto funcionamiento del cerebro y es regulado por diversas señales guía que se localizan a lo largo de los sitios por donde proyectaran los axones. Una vez que los axones llegan a su sitio blanco, cesa la proyección y se forman las arborizaciones y contactos sinápticos que pueden ser posteriormente refinados y modulados por procesos de plasticidad neuronal. Tras un daño o lesión, la regeneración del sistema nervioso central conlleva también a la proyección de axones para restablecer los fascículos o vías neuronales perdidas; sin embargo estos procesos no son tan eficientes como los observados durante el desarrollo. Muchas de las alternativas planteadas para promover la regeneración neuronal provienen del conocimiento generado a partir del estudio de la formación de vías neuronales en embriones de diversos modelos animales; por lo que el emular el ambiente embrionario ha mostrado ser una alternativa para promover la regeneración neuronal en el tejido adulto. En la presente revisión se abordan los mecanismos celulares y moleculares que determinan la proyección neuronal, y posteriormente se hace un recuento de las principales señales que convergen en los axones y que inhiben o estimulan su proyección durante el desarrollo embrionario. Finalmente, se ejemplifica como la aplicación del conocimiento obtenido en embriones ha permitido desarrollar estrategias para tratar de inducir una regeneración más eficiente en el sistema nervioso central adulto, particularmente desde la perspectiva del desarrollo de biomateriales que funcionen como andamios y que emulen el ambiente embrionario.

Mecanismos celulares de la proyección axonal

Para comprender de qué manera actúan las señales guía sobre las neuronas en proyección, es de suma importancia conocer los mecanismos celulares que promueven tanto la proyección como la retracción de axones. El cono de crecimiento es una estructura localizada al final del axón y se caracteriza por ser altamente dinámica y capaz de recibir las señales del ambiente implicadas en el avance, retroceso, o cambio de dirección del axón. La motilidad de esta estructura depende primariamente de la regulación del citoesqueleto, formado fundamentalmente por filamentos de actina y microtúbulos⁽¹⁾. En este apartado mencionaremos de manera somera la estructura del cono de crecimiento y los mecanismos generales que modula su comportamiento a nivel del citoesqueleto, ya que la compleja regulación de su movimiento, particularmente a este nivel, abarca por sí mismo un tema extenso al cual se han avocado

numerosas revisiones.

El cono de crecimiento, originalmente descrito por Santiago Ramón y Cajal⁽²⁾, se localiza en la parte más externa de la neurita o prolongación neuronal, tiene una región periférica constituida por lamelipodios o delgadas extensiones membranales, y por filopodios o pequeñas espículas que sobresalen de los lamelipodios (Fig. 1A). Cada una de estas regiones tiene una distribución característica de filamentos de actina y microtúbulos. En los lamelipodios se encuentran numerosas fibras cortas de actina que forman una red, y en ocasiones se encuentran también microtúbulos; mientras que en los filopodios se encuentran generalmente fibras de actina. La parte central del cono de crecimiento está formado principalmente por microtúbulos y se caracteriza por la presencia de gran cantidad de organelos celulares. En la zona de transición, que se localiza entre la zona central y periférica, se encuentra la parte más distal de los microtúbulos en interacción con las fibras de actina de la zona periférica^(1,3) (Fig. 1A, B).

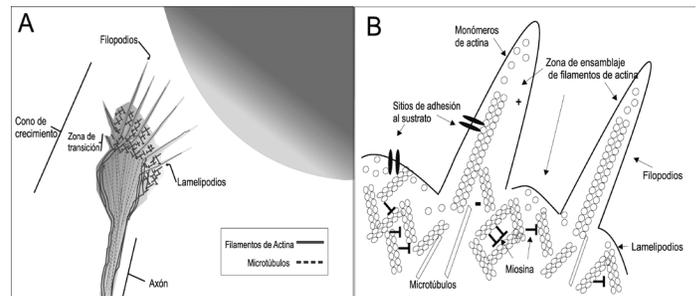


Figura 1. (A) Esquema que representa la parte terminal de una neurona donde se aprecia un fragmento del axón y el cono de crecimiento con sus estructuras características, y la distribución de las dos principales proteínas del citoesqueleto. (B) Amplificación de la zona de los lamelipodios y filopodios donde se representa la distribución y orientación de los filamentos de actina y los microtúbulos. Los monómeros de actina son añadidos en los extremos positivos de los filamentos que se orientan hacia la parte externa de filopodios y de lamelipodios. Otras proteínas involucradas en el movimiento del cono de crecimiento y la respuesta a señales guía son la miosina tipo II que interactúan con los filamentos de actina, y los receptores transmembranales que forman sitios de adhesión al sustrato.

La proyección de las prolongaciones neuronales o neuritas comprende tres pasos principales que se suceden de manera continua y ordenada: 1) El avance de la zona periférica del cono de crecimiento, 2) el "llenado" de la zona periférica con organelos adquiriendo la característica de zona central, 3) La consolidación, mediante la "invasión" del citoesqueleto en la zona central, y la constricción y formación de una estructura cilíndrica que formará el nuevo segmento del axón⁽⁴⁾. Cuando no existe movimiento de las neuritas se dice que el cono de crecimiento está en un estado estático-dinámico en donde hay una exploración continua del medio y los lamelipodios y filopodios están en constante extensión-retracción.

La activación de receptores membranales por señales guía converge en la modulación del citoesqueleto a través de diversas vías de transducción de señales. La familia de las

GTPasas pequeñas, y en especial la familia de las GTPasas Ras y Rho tiene un papel fundamental modulando la polimerización y despolimerización de los filamentos y activando vías de transducción de señales como las de ERK o MAP cinasas^(5, 6).

Tanto los microtúbulos como los filamentos de actina son estructuras polarizadas con un segmento "positivo" y otro "negativo"; en el extremo positivo se añaden los monómeros de actina globular o los heterodímeros de tubulina alfa y beta, y en el extremo menos o negativo existe una constante despolimerización de las subunidades de cada filamento. Los microtúbulos tienen su extremo positivo hacia la zona periférica del cono de crecimiento en donde se asocian con los filamentos de actina, mientras que los filamentos de actina tiene su extremo positivo, también llamado extremo barbado, hacia la parte más externa de los filopodios⁽⁷⁾ (Fig. 1B).

Las señales repelentes pueden causar la disminución en la adición de monómeros de actina y la pérdida o disminución de los filamentos en la zona más externa del cono de crecimiento induciendo su colapso^(8, 9); mientras que señales atrayentes favorecen la adición de nuevos monómeros de actina y el desplazamiento retrogrado de los filamentos por interacción con miosina tipo II, que produce una fuerza que impulsa al cono de crecimiento hacia adelante, a través de la extensión de la membrana celular y la extensión de los filopodios^(3, 8).

La polimerización-despolimeración de los filamentos de actina está regulada por numerosas proteínas accesorias que favorece la formación de los filamentos, como profilina, o proteínas de la familia de Ena/VASP⁽¹⁰⁻¹²⁾, y de proteínas que inducen la despolimerización como gelsolina y cofilina entre muchas otras⁽¹³⁻¹⁵⁾. Finalmente, cabe mencionar que la estabilidad o el avance de los conos de crecimiento no sería posible si no existe un acoplamiento entre el citoesqueleto y el sustrato a través de receptores transmembranales que forman sitios de adhesión, permitiendo que la fuerza generada por la contractilidad del sistema actina-miosina impulse el cono de crecimiento hacia adelante⁽¹⁶⁾. De esta manera la repuesta a moléculas guía también implica necesariamente la regulación de la formación y/o desensamblaje de los sitios de adhesión, que mantienen al cono de crecimiento en estrecho contacto con el sustrato^(17, 18).

Regulación de la proyección axonal por señales guía

Durante la formación de las redes neuronales los axones siguen trayectos específicos que son delimitados mediante señales de naturaleza química y mecánica, y que pueden actuar como señales atrayentes o permisivas, y repelentes o no permisivas^(19, 20). Una señal atrayente induce el crecimiento y atrae a las proyecciones, pero también una señal repelente delimita el sitio por el cual las neuritas deben avanzar contribuyendo a la proyección correcta.

Un ejemplo son las proteínas quimiotrópicas semaforina y slit que delimitan la proyección del fascículo longitudinal medio (FLM), uno de los tractos más prominentes y conservados en los vertebrados, y de los primeros tractos en proyectar a partir de la zona limítrofe entre el mesencéfalo y el diencefalo embrionario. El FLM es dirigido hacia la zona caudal del embrión extendiéndose como un denso fascículo por la zona ventral del tubo neural; La semaforina 3A y slit tienen un importante papel al restringir la proyección de los fascículos en la zona rostral del embrión, y mantener una proyección caudal, ventral y longitudinal, evitando que los fascículos del FLM crucen la línea media del tubo neural y proyecten contralateralmente de modo aberrante⁽²¹⁾ (Fig. 2). La falta de proyección axonal o la proyección aberrante de los axones puede llevar a fallas en la funcionalidad del sistema nervioso, de manera que las mutaciones o ausencia de algunas de las proteínas implicadas en la guía axonal se han relacionado con patologías como la esquizofrenia, desordenes bipolares, retardo mental, dislexia, autismo e inhibición de la regeneración del sistema nervioso central⁽²²⁻²⁶⁾.

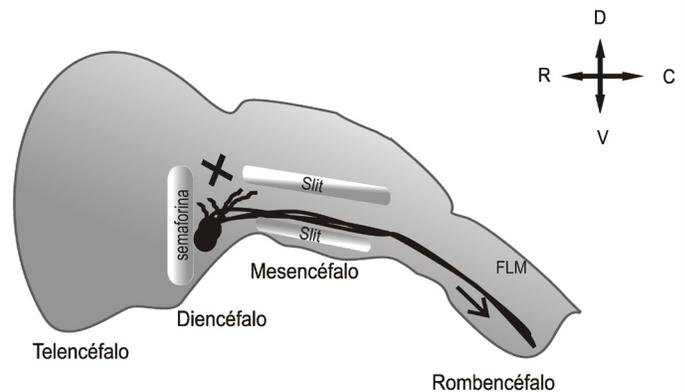


Figura 2. Representación del tubo neural en desarrollo donde se señala el sitio de proyección del fascículo longitudinal medio (FLM) a partir de la zona del preteectum en el diencefalo. Este tracto longitudinal de proyección caudal está delimitado por la expresión de semaforina 3A que impide su proyección rostral, y por las proteínas slit en la zona dorsal y ventral del tubo neural, ubicando así la proyección del fascículo en la zona ventral del embrión. D, dorsal, V, ventral, R, rostral, C, caudal. (Modificado de Ahsan y cols. 2007).

Moléculas Quimiotrópicas

Las moléculas quimiotrópicas son señales químicas que pueden ser secretadas y difundidas a gran distancia, o estar ancladas a la matriz extracelular o a la membrana de otras células, y se caracterizan por formar gradientes de concentración que determina la dirección de las neuritas⁽²⁰⁾. Experimentos pioneros realizados con explantes del ganglio trigémino mostraron que las neuronas del ganglio son incapaces de proyectar sus axones cuando son cultivadas *in vitro* en una matriz de colágena, aún con la presencia del factor de crecimiento neural (NGF); sin embargo al estar en presencia del sitio blanco de invasión en el embrión, un explante del arco maxilar, se induce la proyección

de los axones en dirección del explante ⁽²⁷⁾. Posteriormente se describió que el arco maxilar tiene efectos atrayentes o repelentes para el ganglio trigémino dependiendo del estadio embrionario del que se obtenga ⁽²⁸⁾, mostrando que la regulación espacio-temporal de la expresión de proteínas quimiotrópicas es determinante para la correcta inervación.

Entre las moléculas quimiotrópicas más importantes encontramos a las proteínas netrinas, slits, semaforinas y efrinas.

Las netrinas fueron descubiertas primeramente en el nematodo *Caenorhabditis elegans* al observar que mutantes de la proteína unc-6, la versión de netrina en este nematodo, presentaba alteraciones en la proyección de los axones que proyectan de la zona dorsal a la ventral ⁽²⁹⁾. Posteriormente, también en este nematodo, se identificaron las proteínas transmembranales que funcionan como receptores a netrina ^(29, 30). Al igual que en el caso de otras moléculas quimiotrópicas, las netrinas y sus receptores presentan homólogos en vertebrados ⁽³¹⁻³⁴⁾, lo que destaca la permanencia y conservación de estos sistemas de guía a lo largo de la evolución. Las netrinas son proteínas secretadas y bifuncionales con efectos tanto atrayentes como repelentes; así en presencia del receptor DCC (siglas que corresponden al nombre en inglés *deleted in colorectal cancer*), el efecto es atrayente, y si interacciona con el receptor Unc 5 o con el heterodímero DCC-Unc5 el efecto es repelente ⁽³⁵⁾.

Las proteínas slit son proteínas secretadas de efecto repelente, originalmente se describieron en la mosca *Drosophila melanogaster* durante la guía de las neuronas comisurales que se localizan en la zona dorsal del tubo neural y proyectan hacia la zona ventral para atravesar la línea media ventral o placa del piso, y continuar su proyección en el lado contralateral a su sitio de origen ^(36, 37). En esta proyección también están implicadas las netrinas aunque con efectos contrapuestos. Las netrinas atraen los axones favoreciendo el cruce de las neuritas hacia el lado contralateral, mientras que las proteínas slit los repelen induciendo que las neuritas dejen la placa del piso y continúen su proyección en la zona contralateral, o que las que han cruzado no regresen al lado ipsilateral ^(38, 39). La proyección de los axones de neuronas comisurales está regulada por un fino control de la expresión de los receptores tanto para netrina como para slit. En el caso de los vertebrados, el receptor a slit conocido como Rig-1 o Robo3, y particularmente la isoforma 3.1, se expresa cuando los axones se aproximan y cruzan la placa del piso. Esta isoforma del receptor interfiere con el efecto repelente de slit mediado por los receptores Robo1 y Robo 2. Posteriormente, al aumentarse la expresión de Robo 1, 2 y la isoforma 3.2, se transduce el efecto repelente y se favorece la salida de los axones de la línea media ventral, evitando así que recrucen la placa del piso. Además se ha reportado la interacción de Robo

con el receptor a netrina DCC, impidiendo la acción atrayente de esta proteína en los axones que han cruzado la línea media ⁽³⁹⁻⁴²⁾.

Las semaforinas son también proteínas secretadas con efectos bifuncionales. Originalmente se describieron por su efecto en el colapso de conos de crecimiento de axones de neuronas sensoriales, recibiendo el nombre de colapsinas ⁽⁴³⁾, posteriormente se han descrito otros miembros de la familia de las semaforinas, todos ellos caracterizados por poseer un dominio de aproximadamente 500 aminoácidos, denominado dominio sema ⁽⁴⁴⁾. Actualmente hay descritas 8 familias de semaforinas entre las que se encuentran las de tipo 1 y 2 en invertebrados, 3-7 en vertebrados y la familia V codificada por virus ⁽⁴⁵⁾. Aunque su papel en la guía y regulación de las proyecciones neuronales es la más característica, las semaforinas están implicadas también en otros eventos celulares como la migración y dirección de las interneuronas provenientes del telencéfalo en zonas de la corteza y el estriado ^(46, 47), la apoptosis en neuronas del ganglio de la raíz dorsal (DRG) ⁽⁴⁸⁾, la formación de espinas y dendritas en neuronas corticales ⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾, y la transmisión sináptica en neuronas del hipocampo ^(52, 53). Las semaforinas pueden ser secretadas o estar ancladas a la membrana celular, y actúan a través del receptor transmembranal denominado plexina, o en el caso de las semaforinas de clase 3 que son secretadas, a través del heterodímero formado por las proteínas transmembranales plexina-neuropilina ⁽⁵⁴⁾.

Las efrinas son proteínas quimiotrópicas ancladas a la membrana celular y se han dividido en dos subclases de acuerdo a su homología, las efrinas de tipo A ancladas a la membrana a través de glucosilfosfatidilinositol (GPI), y las efrinas de clase B ancladas a través de un dominio transmembranal ⁽⁵⁵⁾. Las efrinas actúan a través de receptores transmembranales con actividad de cinasas de tirosina denominados EphA y EphB ⁽⁵⁶⁾. El complejo receptor-ligando transduce señales en ambas direcciones, es decir tanto en la célula que tiene el receptor como en la que expresa el ligando, por lo que se dice que las efrinas actúan de manera bidireccional ^(57, 58). Al igual que para otras proteínas quimiotrópicas las efrinas están altamente conservadas en la evolución, encontrándose en organismos multicelulares simples como *C. elegans*, hasta vertebrados. En el caso de los mamíferos se han descrito al menos 8 tipos de efrinas y 13 tipos diferentes de sus receptores ⁽⁵⁷⁾. El papel de las efrinas durante el desarrollo embrionario es muy extenso ya que no solo están involucradas en la guía axonal o en la arborización y extensión de dendritas; sino también en la segmentación, la migración de las células de la cresta neural y la angiogénesis; además de que se encuentran distribuidas en una gran cantidad de tejidos ⁽⁵⁹⁻⁶²⁾. Originalmente se describió su efecto repelente durante la proyección de las neuronas ganglionares de la retina hacia el tectum óptico. El

patrón estereotipado de esta proyección está dirigido por un gradiente antero-posterior de efrina A2 y por la alta expresión de la efrina A5 en la parte posterior del mismo; así como por la expresión diferencial de los receptores a efrinas en las neuronas ganglionares de la retina⁽⁵⁵⁾. También se han reportado efectos atrayentes de efrinas en neuronas motoras⁽⁶³⁾, y durante la formación del sistema vomeronasal, implicado en la detección de feromonas, en donde la atracción de las neuronas del órgano vomeronasal hacia el bulbo olfatorio está mediado por efrina A-5⁽⁶⁴⁾, entre otros muchos ejemplos.

Fasciculación

Dentro de los mecanismos que guían la proyección axonal es importante destacar el papel que tienen las interacciones entre axones, conocida como fasciculación, y que es mediada a través de proteínas denominadas genéricamente como proteínas de adhesión. De particular importancia son las proteínas de adhesión pertenecientes a la súper familia de las inmunoglobulinas (IgCAMs, siglas provenientes de su nombre en inglés Immunoglobulin cell adhesion molecules). Las IgCAMs participan tanto en la fasciculación como en la desfasciculación que evita la interacción y la formación de haces de fibras nerviosas o fascículos⁽⁶⁵⁾. La interacción entre proteínas de adhesión puede ser homofílica, es decir entre proteínas del mismo tipo que se encuentren en células o axones diferentes; o heterofílica entre diferentes tipos de proteínas de adhesión u otras proteínas transmembranales. Además de mediar la interacción entre axones, algunas proteínas de adhesión participan como co-receptores a moléculas quimiotrópicas y factores de crecimiento, modulando los efectos de crecimiento, atracción o repulsión que ejercen en los axones. Tal es el caso de L1 y TAG-1 que interactúan con el co-receptor a semaforinas, neuropilina 1, modulando su efecto repelente en neuronas corticales y sensoriales respectivamente^(66, 67); o de la proteína de adhesión de la familia L1 denominada NrCAM, que interactúa con el co-receptor neuropilina 2 modulando el efecto de repulsión o atracción de la semaforina 3B y 3F⁽⁶⁸⁾. Factores de crecimiento como el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF), que al interactuar con NrCAM potencia su efecto en el crecimiento y proyección de neuronas hipocámpales⁽⁶⁹⁾ son algunos otros ejemplos.

La importancia de las proteínas de adhesión y sus efectos en la fasciculación se evidencia ante la diversidad de alteraciones en las proyecciones axonales que se presentan en animales experimentales knockout, a los cuales se les ha suprimido la expresión de alguna de estas proteínas⁽⁷⁰⁻⁷³⁾, o en enfermedades y síndromes presentes en humanos que están ligados a mutaciones en proteínas de adhesión tales como esquizofrenia^(26, 74), retardo mental⁽²⁵⁾, o el síndrome de CRASH caracterizado

por presentar hidrocefalia, retardo mental, hipoplasia entre otras alteraciones⁽⁷⁵⁾. En algunos casos como en el de la proteína de adhesión NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule), la adhesión es regulada por modificaciones postraduccionales como la adición de ácido polisiálico, que forma un impedimento estérico y evita las interacciones homofílicas y heterofílicas de las NCAMs, impidiendo la interacción entre axones. Esta modificación postraduccionales es también finamente regulada durante las diferentes etapas del desarrollo embrionario, por lo que en estadios muy tempranos está ausente, aumenta durante etapas posteriores del desarrollo y desaparece en etapas posnatales, manteniéndose sólo en sitios donde se lleva a cabo neurogénesis o en sitios con gran plasticidad neuronal⁽⁷⁶⁾.

La fasciculación es particularmente relevante para la interacción con tractos o fascículos que sirve como guía para otros axones que tienden a elongarse siguiendo las rutas previamente trazadas por axones "pioneros". Los axones "pioneros" son aquellos que proyectan sin la presencia de otros axones con los que puedan interactuar, y funcionan como "andamios" al influir en las rutas que posteriormente seguirán las demás neuritas^(77, 78). Los tractos pioneros se encuentran altamente conservados durante la evolución por lo que en diferentes organismos como el pez cebra, *Xenopus*, o el ratón, los tractos longitudinales descendentes como el de la comisura post-óptica (TPOC), el FLM y el tracto descendente mesencefálico del nervio trigémino (MesV), son los primeros en proyectar sus axones⁽⁷⁹⁾.

Matriz extracelular

La matriz extracelular (ME) está compuesta por glicoproteínas y proteoglicanos que forman un sustrato semisólido y proporciona no solo soporte a las células sino también información mecánica y química. La ME influye en la adhesión, motilidad y guía de las neuronas y sus proyecciones⁽⁸⁰⁾. Entre las glicoproteínas de ME que tiene mayor influencia en la proyección y guía de las neuronas se encuentran la laminina y la tenascina. La laminina es una glicoproteína compuesta por tres subunidades denominadas α , β y γ , cada una con diversas isoformas que se combinan entre sí para formar estructuras cruciformes⁽⁸¹⁾. Existen 15 isoformas de laminina con diversas funciones en la regulación de la adhesión, motilidad y diferenciación celular. En el caso de las neuronas sensoriales por ejemplo, las lamininas 1 y 10 promueven el crecimiento axonal incluso en ausencia de factores tróficos⁽⁸²⁾. Por otra parte las lamininas también pueden modular el efecto de proteínas quimiotrópicas, se ha mostrado que la presencia de laminina-1 puede convertir el efecto de atracción ejercido por netrinas en un efecto repelente para las células ganglionares de la retina⁽⁸³⁾.

La tenascina comprende a una familia de glicoproteínas muy relacionada con el desarrollo del sistema nervioso, se expresa

tempranamente en el neuroepitelio y posteriormente en la glía y las células mesenquimales⁽⁸⁴⁾, y se re-expresa tras una lesión en el sistema nervioso central y periférico⁽⁸⁵⁾. Al igual que otros componentes de ME, la tenascina tiene diversos dominios que ejercen funciones diferenciales sobre las neuronas; por ejemplo, dominios semejantes al factor de crecimiento epidermal (EGF-like regions) tienen un efecto antiadhesivo, mientras que dominios de fibronectina tipo III (FN-III) promueven la adhesión y crecimiento axonal⁽⁸⁶⁾. La expresión de diferentes isoformas de tenascina tipo C, son expresados en el desarrollo embrionario durante la etapa de proyección axonal, de manera que la variante de mayor tamaño estimula la proyección axonal, no así la versión pequeña de la proteína^(87, 88). Además se ha observado que la pequeña secuencia de aminoácidos VFDNFVLK (Val-Phe-Asp-Asn-Phe-Val-Leu-Lys), que se encuentra en los dominios de fibronectina tipo III de la variante de mayor tamaño, es suficiente para estimular el crecimiento *in vitro* de neuronas de cerebelo⁽⁸⁶⁾. Todos los componentes de ME mencionados actúan a través de los receptores heterodiméricos formados por subunidades α y β de integrinas⁽⁸⁹⁾. La activación de integrinas y el reclutamiento posterior de numerosas proteínas forma sitios de adhesión a la ME que se encuentran anclados al citoesqueleto, modulando los diferentes efectos de crecimiento, proliferación, adhesión y orientación de los conos de crecimiento^(18, 90).

Por otra parte, la unión de proteínas secretadas a la ME permite la formación de gradientes de concentración que guían y polarizan la proyección de las neuritas. Experimentos *in vitro* mostraron que al formar gradientes de concentración de BDNF o netrina se puede modular el efecto atrayente o repelente sobre neuronas de hipocampo; así en zonas donde la concentración de BDNF es menor, su efecto es atrayente, y conforme aumenta la concentración las neuronas son repelidas por el factor⁽⁹¹⁾. Por otra parte algunos componentes de la ME funcionan como cofactores para la unión y efecto de factores de crecimiento, tal es el caso del heparán sulfato que modula la acción del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)⁽⁹²⁾. La ME es también un sustrato activamente remodelado por efecto de enzimas proteolíticas como las metaloproteinasas de matriz que pueden liberar factores de crecimiento o moléculas quimiotrópicas unidas a ella, o dejar expuestos sitios específicos de interacción con los axones⁽⁹³⁾. La ausencia de la metaloproteinasa de matriz 9 (MMP-9) por ejemplo, ocasiona defectos en la proyección y proliferación de las células granulares del cerebelo⁽⁹⁴⁾.

Los proteoglicanos de condroitin sulfato (PGCS) son también componentes de la matriz extracelular ampliamente estudiados dada su relevancia en la inhibición de la proyección axonal, particularmente en procesos de regeneración donde se ha demostrado que su expresión está aumentada considerablemente tras una lesión, formando parte del

ambiente inhibitorio que impide la regeneración⁽⁹⁵⁾. Los PGCS son expresados principalmente por astrocitos que forman parte de la cicatriz glial que se forma tras una lesión, y que impiden el crecimiento de los axones no solamente a través del efecto inhibitorio de los proteoglicanos; sino también de otras moléculas que son capaces de unirse a este componente de ME como las glicoproteínas asociadas a mielina (MAG), las glicoproteínas de mielina en oligodendrocitos (OMgp), o la proteína NOGO entre otras⁽⁹⁶⁾.

Propiedades Físicas de la Matriz Extracelular

Las propiedades físicas de la ME, como la rigidez y la topografía, son un aspecto muy interesante y que recientemente ha tomado relevancia como parte de los factores que regulan la proyección axonal. Anteriormente se había observado que la orientación tanto de axones como de componentes de ME determinan la orientación de la proyección neuronal. Se demostró que axones de neuronas de ganglios de la raíz dorsal proyectan siguiendo la orientación de fibras de colágena alineadas paralelamente⁽⁹⁷⁾, más recientemente se mostró que los axones de ganglios de la raíz dorsal migran paralelamente sobre astrocitos que previamente han sido alineados utilizando campos eléctricos⁽⁹⁸⁾. Este fenómeno tiene representación *in vivo* en la migración neuronal durante el desarrollo embrionario, donde las neuronas migran siguiendo la glía radial⁽⁹⁹⁾, o sobre axones previamente establecidos en trayectorias longitudinales a lo largo del tubo neural⁽¹⁰⁰⁾. El desarrollo de sustratos a escalas nanométricas ha permitido revelar que el nivel topográfico del sustrato es relevante para la proyección axonal, de manera que surcos de profundidad de 345 nm o más tienen efecto en el crecimiento orientado de células de las meninges, esto además influye en la organización del citoesqueleto y la formación de adhesiones, las cuales también aparecen orientadas paralelamente al surco⁽¹⁰¹⁾. En el caso de las neuronas hipocámpales, se ha mostrado que orificios de 300 nm tienen un fuerte efecto inductor de la formación de proyecciones en comparación con surcos u orificios de 2 μm ⁽¹⁰²⁾. Más aún al exponer neuronas hipocámpales a sustratos con proteínas como laminina o NGF, o a un sustrato con microsurcos, las neuronas mostraron una preferencia de alrededor del 70% por el sustrato con microtopografía, que a uno con señales químicas⁽¹⁰³⁾, destacando la importancia de las propiedades topográficas para la estimulación de proyección axonal.

La rigidez del sustrato es otra propiedad de la matriz extracelular que parece tener efectos importantes en la proyección axonal. Se entiende como rigidez la capacidad de un sustrato de soportar un esfuerzo sin adquirir deformación. El cerebro es uno de los tejidos más suaves del cuerpo (0.1-10kPa)^(104, 105), en comparación con el músculo (100 kPa)^(106, 107), o el

hueso (10^6 kPa)⁽¹⁰⁶⁾. Se ha reportado que los axones de neuronas de ganglios de la raíz dorsal incrementan su longitud en sustratos suaves^(108, 109), un efecto similar se ha observado en neuronas hipocampales⁽¹¹⁰⁾; además, la ramificación de las neuronas parece ser estimulada en sustratos suaves en comparación con sustratos rígidos⁽¹⁰⁸⁾. Finalmente la rigidez del sustrato parece tener efectos en la diferenciación y sobrevivencia neuronal. Los sustratos más rígidos estimulan la sobrevivencia de la glía, mientras que sustratos blandos inducen la presencia de neuronas corticales⁽¹¹¹⁾, e incluso la rigidez del sustrato tiene un importante papel en procesos de diferenciación de células mesenquimales hacia fenotipos neuronales⁽¹⁰⁷⁾. Lo anterior hace patente que las propiedades físicas de la matriz extracelular son un aspecto más que habrá que estudiar y tomar en cuenta sobretodo y con especial relevancia en el desarrollo de biomateriales que puedan ser usados como andamios para el crecimiento de neuronas y para la reparación de lesiones en el sistema nervioso.

Proyección axonal y neuroregeneración

La recuperación funcional del tejido dañado tras una lesión en el sistema nervioso, conlleva la reparación de los circuitos neuronales a través de la regeneración axonal y del restablecimiento de las conexiones específicas; sin embargo la capacidad de regeneración del sistema nervioso es limitada. En general se sabe que el sistema nervioso periférico (SNP) tiene una mayor capacidad de regeneración en comparación con el sistema nervioso central (SNC). Al parecer esto se debe al ambiente en el cual unos u otros axones tienen que crecer y regenerarse, a la diferencia en los procesos inflamatorios, así como a las propiedades intrínsecas de las neuronas⁽¹¹²⁾. Los axones seccionados en el SNP tienden a crecer distancias mayores que los del SNC, y al parecer la presencia de células de Schwann alineadas longitudinalmente y que forman estructuras conocidas como bandas de Büngner facilitan y promueven el crecimiento axonal⁽¹¹³⁾. Los estudio de implantes de nervios periféricos a manera de "puentes" mostraron que promueven el crecimiento de axones de neuronas del SNC⁽¹¹⁴⁾. A diferencia del SNP, en el SNC existe la formación de una cicatriz glial que consiste en astrocitos, microglía y fibroblastos que forman no solo una barrera física que impide el crecimiento axonal, sino que también contiene factores inhibidores del crecimiento como las MAG o proteínas quimiotrópicas inhibitoras. En el caso del tejido embrionario los astrocitos aparecen de manera tardía y no intervienen en procesos de regeneración en esta etapa⁽¹¹⁵⁾. Un ejemplo interesante es la semaforina 3A que como se mencionó anteriormente, está implicada en la formación de diversos tractos en el desarrollo embrionario y en general su expresión disminuyen en el cerebro adulto; sin embargo tras una lesión se re-expresa. Se ha observado que en lesiones de la

médula espinal, los fibroblastos de las meninges invaden el sitio de la herida formando parte de la cicatriz y secretan semaforinas y componentes de matriz extracelular como PGCS, a los cuales se asocian las semaforinas^(116, 117). De manera interesante la inhibición de la señalización de la semaforina 3A por el compuesto SM-216289 derivado de un hongo, ha mostrado promover la regeneración anatómica y funcional en lesiones de la medula espinal en ratas⁽¹¹⁸⁾.

Cabe señalar que las semaforinas tiene también un papel importante en el mantenimiento de las sinapsis y los fenómenos de plasticidad neuronal, se plantea que no solo tiene un efecto negativo en la regeneración, sino que podrían dirigir y promover la invasión correcta de los axones en regeneración⁽¹¹⁹⁾, o incluso de neuronas implantadas en terapias de sustitución celular⁽¹²⁰⁾. Por otra parte, la interacción de las proteínas quimiotrópicas con los componentes de matriz extracelular pueden modular los procesos de regeneración. Se ha observado que al interferir con la interacción entre semaforina 3A y los PGCS se pierde el efecto repelente de la proteína quimiotrópica⁽¹¹⁶⁾. Los PGCS tiene además un papel importante en la adhesión de las células de Schwann tras una lesión en la médula espinal, las cuales a su vez expresan moléculas de adhesión celular como L1 y NCAM que pueden funcionar como sustratos permisivos para el crecimiento axonal⁽¹²¹⁾.

Desarrollo de Biomateriales

El conocimiento de los factores que favorecen el crecimiento axonal está siendo aplicado para diseñar biomateriales que mimeticen los sustratos permisivos y permitan la regeneración. Un ejemplo interesante es el uso de biomateriales como andamios. Se han diseñado materiales poliméricos "funcionalizados", ya sea utilizando moléculas de adhesión tales como L1, NCAM o TAG1, o proteínas de ME como laminina o tenascina, o incluso péptidos que corresponden a los sitios activos de estos componentes de matriz extracelular, que proveen un sustrato permisivo para la adhesión y el crecimiento axonal⁽¹²²⁻¹²⁵⁾ (Fig. 3). Actualmente, la ingeniería de tejidos desarrolla biomateriales que imitan las bandas de Büngner que permiten el crecimiento alineado de las células de Schwann y favorecen la proyección de axones. A este respecto se han usado por ejemplo nanofibras alineadas que permiten la orientación longitudinal de las células de Schwann, y que estimula la expresión de mielina⁽¹²⁶⁾, por otra parte microsurcos o microporos que permiten la alineación de las células de Schwann favorecen el crecimiento de axones de las neuronas de los ganglios de la raíz dorsal⁽¹²⁷⁻¹²⁹⁾.

Una de las estrategias que se aplican en la regeneración de lesiones en el sistema nervioso periférico es el uso de implantes de fibras nerviosas autólogas; sin embargo estos procedimientos tiene inconvenientes como pérdida de función del sitio donador,

posible desarrollo de neuromas, y escasos de material para implantar; por lo que se han desarrollado canales de diversos biomateriales que tiene mayor disponibilidad y favorecen el crecimiento de los axones, impidiendo la formación de cicatrices gliales, y liberando factores de crecimiento implicados en la estimulación del crecimiento axonal ⁽¹³⁰⁾. Estas estrategias han sido particularmente probadas en lesiones de la médula espinal e incluso existen algunos productos ya aprobados por la FDA para el tratamiento de lesiones en nervios periféricos ⁽¹³¹⁾. Por otra parte el uso de biomateriales con características topográficas nanométricas, y sustrato con rigidez controlada parecen ser una alternativa viable para estimular el crecimiento axonal ⁽¹⁹⁾. Las técnicas de microlitografía utilizada en la elaboración de microcircuitos en la industria electrónica han sido adaptada para la generación de micro y nano- patrones en materiales poliméricos biocompatibles⁽¹³¹⁾, que permiten el crecimiento y alineación de las neuronas y sus proyecciones. Finalmente, se están utilizando también biomateriales que permiten simular gradientes tanto químicos como mecánicos que emulan los gradientes presentes durante el desarrollo embrionario y que son determinantes para la proyección y guía axonal ⁽¹³²⁾.

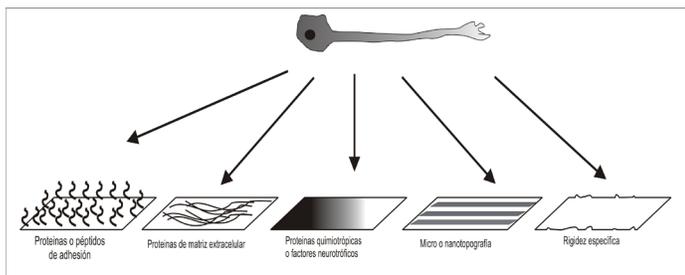


figura 3. esquema que representa algunas de las diferentes estrategias para promover la proyección de neuritas utilizando biomateriales funcionalizados, o con topografía o rigidez específica.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La comprensión de los elementos que determinan la capacidad de elongación e invasión neuronal durante el desarrollo embrionario, cuando las redes neuronales se encuentran en formación, ofrece información sumamente importante para promover la neuroregeneración en etapas posteriores. Numerosas estrategias se han encaminado a mimetizar o reproducir un ambiente extracelular propicio semejante al que se observa cuando la proyección neuronal es favorecida. Entre las estrategias se encuentra el diseño de biomateriales con propiedades químicas y físicas semejantes a las de la ME, mostrando que es posible inducir, estimular, y guiar la proyección neuronal, utilizando estos sustratos como "puentes" que eluden las señales y sustratos inhibidores. Aunque a la fecha los resultados son prometedores, muchas de estas estrategias se

encuentran en fase experimental y será necesario mantener la relación multidisciplinaria entre la neurobiología del desarrollo, el campo de los biomateriales y la neurología clínica, para llevar los resultados experimentales a su aplicación final en los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Yamada KM, Wessells NK. Axon elongation. Effect of nerve growth factor on microtubule protein. *Exp Cell Res* 1971; 66:346-52.
2. Ramón y Cajal S. Sobre la aparición de las expansiones celulares en la médula embrionaria. *Gaceta Sanitaria de Barcelona* 1890; 413-9.
3. Suter DM, Forscher P. Substrate-cytoskeletal coupling as a mechanism for the regulation of growth cone motility and guidance. *J Neurobiol* 2000; 44:97-113.
4. Goldberg DJ, Burmeister DW. Stages in axon formation: observations of growth of Aplysia axons in culture using video-enhanced contrast-differential interference contrast microscopy. *J Cell Biol* 1986; 103:1921-31.
5. Hall A, Lalli G. Rho and Ras GTPases in axon growth, guidance, and branching. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2:a001818.
6. Wen Z, Zheng JQ. Directional guidance of nerve growth cones. *Curr Opin Neurobiol* 2006; 16:52-8.
7. Dent EW, Tang F, Kalil K. Axon guidance by growth cones and branches: common cytoskeletal and signaling mechanisms. *Neuroscientist* 2003; 9:343-53.
8. Fan J, Mansfield SG, Redmond T, Gordon-Weeks PR, Raper JA. The organization of F-actin and microtubules in growth cones exposed to a brain-derived collapsing factor. *J Cell Biol* 1993; 121:867-78.
9. Zhou FQ, Cohan CS. Growth cone collapse through coincident loss of actin bundles and leading edge actin without actin depolymerization. *J Cell Biol* 2001; 153:1071-84.
10. Drees F, Gertler FB. Ena/VASP: proteins at the tip of the nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 2008; 18:53-9.
11. Pantaloni D, Carlier MF. How profilin promotes actin filament assembly in the presence of thymosin beta 4. *Cell* 1993; 75:1007-14.
12. Wills Z, Marr L, Zinn K, Goodman CS, Van Vactor D. Profilin and the Abl tyrosine kinase are required for motor axon outgrowth in the Drosophila embryo. *Neuron* 1999; 22:291-9.
13. Carlier MF, Laurent V, Santolini J, Melki R, Didry D, Xia GX, et al. Actin depolymerizing factor (ADF/cofilin) enhances the rate of filament turnover: implication in actin-based motility. *J Cell Biol* 1997; 136:1307-22.
14. Moriyama K, Yahara I. Two activities of cofilin, severing and accelerating directional depolymerization of actin filaments, are affected differentially by mutations around the actin-binding helix. *EMBO J* 1999; 18:6752-61.
15. Yin HL, Stossel TP. Control of cytoplasmic actin gel-sol transformation by gelsolin, a calcium-dependent regulatory protein. *Nature* 1979; 281:583-6.
16. Lin CH, Forscher P. Growth cone advance is inversely proportional to retrograde F-actin flow. *Neuron* 1995; 14:763-71.
17. Long KE, Lemmon V. Dynamic regulation of cell adhesion molecules during axon outgrowth. *J Neurobiol* 2000; 44:230-45.
18. Robles E, Gomez TM. Focal adhesion kinase signaling at sites of integrin-mediated adhesion controls axon pathfinding. *Nat Neurosci* 2006; 9:1274-83.
19. Moore SW, Sheetz MP. Biophysics of substrate interactions: influence on neural motility, differentiation and repair. *Dev Neurobiol* 2011; 71:1090-101.
20. Tessier-Lavigne M, Goodman CS. The molecular biology of axon guidance. *Science* 1996; 274:1123-33.

21. Ahsan M, Riley KL, Schubert FR. Molecular mechanisms in the formation of the medial longitudinal fascicle. *J Anat* 2007; 211:177-87.
22. Anitha A, Nakamura K, Yamada K, Suda S, Thanseem I, Tsujii M, et al. Genetic analyses of roundabout (ROBO) axon guidance receptors in autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008; 147B:1019-27.
23. Atz ME, Rollins B, Vawter MP. NCAM1 association study of bipolar disorder and schizophrenia: polymorphisms and alternatively spliced isoforms lead to similarities and differences. *Psychiatr Genet* 2007; 17:55-67.
24. Benítez-Burraco A. Neurobiology and neurogenetics of dyslexia. *Neurologia* 2010; 25:563-81.
25. Kenwrick S, Watkins A, De Angelis E. Neural cell recognition molecule L1: relating biological complexity to human disease mutations. *Hum Mol Genet* 2000; 9:879-86.
26. Vawter MP. Dysregulation of the neural cell adhesion molecule and neuropsychiatric disorders. *Eur J Pharmacol* 2000; 405:385-95.
27. Lumsden AG, Davies AM. Earliest sensory nerve fibres are guided to peripheral targets by attractants other than nerve growth factor. *Nature* 1983; 306:786-8.
28. Rochlin MW, Farbman AI. Trigeminal ganglion axons are repelled by their presumptive targets. *J Neurosci* 1998; 18:6840-52.
29. Hedgecock EM, Culotti JG, Hall DH. The unc-5, unc-6, and unc-40 genes guide circumferential migrations of pioneer axons and mesodermal cells on the epidermis in *C. elegans*. *Neuron* 1990; 4:61-85.
30. Chan SS, Zheng H, Su MW, Wilk R, Killeen MT, Hedgecock EM, et al. UNC-40, a *C. elegans* homolog of DCC (Deleted in Colorectal Cancer), is required in motile cells responding to UNC-6 netrin cues. *Cell* 1996; 87:187-95.
31. Brose K, Bland KS, Wang KH, Arnott D, Henzel W, Goodman CS, et al. Slit proteins bind Robo receptors and have an evolutionarily conserved role in repulsive axon guidance. *Cell* 1999; 96:795-806.
32. Itoh A, Miyabayashi T, Ohno M, Sakano S. Cloning and expressions of three mammalian homologues of *Drosophila* slit suggest possible roles for Slit in the formation and maintenance of the nervous system. *Brain Res Mol Brain Res* 1998; 62:175-86.
33. Keino-Masu K, Masu M, Hinck L, Leonardo ED, Chan SS, Culotti JG, et al. Deleted in Colorectal Cancer (DCC) encodes a netrin receptor. *Cell* 1996; 87:175-85.
34. Serafini T, Kennedy TE, Galko MJ, Mirzayan C, Jessell TM, Tessier-Lavigne M. The netrins define a family of axon outgrowth-promoting proteins homologous to *C. elegans* UNC-6. *Cell* 1994; 78:409-24.
35. Moore SW, Tessier-Lavigne M, Kennedy TE. Netrins and their receptors. *Adv Exp Med Biol* 2007; 621:17-31.
36. Dickson BJ, Gilestro GF. Regulation of commissural axon pathfinding by slit and its Robo receptors. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2006; 22:651-75.
37. Kidd T, Bland KS, Goodman CS. Slit is the midline repellent for the robo receptor in *Drosophila*. *Cell* 1999; 96:785-94.
38. Reeber SL, Kaprielian Z. Leaving the midline: how Robo receptors regulate the guidance of post-crossing spinal commissural axons. *Cell Adh Migr* 2009; 3:300-4.
39. Stein E, Tessier-Lavigne M. Hierarchical organization of guidance receptors: silencing of netrin attraction by slit through a Robo/DCC receptor complex. *Science* 2001; 291:1928-38.
40. Chen Z, Gore BB, Long H, Ma L, Tessier-Lavigne M. Alternative splicing of the Robo3 axon guidance receptor governs the midline switch from attraction to repulsion. *Neuron* 2008; 58:325-32.
41. Mambetisaeva ET, Andrews W, Camurri L, Annan A, Sundaresan V. Robo family of proteins exhibit differential expression in mouse spinal cord and Robo-Slit interaction is required for midline crossing in vertebrate spinal cord. *Dev Dyn* 2005; 233:41-51.
42. Sabatier C, Plump AS, Le M, Brose K, Tamada A, Murakami F, et al. The divergent Robo family protein rig-1/Robo3 is a negative regulator of slit responsiveness required for midline crossing by commissural axons. *Cell* 2004; 117:157-69.
43. Luo Y, Raible D, Raper JA. Collapsin: a protein in brain that induces the collapse and paralysis of neuronal growth cones. *Cell* 1993; 75:217-27.
44. Gherardi E, Love CA, Esnouf RM, Jones EY. The sema domain. *Curr Opin Struct Biol* 2004; 14:669-78.
45. Semaphorin nomenclature committee. Unified nomenclature for the semaphorins/collapsins. *Cell* 1999; 97:551-2.
46. He Z, Wang KC, Koprivica V, Ming G, Song HJ. Knowing how to navigate: mechanisms of semaphorin signaling in the nervous system. *Science's STKE* 2002; 2002:re1.
47. Marin O, Yaron A, Bagri A, Tessier-Lavigne M, Rubenstein JL. Sorting of striatal and cortical interneurons regulated by semaphorin-neuropilin interactions. *Science* 2001; 293:872-5.
48. Ben-Zvi A, Yagil Z, Hagalili Y, Klein H, Lerman O, Behar O. Semaphorin 3A and neurotrophins: a balance between apoptosis and survival signaling in embryonic DRG neurons. *J Neurochem* 2006; 96:585-97.
49. Fenstermaker V, Chen Y, Ghosh A, Yuste R. Regulation of dendritic length and branching by semaphorin 3A. *J Neurobiol* 2004; 58:403-12.
50. Morita A, Yamashita N, Sasaki Y, Uchida Y, Nakajima O, Nakamura F, et al. Regulation of dendritic branching and spine maturation by semaphorin3A-Fyn signaling. *J Neurosci* 2006; 26:2971-80.
51. Polleux F, Morrow T, Ghosh A. Semaphorin 3A is a chemoattractant for cortical apical dendrites. *Nature* 2000; 404:567-73.
52. Bouzioukh F, Daoudal G, Falk J, Debanne D, Rougon G, Castellani V. Semaphorin3A regulates synaptic function of differentiated hippocampal neurons. *Eur J Neurosci* 2006; 23:2247-54.
53. Sahay A, Kim CH, Sepkuty JP, Cho E, Huganir RL, Ginty DD, et al. Secreted semaphorins modulate synaptic transmission in the adult hippocampus. *J Neurosci* 2005; 25:3613-20.
54. Tran TS, Kolodkin AL, Bharadwaj R. Semaphorin regulation of cellular morphology. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007; 23:263-92.
55. O'Leary DD, Wilkinson DG. Eph receptors and ephrins in neural development. *Curr Opin Neurobiol* 1999; 9:65-73.
56. Gale NW, Holland SJ, Valenzuela DM, Flenniken A, Pan L, Ryan TE, et al. Eph receptors and ligands comprise two major specificity subclasses and are reciprocally compartmentalized during embryogenesis. *Neuron* 1996; 17:9-19.
57. Davy A, Soriano P. Ephrin signaling in vivo: look both ways. *Dev Dyn* 2005; 232:1-10.
58. Holland SJ, Gale NW, Mbamalu G, Yancopoulos GD, Henkemeyer M, Pawson T. Bidirectional signalling through the EPH-family receptor Nuk and its transmembrane ligands. *Nature* 1996; 383:722-5.
59. Hindges R, McLaughlin T, Genoud N, Henkemeyer M, O'Leary DD. EphB forward signaling controls directional branch extension and arborization required for dorsal-ventral retinotopic mapping. *Neuron* 2002; 35:475-87.
60. Holder N, Klein R. Eph receptors and ephrins: effectors of morphogenesis. *Development* 1999; 126:2033-44.
61. Holmberg J, Clarke DL, Frisen J. Regulation of repulsion versus adhesion by different splice forms of an Eph receptor. *Nature* 2000; 408:203-6.
62. Wilkinson DG. Multiple roles of EPH receptors and ephrins in neural development. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2:155-64.
63. Eberhart J, Barr J, O'Connell S, Flagg A, Swartz ME, Cramer KS, et al. Ephrin-A5 exerts positive or inhibitory effects on distinct subsets of EphA4-positive motor neurons. *J Neurosci* 2004; 24:1070-8.
64. Knoll B, Zerbatis K, Wurst W, Drescher U. A role for the EphA family in the topographic targeting of vomeronasal axons. *Development* 2001; 28:895-906.

65. Maness PF, Schachner M. Neural recognition molecules of the immunoglobulin superfamily: signaling transducers of axon guidance and neuronal migration. *Nat Neurosci* 2007; 10:19-26.
66. Castellani V, De Angelis E, Kenwrick S, Rougon G. Cis and trans interactions of L1 with neuropilin-1 control axonal responses to semaphorin 3A. *EMBO J* 2002; 21:6348-57.
67. Law CO, Kirby RJ, Aghamohammadzadeh S, Furley AJ. The neural adhesion molecule TAG-1 modulates responses of sensory axons to diffusible guidance signals. *Development* 2008; 135:2361-71.
68. Falk J, Bechara A, Fiore R, Nawabi H, Zhou H, Hoyo-Becerra C, et al. Dual functional activity of semaphorin 3B is required for positioning the anterior commissure. *Neuron* 2005; 48:63-75.
69. Paratcha G, Ledda F, Ibanez CF. The neural cell adhesion molecule NCAM is an alternative signaling receptor for GDNF family ligands. *Cell* 2003; 113:867-79.
70. Cohen NR, Taylor JS, Scott LB, Guillery RW, Soriano P, Furley AJ. Errors in corticospinal axon guidance in mice lacking the neural cell adhesion molecule L1. *Curr Biol* 1998; 8:26-33.
71. Demyanenko GP, Siesser PF, Wright AG, Brennaman LH, Bartsch U, Schachner M, et al. L1 and CHL1 Cooperate in Thalamocortical Axon Targeting. *Cereb Cortex* 2011; 21:401-12.
72. Nakamura Y, Lee S, Haddox CL, Weaver EJ, Lemmon VP. Role of the cytoplasmic domain of the L1 cell adhesion molecule in brain development. *J Comp Neurol* 2010; 518:1113-32.
73. Williams SE, Grumet M, Colman DR, Henkemeyer M, Mason CA, Sakurai T. A role for Nr-CAM in the patterning of binocular visual pathways. *Neuron* 2006; 50:535-47.
74. Kurumaji A, Nomoto H, Okano T, Toru M. An association study between polymorphism of L1CAM gene and schizophrenia in a Japanese sample. *Am J Med Genet* 2001; 105:99-104.
75. Zhang L. CRASH syndrome: does it teach us about neurotrophic functions of cell adhesion molecules? *Neuroscientist* 2010; 16:470-4.
76. Bonfanti L. PSA-NCAM in mammalian structural plasticity and neurogenesis. *Prog Neurobiol* 2006; 80:129-64.
77. Easter SS, Jr., Burrill J, Marcus RC, Ross LS, Taylor JS, Wilson SW. Initial tract formation in the vertebrate brain. *Prog Brain Res* 1994; 102:79-93.
78. Goodman CS, Shatz CJ. Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity. *Cell* 1993; 72 Suppl:77-98.
79. Chedotal A, Richards LJ. Wiring the brain: the biology of neuronal guidance. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2:a001917.
80. Hynes RO. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science* 2009; 326:1216-9.
81. Burgeson RE, Chiquet M, Deutzmann R, Ekblom P, Engel J, Kleinman H, et al. A new nomenclature for the laminins. *Matrix Biol* 1994; 14:209-11.
82. Plantman S, Patarroyo M, Fried K, Domogatskaya A, Tryggvason K, Hammarberg H, et al. Integrin-laminin interactions controlling neurite outgrowth from adult DRG neurons in vitro. *Mol Cell Neurosci* 2008; 39:50-62.
83. Hopker VH, Shewan D, Tessier-Lavigne M, Poo M, Holt C. Growth-cone attraction to netrin-1 is converted to repulsion by laminin-1. *Nature* 1999; 401:69-73.
84. Sanes JR. Extracellular matrix molecules that influence neural development. *Annu Rev Neurosci* 1989; 12:491-516.
85. Sanes JR, Schachner M, Covault J. Expression of several adhesive macromolecules (N-CAM, L1, J1, NILE, uvomorulin, laminin, fibronectin, and a heparan sulfate proteoglycan) in embryonic, adult, and denervated adult skeletal muscle. *J Cell Biol* 1986; 102:420-31.
86. Meiners S, Nur-e-Kamal MS, Mercado ML. Identification of a neurite outgrowth-promoting motif within the alternatively spliced region of human tenascin-C. *J Neurosci* 2001; 21:7215-25.
87. Jones FS, Jones PL. The tenascin family of ECM glycoproteins: structure, function, and regulation during embryonic development and tissue remodeling. *Dev Dyn* 2000; 218:235-59.
88. Mercado ML, Nur-e-Kamal A, Liu HY, Gross SR, Movahed R, Meiners S. Neurite outgrowth by the alternatively spliced region of human tenascin-C is mediated by neuronal alpha7beta1 integrin. *J Neurosci* 2004; 24:238-47.
89. Jones LS. Integrins: possible functions in the adult CNS. *Trends Neurosci* 1996; 19:68-72.
90. Gomez TM, Roche FK, Letourneau PC. Chick sensory neuronal growth cones distinguish fibronectin from laminin by making substratum contacts that resemble focal contacts. *J Neurobiol* 1996; 29:18-34.
91. Mai J, Fok L, Gao H, Zhang X, Poo MM. Axon initiation and growth cone turning on bound protein gradients. *J Neurosci* 2009; 29:7450-8.
92. Mohammadi M, Olsen SK, Goetz R. A protein canyon in the FGF-FGF receptor dimer selects from an a la carte menu of heparan sulfate motifs. *Curr Opin Struct Biol* 2005; 15:506-16.
93. Wojcik-Stanaszek L, Gregor A, Zalewska T. Regulation of neurogenesis by extracellular matrix and integrins. *Acta Neurobiol Exp* 2011; 71:103-12.
94. Vaillant C, Meissirel C, Mutin M, Belin MF, Lund LR, Thomasset N. MMP-9 deficiency affects axonal outgrowth, migration, and apoptosis in the developing cerebellum. *Mol Cell Neurosci* 2003; 24:395-408.
95. Properzi F, Asher RA, Fawcett JW. Chondroitin sulphate proteoglycans in the central nervous system: changes and synthesis after injury. *Biochem Soc Trans* 2003; 31:335-6.
96. Xie F, Zheng B. White matter inhibitors in CNS axon regeneration failure. *Exp Neurol* 2008; 209:302-12.
97. Ebdend T. The relative roles of contact inhibition and contact guidance in orientation of axons extending on aligned collagen fibrils in vitro. *Exp Cell Res* 1976; 98:159-69.
98. Alexander JK, Fuss B, Colello RJ. Electric field-induced astrocyte alignment directs neurite outgrowth. *Neuron Glia Biol* 2006; 2:93-103.
99. Rakic P. Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex. *J Comp Neurol* 1972; 145:61-83.
100. Hynes RO, Patel R, Miller RH. Migration of neuroblasts along preexisting axonal tracts during prenatal cerebellar development. *J Neurosci* 1986; 6:867-76.
101. Manwaring ME, Walsh JF, Tresco PA. Contact guidance induced organization of extracellular matrix. *Biomaterials* 2004; 25:3631-8.
102. Fozdar DY, Lee YJ, Schmidt CE, Chen S. Selective axonal growth of embryonic hippocampal neurons according to topographic features of various sizes and shapes. *Int J Nanomedicine* 2011; 6:45-57.
103. Gomez N, Chen S, Schmidt CE. Polarization of hippocampal neurons with competitive surface stimuli: contact guidance cues are preferred over chemical ligands. *J R Soc Interface* 2007; 4:223-33.
104. Elkin BS, Morrison B, 3rd. Region-specific tolerance criteria for the living brain. *Stapp Car Crash J* 2007; 51:127-38.
105. Gefen A, Gefen N, Zhu Q, Raghupathi R, Margulies SS. Age-dependent changes in material properties of the brain and braincase of the rat. *J Neurotrauma* 2003; 20:1163-77.
106. Discher DE, Janmey P, Wang YL. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate. *Science* 2005; 310:1139-43.
107. Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell* 2006; 126:677-89.
108. Flanagan LA, Ju YE, Marg B, Osterfield M, Janmey PA. Neurite branching on deformable substrates. *Neuroreport* 2002; 13:2411-5.
109. Willits RK, Skornia SL. Effect of collagen gel stiffness on neurite extension. *J Biomater Sci Polym Ed* 2004; 15:1521-31.
110. Kostic A, Sap J, Sheetz MP. RPTalpha is required for rigidity-dependent inhibition of extension and differentiation of hippocampal neurons. *J Cell Sci* 2007; 120:3895-904.
111. Georges PC, Miller WJ, Meaney DF, Sawyer ES, Janmey PA. Matrices with compliance comparable to that of brain tissue select neuronal over glial growth in mixed cortical cultures. *Biophys J* 2006;

- 90:3012-8.
112. Giger RJ, Hollis ER, 2nd, Tuszynski MH. Guidance molecules in axon regeneration. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2:a001867.
113. Aguayo AJ, Bray GM, Perkins SC. Axon-Schwann cell relationships in neuropathies of mutant mice. *Ann N Y Acad Sci* 1979; 317:512-31.
114. David S, Aguayo AJ. Axonal elongation into peripheral nervous system "bridges" after central nervous system injury in adult rats. *Science* 1981; 214:931-3.
115. Ueno M, Katayama K, Yamauchi H, Yasoshima A, Nakayama H, Doi K. Repair process of fetal brain after 5-azacytidine-induced damage. *Eur J Neurosci* 2006; 24:2758-68.
116. Pasterkamp RJ, Verhaagen J. Semaphorins in axon regeneration: developmental guidance molecules gone wrong? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006; 361:1499-511.
117. Tannemaat MR, Korecka J, Ehlert EM, Mason MR, van Duinen SG, Boer GJ, et al. Human neuroma contains increased levels of semaphorin 3A, which surrounds nerve fibers and reduces neurite extension in vitro. *J Neurosci* 2007; 27:14260-4.
118. Kaneko S, Iwanami A, Nakamura M, Kishino A, Kikuchi K, Shibata S, et al. A selective Sema3A inhibitor enhances regenerative responses and functional recovery of the injured spinal cord. *Nat Med* 2006; 12:1380-9.
119. Ziemba KS, Chaudhry N, Rabchevsky AG, Jin Y, Smith GM. Targeting axon growth from neuronal transplants along preformed guidance pathways in the adult CNS. *J Neurosci* 2008; 28:340-8.
120. Tamariz E, Diaz-Martinez NE, Diaz NF, Garcia-Pena CM, Velasco I, Varela-Echavarría A. Axon responses of embryonic stem cell-derived dopaminergic neurons to semaphorins 3A and 3C. *J Neurosci Res* 2010; 88:971-80.
121. Jones LL, Sajed D, Tuszynski MH. Axonal regeneration through regions of chondroitin sulfate proteoglycan deposition after spinal cord injury: a balance of permissiveness and inhibition. *J Neurosci* 2003; 23:9276-88.
122. Mosahebi A, Wiberg M, Terenghi G. Addition of fibronectin to alginate matrix improves peripheral nerve regeneration in tissue-engineered conduits. *Tissue Eng* 2003; 9:209-18.
123. Rao SS, Winter JO. Adhesion molecule-modified biomaterials for neural tissue engineering. *Front Neuroeng* 2009; 2:6.
124. Straley KS, Foo CW, Heilshorn SC. Biomaterial design strategies for the treatment of spinal cord injuries. *J Neurotrauma* 2010; 27:1-19.
125. Suzuki M, Itoh S, Yamaguchi I, Takakuda K, Kobayashi H, Shinomiya K, et al. Tendon chitosan tubes covalently coupled with synthesized laminin peptides facilitate nerve regeneration in vivo. *J Neurosci Res* 2003; 72:646-59.
126. Chew SY, Mi R, Hoke A, Leong KW. The effect of the alignment of electrospun fibrous scaffolds on Schwann cell maturation. *Biomaterials* 2008; 29:653-61.
127. Bozkurt A, Deumens R, Beckmann C, Olde Damink L, Schugner F, Heschel I, et al. In vitro cell alignment obtained with a Schwann cell enriched microstructured nerve guide with longitudinal guidance channels. *Biomaterials* 2009; 30:169-79.
128. Hu W, Gu J, Deng A, Gu X. Polyglycolic acid filaments guide Schwann cell migration in vitro and in vivo. *Biotechnol Lett* 2008; 30:1937-42.
129. Lietz M, Dreesmann L, Hoss M, Oberhoffner S, Schlosshauer B. Neuro tissue engineering of glial nerve guides and the impact of different cell types. *Biomaterials* 2006; 27:1425-36.
130. Biazar E, Khorasani M T, Montazeri N, Pourshamsian K, Daliri M, Rezaei M, et al. Types of neural guides and using nanotechnology for peripheral nerve reconstruction. *Int J Nanomedicine* 2010; 5:839-52.
131. Ma Z, Mao Z, Gao C. Surface modification and property analysis of biomedical polymers used for tissue engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2007; 60:137-57.
132. Singh M, Berkland C, Detamore MS. Strategies and applications for incorporating physical and chemical signal gradients in tissue engineering. *Tissue Eng Part B* 2008; 14:341-66.



Necrosis Neuronal Programada

Programmed Neuronal Necrosis

María Leonor López-Meraz^{1,2}, Enrique Juárez-Aguilar³, Jesús Servando Medel-Matus^{1,2},
Dulce Mariely Álvarez Croda^{1,2}, Ricardo Galán Zamora^{1,2}, César A. Pérez Estudillo¹,
María Elena Hernández¹, Marta Miquel⁴, Jorge Manzo¹.

RESUMEN

Desde el punto de vista morfológico, la muerte celular se ha clasificado en numerosos tipos, siendo los principales la necrosis, caracterizada por la ruptura de la membrana plasmática y el hinchamiento de organelos, y la apoptosis, en la que se observa condensación nuclear mientras la membrana celular se encuentra intacta. Tradicionalmente, la apoptosis se ha denominado muerte celular programada, ya que se relaciona con la ejecución de un mecanismo intracelular orquestado que implica la expresión génica, la síntesis de proteínas y activación de caspasas. En cambio, la necrosis, se asume como un mecanismo pasivo que se genera por la entrada masiva de iones y agua al interior celular. Sin embargo, evidencia actual apunta a la existencia de muerte celular con morfología necrótica, pero cuya génesis implica la ejecución regulada de eventos intracelulares. Específicamente para el caso de las neuronas, este tipo de necrosis “activa” se ha observado en ciertas condiciones experimentales y se ha denominado ya sea “necrosis programada” ó “necroptosis”, dependiendo del mecanismo de señalización involucrado. El objetivo de esta revisión es describir el conocimiento actual sobre estas formas de necrosis neuronal con énfasis en los mecanismos de la “necrosis programada”.

PALABRAS CLAVE:

Muerte celular, muerte neuronal, necrosis, apoptosis.

ABSTRACT

Cell death has been classified in different types considering the morphological features displayed; the main categories are necrosis and apoptosis. Necrosis is characterized by rupture of plasmatic membrane and organelle swelling, while apoptosis courses with high chromatin condensation without disruption of cell membrane. Traditionally, apoptosis has been denominated programmed cell death, since it is associated with the execution of an orchestrated program which implies gen expression, protein synthesis and caspase activation; whereas necrosis has been considered a passive and disordered phenomenon generated by the massive influx of ions and water to the cell. However, recent evidence points to the existence of a type of cell death with necrotic morphology, which implies the execution of well-regulated cell events. Specifically for neurons, this type of active necrosis has been observed under specific experimental conditions and has been termed programmed necrosis or necroptosis. The goal of this review is to describe the mechanisms known about these forms of necrosis in neurons emphasizing the knowledge existing nowadays about programmed necrosis.

KEY WORDS:

Cell death, neuronal cell death, necrosis, apoptosis.

¹Centro de Investigaciones Cerebrales, Universidad Veracruzana.

²Posgrado en Neuroetología, Universidad Veracruzana.

³Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana.

⁴Área de Psicobiología, Universidad Jaume I, Castellón, España.

Correspondencia:

Dra. María Leonor López-Meraz

Centro de Investigaciones Cerebrales, Universidad Veracruzana

Av. Luis Castelazo s/n Carr. Xalapa-Veracruz, Km. 3.5 Col. Industrial-Ánimas, C.P. 91190, Xalapa, Veracruz, México.

Correo-e: leonorlopez@uv.mx

Tel: + 52 (228) 8418900 Ext. 13609

INTRODUCCIÓN

Durante mucho tiempo la muerte celular se ha descrito en términos morfológicos y bioquímicos, e incluso como una mezcla de ambos criterios, pero cierto es que la clasificación de la muerte celular se basa principalmente en la morfología. En este contexto y de acuerdo al Comité de Nomenclatura sobre Muerte Celular (*The Nomenclature Committee on Cell Death*) se considera que una célula está muerta cuando ha perdido la integridad de su membrana plasmática (definido por la incorporación de colorantes vitales *in vitro*, e.g. el yoduro de propidio); ha sufrido fragmentación completa, incluyendo su núcleo, en pequeños cuerpos (frecuentemente denominados cuerpos apoptóticos) y/o el cadáver (o los fragmentos) han sido engullidos por una célula adyacente *in vivo*¹. Este mismo comité ha dividido a la muerte celular en cinco tipos principales: apoptosis, autofagia, necrosis, cornificación y atípica (ésta última incluye a la catástrofe mitótica, anoikis, excitotoxicidad, degeneración valeriana, paraptosis, pironecrosis y entosis)¹. Sin embargo, debe mencionarse que esta clasificación incluye los diferentes ejemplos de muerte celular que se han observado, muchos de los cuales son exclusivos para un tipo celular particular, tal es el caso de la cornificación que ocurre específicamente en la epidermis¹. Para el lector interesado en conocer los detalles de estos tipos de muerte celular, se recomienda ampliamente la clasificación reportada por Kroemer y colegas¹. Vale la pena destacar que en esta categorización, se menciona a la excitotoxicidad como un fenómeno atípico propio de las neuronas, indicando que es causada por la activación de receptores glutamatérgicos del tipo NMDA y el influjo de iones calcio (Ca⁺⁺) que su apertura promueve. Sin embargo, debe tenerse claro, que las neuronas pueden morir por apoptosis o necrosis, lo cual puede depender en gran medida de la magnitud y la naturaleza del estímulo que desencadena la muerte celular, así como de otros aspectos fisiológicos propios de cada estirpe neuronal, incluyendo el nivel de maduración de las mismas^{2,3,4}.

Apoptosis vs necrosis

Aún hoy en día, existe controversia en los criterios que permiten la distinción entre apoptosis y necrosis. Sin embargo, la clasificación original de los tipos de muerte celular considera a la morfología para su identificación. Con el advenimiento de numerosas técnicas bioquímicas, se identificó que la apoptosis cursaba con la síntesis y activación de proteínas, e incluso con la expresión de genes específicos, razón por la cual se le calificó como un proceso activo. Además, a la apoptosis se le consideró ordenada, ya que las caspasas se activan durante este proceso, lo hacían de manera específica y altamente organizada. En cambio, en los primeros estudios, la necrosis se caracterizó por ejecutarse en ausencia de síntesis proteica e independiente de

un programa celular definido, razón por la que se consideró un proceso pasivo y desordenado^{1,4}. Efectivamente, este tipo de necrosis es la que prevalece; sin embargo, investigaciones realizadas en los últimos años, muestran que puede existir una forma de necrosis que sigue un programa específico de ejecución, y por lo tanto se considera activa.

Características morfológicas

Como se mencionó anteriormente, la apoptosis y la necrosis pueden identificarse por diferentes criterios morfológicos¹. A este respecto, las características morfológicas propias de la necrosis incluyen el hinchamiento temprano de los organelos intracelulares como las mitocondrias y el retículo endoplásmico, así como de la célula en general (oncosis) y la ruptura de la membrana plasmática; mientras que el núcleo se mantiene relativamente preservado^{1,5}. En cambio, la apoptosis se caracteriza por cambios iniciales en el núcleo celular que incluyen la condensación de la cromatina (picnosis) y su ruptura en fragmentos (cariorrhexis), mientras que los organelos citoplasmáticos se encuentran relativamente normales y la membrana celular intacta hasta etapas muy avanzadas^{1,6}. Frecuentemente en estados avanzados de la apoptosis, se observan los llamados cuerpos apoptóticos, fragmentos de la célula muerta los cuales son normalmente fagocitados¹.

Aspectos bioquímicos

Tradicional e históricamente, la apoptosis se considera un proceso activo y ordenado, dependiente de la síntesis de proteínas y de la expresión génica y que involucra la activación de un programa de muerte celular, e.g., la activación de caspasas⁷. En contraste, la necrosis se considera un proceso descontrolado que se origina por una falla en los procesos que mantienen el estado energético celular, lo que ocasiona la entrada masiva de iones a la célula, su hinchamiento y subsecuente explosión⁸.

Diversos atentados a la integridad cerebral pueden inducir muerte neuronal, debido a la activación de un programa de muerte celular. Los procesos mejor caracterizados son las vías extrínseca e intrínseca, los cuales ofrecen varias alternativas de activación de las caspasas, una familia de cisteína-proteasas activamente implicadas en la muerte celular⁹. La activación de la vía “extrínseca” involucra la participación de receptores localizados en la membrana plasmática comúnmente llamados “receptores de muerte celular”, que pertenecen a la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF). La activación de dichos receptores, promueve a su vez la activación de la caspasa-8, la cual eventualmente activa a la caspasa-3. Esta última, la “caspasa ejecutora” mata a la célula a través de sus efectos proteolíticos, promoviendo el rompimiento del citoesqueleto, activando la ruptura del ADN y desactivando a las enzimas de reparación del

ADN, entre otras acciones. En la vía “intrínseca”, la mitocondria juega un papel crítico. El citocromo c es liberado del espacio intermembranal de la mitocondria al citosol, y allí interactúa con el factor apoptótico activador de proteasas (*apoptotic protein factor-1*, APAF-1) y ATP para formar el apoptosoma, mismo que posteriormente activa a la caspasa-9, misma que a su vez promueve la activación de la caspasa-3 quien finalmente causa la muerte celular por procesos similares a los ya descritos¹⁰. Las caspasas-8 y -9 son denominadas también como caspasas “iniciadoras” (además de las caspasas 2 y 10), ya que su activación promueve la iniciación del programa de muerte celular, mientras que la caspasa-3 (además de las caspasas 6 y 7) se denomina “ejecutora” al ser responsable de las últimas etapas del proceso¹¹.

Debemencionarse que actualmente se han caracterizado numerosos factores adicionales implicados en los procesos de muerte celular, mismos que pueden ser “dependientes” de caspasas, *i.e.*, aquellos cuyo proceso implica la activación de las vías extrínseca o intrínseca de muerte celular, o bien procesos “independientes” de caspasas, los cuales como su nombre lo indica, se llevan a cabo sin implicación de esta familia de proteasas y que pueden incluir a otros actores mitocondriales como el factor inductor de apoptosis (*apoptosis inducing factor*, AIF), la endonucleasa-G, así como miembros de la familia de factores apoptóticos Bcl-2 como Bax, entre muchos otros^{12,13}.

Necrosis neuronal y programas de muerte celular

En años recientes, se han identificado algunos tipos de muerte neuronal con morfología necrótica, pero asociados a la expresión o activación de marcadores bioquímicos de muerte celular. Estos hallazgos, han promovido el estudio conjunto de aspectos morfológicos y bioquímicos de la muerte neuronal. Sin embargo, aún aceptando que la necrosis no es un fenómeno pasivo, existen diferentes mecanismos implicados en este proceso. De hecho la literatura no ha estandarizado los términos a emplearse para esta forma de necrosis, de manera que necrosis activa, necrosis programada, aponecrosis y necroptosis pueden parecer sinónimos. No obstante, esta revisión propone clasificar a la “necrosis activa” en al menos dos categorías considerando los procesos de ejecución conocidos hasta el momento (Figura 1). Entonces, la “necrosis activa” puede dividirse en: 1) “necrosis programada”, la cual es dependiente de caspasas y 2) necroptosis, la cual implica la participación de la cinasa serina/treonina denominada proteína de interacción con receptores tipo 1 (*Receptor Interacting Protein-1*, RIP1). En los siguientes apartados se pretende describir más a detalle estos tipos de necrosis.

“Necrosis programada”

A mediados de la década pasada, se describió un tipo de muerte neuronal con características morfológicas de necrosis, pero con características bioquímicas de apoptosis, tales como la liberación del citocromo c y la activación de caspasas^{14,15,16}. Este fenómeno se observó en cultivos neuronales primarios en condiciones de hipoxia y de excitotoxicidad y se catalogó inicialmente como “necrosis programada”^{14,15,17}. Sin embargo, este término es frecuentemente intercambiado con el de “necrosis activa”¹⁶. En estos trabajos, la hipoxia causada por la aplicación de cianuro de sodio a cultivos primarios de neuronas granulares del giro dentado, produjo una forma de “necrosis programada” con un mecanismo independiente de la síntesis de proteínas, pero asociada con la pérdida del potencial de membrana mitocondrial, la liberación del citocromo c de la mitocondria y la activación de la caspasa-9, secundada por la activación de la caspasa-3¹⁴. Un proceso similar de “muerte neuronal programada” se observó aún en presencia de antagonistas de los receptores glutamatérgicos AMPA (NBQX) y NMDA (MK-801), *i.e.* en la muerte neuronal hipóxica por mecanismos no excitotóxicos¹⁷. Por otro lado, el glutamato aplicado *in vitro* causa excitotoxicidad neuronal a través de la estimulación de los receptores tipo NMDA, proceso que promueve la activación de la vía mitocondrial de muerte celular, iniciada por la liberación de citocromo c y seguido por la activación de las caspasas-9 y -3, que finalmente produce necrosis, o más específicamente “necrosis activa”¹⁶.

Evidencia adicional refuerza la existencia de la “necrosis neuronal programada o activa” *in vivo*, aunque de manera indirecta. Uno de estos estudios evaluó la muerte neuronal causada por el *status epilepticus* (SE) en la rata adulta. El SE es una condición neurológica que cursa con crisis epilépticas persistentes que llegan a ser autosostenidas, sin que el individuo que la padece recupere el contacto con el medio exterior¹⁸ y cuyos mecanismos de generación implican a la neurotransmisión glutamatérgica, misma que también puede desencadenar muerte neuronal¹⁹. En este reporte se demostró que el SE producido por el ácido kaínico (un agonista glutamatérgico) en la rata adulta causa dos tipos de muerte en las neuronas piramidales. Un primer tipo necrótico temprano ya que se observa un día después de las convulsiones, y un tipo de necrosis tardía (3-7 días pos-SE) la cual cursa con fragmentación del ADN (determinada con la tinción de TUNEL) y con la activación de la caspasa-3²⁰. Un hecho sobresaliente, es que aunque se observaron estos marcadores bioquímicos, no se identificó muerte neuronal apoptótica, siendo la necrosis el tipo de muerte neuronal preponderante después del SE²⁰. Por otro lado, Carloni y colaboradores²¹ también identificaron que la hipoxia en ratas neonatas produjo muerte neuronal en el hipocampo y

la corteza cerebral, que estas neuronas fueron inmunoreactivas a caspasa-3 y que incorporaron al colorante yoduro de propidio (indicador de una alteración en la membrana plasmática). Cabe destacar que estos hallazgos no fueron interpretados como la existencia de tipo de necrosis “activa”, sino como un proceso de necrosis secundaria.

A partir de estos resultados, se inició el estudio conjunto de marcadores de muerte celular y de la morfología de las neuronas dañadas, para entender mejor los mecanismos celulares que inducen el daño neuronal *in vivo*, particularmente en la región CA1 del hipocampo de la rata en desarrollo después del SE inducido con el modelo de litio-pilocarpina. Los resultados sugirieron la existencia de un fenómeno similar a la “necrosis programada” observada *in vitro* y que se presenta en el área CA1 del hipocampo de ratas a las que se indujo SE durante el día postnatal 14 (P14). En estas ratas, 24 h después del SE, aproximadamente el 20% de las neuronas necróticas expresan la forma activa de la caspasa-3²², aunque no muestran activación de caspasa-9²³. Sin embargo, 6 h después del inicio del SE existe una extensa expresión de la caspasa-8 activa en el área CA1 hipocampal²³. Los hallazgos anteriores sugieren que las neuronas piramidales de CA1 podrían estar muriendo a través de un mecanismo dependiente de caspasas, pero que conlleva a una morfología necrótica^{3,22,23}. Un inhibidor general de caspasas (QVD-Oph) disminuye el número de células necróticas causadas por el SE, corroborando que este tipo de “necrosis activa” involucra la activación de estas cisteína-proteasas²³. La participación de la caspasa-8 también sugiere que la llamada vía extrínseca de muerte celular podría estar involucrada en este fenómeno. En contraste, en el giro dentado del hipocampo de la rata durante P14, el SE induce principalmente apoptosis, la cual se asocia con la activación de caspasa-3 y caspasa-9, y que posiblemente involucra la activación de la vía intrínseca de muerte celular, datos que apoyan adicionalmente la posibilidad de que la necrosis programada ocurra en tipos neuronales específicos^{3,23} (Figura 1).

De esta manera, los hallazgos previos ponen de manifiesto que esta forma de “necrosis programada” ocurre en las neuronas piramidales de CA1, pero no en las células granulares del hipocampo, lo cual sugiere que este proceso de muerte neuronal está asociado al grado de maduración de las neuronas y/o de los circuitos excitatorios de los que forman parte^{3,23}. Esta propuesta se refuerza al considerar que las neuronas granulares se desarrollan posnatalmente, mientras que las neuronas piramidales lo hacen durante la etapa fetal^{24,25,26} y que existe una regulación a la baja de algunos factores de muerte celular dependiendo de la edad del sujeto^{27,28}.

Algunos de los candidatos a activar esta vía extrínseca de muerte celular y causar necrosis programada en la región CA1

del hipocampo después del SE, son las citoquinas inflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF- α) y la interleucina 1-beta (IL-1 β). A este respecto, resultados preliminares de nuestro grupo de investigación muestran que la IL-1 β se expresa tempranamente en células del área CA1 piramidal (presumiblemente neuronas por su morfología)^{29,30}, región donde se identifica muerte neuronal necrótica masiva después del SE^{22,23}. Si bien es cierto que estos hallazgos son correlacionales, sugieren que esta citoquina inflamatoria podría iniciar una cascada de señalización que active a las caspasas-8 y -3 y finalmente culmine en una muerte neuronal necrótica. En cambio, después del SE existe una expresión discreta de TNF- α en la formación hipocampal, misma que no se restringe a la capa piramidal de CA1 (datos no publicados). Así, la inflamación parece estar implicada en los procesos iniciadores de la “necrosis programada” causada por el SE, aunque indudablemente es necesario realizar estudios adicionales para confirmar esta hipótesis.

Necroptosis

Este tipo de necrosis dependiente de un proceso celular organizado, se ha observado en células del sistema inmune, células cancerígenas y más recientemente en neuronas^{31,32, 33, 34}. Dentro de los agentes o mecanismos desencadenantes de la necroptosis se encuentran el TNF- α a través de su receptor TNFR1, los inhibidores de caspasas (*e.g.* el inhibidor general Z-VAD.fmk), mismos que se han estudiado en condiciones de excitotoxicidad, hipoxia o traumatismo, ya sea *in vivo* o *in vitro*^{31, 32, 33, 34, 35, 36}.

A nivel intracelular, el principal mediador de este proceso necrótico es la cinasa serina/treonina RIP1, la cual tiene un dominio de muerte que le permite interactuar con receptores membranales^{32, 33}. Sin embargo, la cascada de señalización que ocurre posterior a la activación de ésta cinasa no se conoce a detalle, aunque se propone que especies reactivas de oxígeno, factores mitocondriales, lipasas y ceramidas son los efectores de la muerte celular^{32, 35}. Otras moléculas implicadas en la necroptosis incluyen a la ciclofilina D, una peptidilpropil *cis-trans* isomerasa mitocondrial que contribuye a la denominada permeabilidad transicional mitocondrial; la polimerasa poli (ADP-ribosa) o PARP-1, una enzima de reparación de ADN, al AIF y la calpaína (proteasa dependiente de Ca⁺⁺) entre otros^{31,33}. Específicamente para el caso de las neuronas, Degtrev y colaboradores³¹, mostraron que la isquemia causada en ratones tras la ligadura de la arteria carótida media produce necroptosis, y que la necrostatina-1 (Nec-1), un inhibidor de RIP1, disminuye el tamaño de la zona infartada. Nec-1 también disminuye el daño cortical y reduce el deterioro mnemónico en ratones que sufrieron traumatismo cortical³⁶. La evidencia anterior apoya

la existencia de esta forma de necrosis neuronal activa *in vivo*. De manera similar, estudios realizados en cultivos de neuronas corticales demostraron que la necroptosis puede ser causada por el NMDA y que este efecto excitotóxico se ve disminuido por la aplicación de concentraciones crecientes de Nec-1³⁴ (Figura 1).

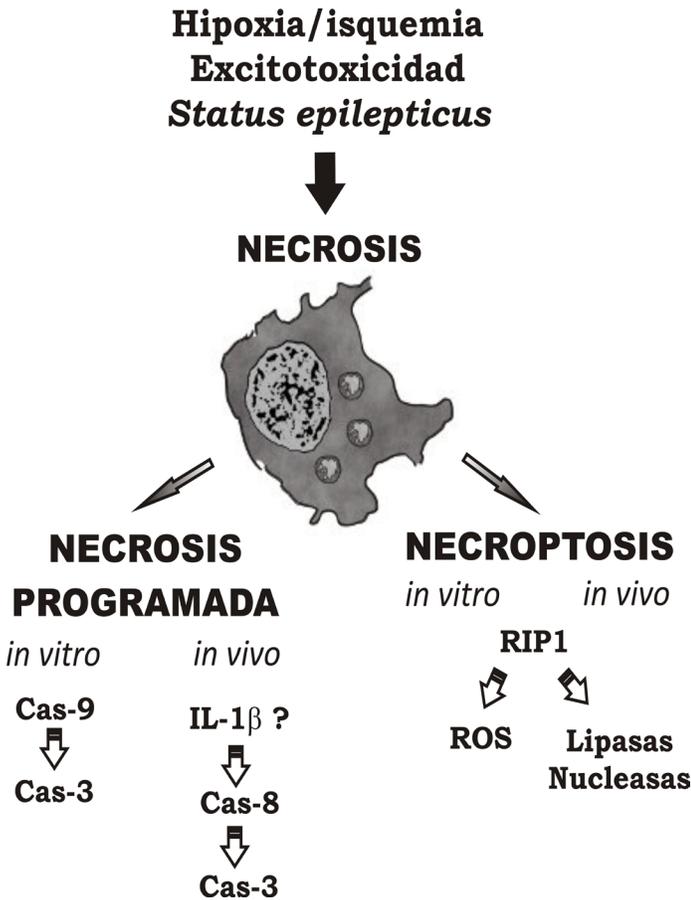


Figura 1. La hipoxia/isquemia, la excitotoxicidad, el *status epilepticus* y el traumatismo cerebral pueden causar muerte neuronal necrótica que resulte de un proceso activo: "necrosis programada" o necroptosis. Experimentos *in vitro* e *in vivo* han mostrado que estos fenómenos ocurren a través de vías de señalización diferentes. La necrosis programada es dependiente de caspasas, mientras que la necroptosis involucra a la cinasa RIP1 para llevarse a cabo. Abreviaciones: Cas-9, caspasa-9; Cas-8, caspasa-8; Cas-3, caspasa-3; RIP1, cinasa RIP1; ROS, especies reactivas de oxígeno.

CONCLUSIONES

Aún a la fecha existe discrepancia en los conceptos de necrosis y apoptosis, sobre todo porque se han mezclado aspectos morfológicos y bioquímicos, lo cual más que unificar criterios abre un abanico de posibilidades. En este contexto, las neuronas pueden morir por un proceso activo que puede culminar en necrosis: la denominada "necrosis programada" que implica la activación de un programa celular dependiente de caspasas

para llevarse a cabo, o la necroptosis, que involucra a la proteína RIP1. Los datos experimentales hasta ahora obtenidos indican que estos procesos pueden ocurrir en condiciones de hipoxia-isquemia, excitotoxicidad, *status epilepticus* y traumatismo cerebral. Finalmente, debe tenerse en cuenta que la clasificación apropiada de los procesos de muerte neuronal implica el uso correcto de los criterios morfológicos y el empleo conjunto de marcadores bioquímicos.

Agradecimientos:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el donativo de Investigación Básica CB-2008 (número 106402) otorgado a MLLM, por las becas de estudios de doctorado otorgadas a JSMM (registro 223546) y a RGZ (registro 208487), y de maestría brindada a DMAC (registro 249772). Al Programa para el Mejoramiento del Profesorado por el apoyo a Nuevos Profesores de Tiempo Completo (Oficio No. PROMEP/103.5/10/5006) otorgado a MLLM.

BIBLIOGRAFÍA

- Kroemer G y col. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. *Cell Death Differ.* 2009; 16(1): 3-11.
- Li Y y col. Induction of DNA fragmentation after 10 to 120 minutes of focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 1995; 26(7):1252-8.
- Lopez-Meraz ML, Niquet J, Wasterlain CG. Distinct caspase pathways mediate necrosis and apoptosis in subpopulations of hippocampal neurons after status epilepticus. *Epilepsia* 2010; 51 (Suppl 3): 56-60.
- Nagley P, Higgins GC, Atkin JD, Beart PM. Multifaceted deaths orchestrated by mitochondria in neurones. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1802(1):167-85.
- Wyllie AH. Cell death: a new classification separating apoptosis from necrosis. In *Cell Death in Biology and Pathology*. Bowen, I.D. and Lockshin, R.A, (Eds.). Chapman and Hall, London. 1981.
- Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26:239-257.
- Galluzzi L y col. Cell death modalities: classification and pathophysiological implications. *Cell Death Differ* 2007; 14:1237-43.
- Golstein P, Kroemer G. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends Biochem Sci* 2007; 32(1):37-43.
- Liou AKF y col. To die or not to die for neurons in ischemia, traumatic brain injury and epilepsy: a review on the stress-activated signaling pathways and apoptotic pathways. *Prog Neurobiol* 2003; 69:103-142.
- Li P y col. Cytochrome c and dATP-dependent formation of APAF-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 1997; 91:479-489.
- Bao Q, Shi Y. Apoptosome: a platform for the activation of initiator caspases. *Cell Death Differ* 2007; 14:56-65
- Niquet J, Wasterlain CG. Bim, Bad and Bax: a deadly combination in epileptic seizures. *J Clin Invest* 2004; 113:960-962.
- Henshall DC, Murphy BM. Modulators of neuronal cell death in epilepsy. *Curr Opin Pharmacol* 2008; 8:75-81.
- Niquet J y col. Hypoxic neuronal necrosis: protein synthesis-independent activation of a cell death program. *Proc Natl Acad Sci*

- USA 2003; 100:2825-30.
15. Niquet J, Seo DW, Wasterlain CG. Mitochondrial pathways of neuronal necrosis. *Biochem Soc Trans* 2006; 34:1347-51.
 16. Seo DW y col. Contribution of a mitochondrial pathway to excitotoxic neuronal necrosis. *J Neurosci Res* 2009; 78(4-5):131.
 17. Niquet J, Seo DW, Allen SG, Wasterlain CG. Hypoxia in presence of blockers of excitotoxicity induces a caspase-dependent neuronal necrosis. *Neuroscience* 2006; 141(1):77-86.
 18. Chen JW, Naylor DE, Wasterlain CG. Advances in the pathophysiology of status epilepticus. *Acta Neurol Scand Suppl* 2007; 186:7-15.
 19. Wasterlain CG, Shirasaka Y. Seizures, brain damage and brain development. *Brain Dev*. 1994; 16(4):279-95.
 20. Tokuhara D y col. Kainic acid dose affects delayed cell death mechanism after status epilepticus. *Brain Dev* 2007; 29:2-8.
 21. Carloni S, Carnevali A, Cimino M, Balduini W. Extended role of necrotic cell death after hypoxia-ischemia-induced neurodegeneration in the neonatal rat. *Neurobiol Dis* 2007; 27:354-61.
 22. Niquet J y col. Status Epilepticus Triggers Caspase-3 Activation and Necrosis in the Immature Rat Brain. *Epilepsia* 2007; 48:1203-6.
 23. Lopez-Meraz ML y col. Vulnerability of postnatal hippocampal neurons to seizures varies regionally with their maturational stage. *Neurobiol Dis* 2010; 37:394-402.
 24. Harris KM, Teyler TJ. Developmental onset of long-term potentiation in area CA1 of the rat hippocampus. *J Physiol* 1984; 346:27-48.
 25. Bekenstein JW, Lothman EW. An in vivo study of the ontogeny of long-term potentiation (LTP) in the CA1 region and in the dentate gyrus of the rat hippocampal formation. *Brain Res Dev Brain Res* 1991; 63:245-251.
 26. Bekenstein JW, Lothman EW. A comparison of the ontogeny of excitatory and inhibitory neurotransmission in the CA1 region and dentate gyrus of the rat hippocampal formation. *Brain Res Dev Brain Res* 1991; 63:237-243.
 27. Vekrellis K y col. Bax promotes neuronal cell death and is downregulated during the development of the nervous system. *Development* 1997; 124(6):1239-49.
 28. Yakovlev AG y col. Differential expression of apoptotic protease-activating factor-1 and caspase-3 genes and susceptibility to apoptosis during brain development and after traumatic brain injury. *J Neurosci* 2001; 21(19):7439-46.
 29. López-Meraz ML y col. El status epilepticus induce la expresión de la interleucina-1 β en el cerebro de la rata en desarrollo. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas; 2011 Sep 10-14; León, Guanajuato, México.
 30. Álvarez-Croda DM y col. Interleukin-1 beta expression in hippocampus following status epilepticus in the developing rat. Sfn's Annual meeting of Neuroscience; 2011 Nov 12-16; Washington DC, USA.
 31. Degterev A y col. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat Chem Biol* 2005 Jul; 1(2):112-9.
 32. Christofferson D, Yuan J. Necroptosis as an alternative form of programmed cell death. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(2): 263-268.
 33. Galluzzi L, Kroemer G. Necroptosis: a specialized pathway of programmed necrosis. *Cell* 2008; 135(7):1161-3.
 34. Li Y y col. Necroptosis contributes to the NMDA-induced excitotoxicity in rat's cultured cortical neurons. *Neurosci Lett* 2008; 447(2-3):120-3.
 35. Chen Y. Necrosis: an energy dependent programmed cell death? *UTMJ* 2009; 86(3):110-112.
 36. You Z y col. Necrostatin-1 reduces histopathology and improves functional outcome after controlled cortical impact in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008; 28(9):1564-73.



Mecanismos centrales de la generación del ritmo respiratorio

Central mechanisms for respiratory rhythm generation

Luis Beltran-Parrazal^{1,2}, Roberto Meza-Andrade¹,
Fabio García-García³, Rebeca Toledo^{1,2}
Jorge Manzo^{1,2}, Consuelo Morgado-Valle^{1,2}

RESUMEN

El sistema respiratorio de los mamíferos produce diferentes tipos de patrones ventilatorios que responden al estado general del individuo. ¿Dónde se genera la actividad eléctrica que controla los músculos involucrados en la respiración? Actualmente, es aceptado que la respiración es generada por una red neuronal localizada en el tallo cerebral ventrolateral. Dicha región es conocida como el Complejo preBötzinger (preBötC). Los mecanismos de generación de la actividad rítmica del preBötC no se conocen del todo. El objetivo de esta revisión es proporcionar un panorama general del conocimiento existente de los mecanismos neuronales de la generación del ritmo respiratorio.

PALABRAS CLAVE: Respiración, Complejo preBötzinger, Ritmo respiratorio

ABSTRACT

The mammalian respiratory system produces different types of ventilatory patterns according to the general state of the individual. Where is generated the electrical activity that control the muscles involved in breathing? It is now accepted that a neural network located in the ventrolateral brainstem generates breathing. This region is known as preBötzinger Complex (preBötC). The mechanisms for generating rhythmic activity in the preBötC are not fully known. The aim of this review is to provide an overview of the existing knowledge of the neural mechanisms for respiratory rhythm generation.

KEYWORDS: Breathing, PreBötzinger Complex, Respiratory Rhythm

¹Centro de Investigaciones Cerebrales. Dirección General de Investigaciones.

²Facultad de Medicina Xalapa.

³Instituto de Ciencias de la Salud.
Universidad Veracruzana

Correspondencia:

Dra. Consuelo Morgado-Valle

Centro de Investigaciones Cerebrales. Dirección General de Investigaciones.
Universidad Veracruzana

Av. Luis Castelazo s/n Col. Industrial Animas, C.P. 91190

Email: comorgado@uv.mx

Tel: +52(228) 841 8900 Ext 13611

INTRODUCCION

La respiración es un fenómeno fisiológico generalizado entre los vertebrados cuya función principal es el intercambio gaseoso entre el individuo y el medio circundante. La respiración de los mamíferos es rítmica, continua y permanente durante la vida. Al ser esencial para garantizar la vida, la respiración es un proceso robusto y estable ^{1,2}.

El sistema respiratorio de los mamíferos manifiesta diferentes tipos de patrones ventilatorios que responden al estado general del individuo ³. La respiración normal, o eupnea, es el patrón predominante. Si bien, la respiración es un proceso autónomo, puede ser controlada y regulada voluntariamente durante la postura, la locomoción y otros actos sensorio motores ⁴. El control voluntario de la respiración ocurre en la corteza cerebral, mientras que su generación y control automático radica en el tallo cerebral. Las señales eferentes del núcleo generador del ritmo respiratorio son distribuidas por interneuronas y motoneuronas a través de vías en el tallo cerebral, hacia motoneuronas craneales, y motoneuronas mediante vías en la médula espinal ventrolateral ⁴. Con el paso del tiempo, se ha descartado que estructuras cerebrales como el puente, que contribuyen a mantener el ritmo respiratorio sean indispensables para su generación, y se ha propuesto, la existencia de un "generador central del patrón respiratorio" ⁵. Actualmente, es aceptado que la respiración es generada por una red neuronal localizada en el tallo cerebral ventrolateral. Dicha región es conocida como el Complejo preBötzing (preBötC) ⁴.

Desde el descubrimiento del preBötC los investigadores han tratado de describir su estructura y funcionamiento. Varios grupos de investigación han estudiado el núcleo del preBötC bajo condiciones no fisiológicas, desarrollando modelos de estudio in vitro de la apnea, hipotermia, hipercapnia, entre otros. Estos estudios tienen un doble propósito: 1) entender la génesis de las patologías respiratorias, y 2) comprender la estructura y función del preBötC que permitan entender las propiedades celulares, modulación, y conectividad en un estado fisiológico normal. La manipulación farmacológica in vitro del ritmo respiratorio ha motivado a los neurocientíficos a realizar experimentos in vivo, donde se han confirmado los hallazgos realizados in vitro.

Esta revisión tiene como propósito proporcionar un panorama general del conocimiento existente de los mecanismos neuronales de la generación del ritmo respiratorio.

El Complejo preBötzing

En 1991, Smith y colaboradores describieron una región en el tallo cerebral, específicamente en el bulbo ventrolateral, que contiene neuronas respiratorias. Esta estructura recibió el nombre de complejo preBötzing ⁶ (preBötC).

El preBötC, es una columna bilateral simétrica; cada uno de sus lados muestra una actividad rítmica independiente, pero se comunican bidireccionalmente con fuertes conexiones sinápticas que sincronizan la actividad de ambos lados ^{7, 8, 5}. El papel del preBötC en la generación del ritmo respiratorio ha sido comprobado in vivo en roedores adultos mediante manipulaciones farmacológicas que inducen la disminución de la actividad neuronal y por lo tanto la frecuencia del ritmo, o en casos extremos la eliminación rítmica de la actividad respiratoria ⁶.

Si bien el objetivo último de los investigadores que estudian el preBötC es explicar la generación del ritmo respiratorio en mamíferos intactos, en particular en humanos en la salud y la enfermedad, los experimentos necesarios para estudiar los mecanismos básicos celulares o del circuito, son imposibles de realizar en condiciones in vivo. Existen preparaciones biológicas reducidas donde se ha intentado preservar la mayoría de las estructuras neuroanatómicas, con la finalidad de que estas se asemejen a las condiciones in vivo (por ejemplo, ⁷⁻⁹). Sin embargo, las manipulaciones farmacológicas y los registros electrofisiológicos no pueden ser realizadas en dichas preparaciones, debido a las limitaciones físicas que impiden el acceso a las neuronas respiratorias del preBötC. Las propiedades celulares de las neuronas inspiratorias del preBötC y de las redes que estas forman, son estudiadas en una preparación altamente reducida. Esta consiste en una rebanada transversal del tallo cerebral de 500 micras de grosor, que contiene el preBötC y genera una salida motora respiratoria (Fig. 1) ⁴. En esta rebanada se han identificado las propiedades marcapaso de las neuronas y el papel que distintas corrientes iónicas juegan en la generación de la actividad rítmica ¹⁰⁻¹⁵. Los estudios in vitro han sido la base para una serie de experimentos en animales intactos en donde se ha corroborado que el preBötC es esencial para la generación del ritmo respiratorio ².

Las neuronas respiratorias del preBötC expresan el receptor a neurokinina-1 (rNK1). Esta propiedad molecular permite identificar a la población de neuronas respiratorias del preBötC como un núcleo neuronal bien definido en el tallo cerebral de la rata ¹⁶. Aprovechando esta característica común entre las neuronas del preBötC, se diseñó un protocolo de lesión cerebral en donde se micro-inyecta intracerebralmente en el complejo preBötC una molécula tóxica compuesta de saporina (inhibidor ribosomal, es decir, de la síntesis de proteínas), acoplada a Substancia P (ligando natural del rNK1). Cuando esta molécula se une al rNK1, el complejo receptor-toxina es endocitado por las neuronas respiratorias, inhibiendo la síntesis de proteínas e induciendo muerte neuronal. Con esta técnica se ha logrado eliminar hasta el 75% de la población neuronal que expresa el rNK1, provocando un patrón de respiración

irregular que afecta la homeostasis de los gases en sangre en la rata ⁶. Además, se ha encontrado que lesiones bilaterales menos severas, o unilaterales del preBötC utilizando esta técnica, pueden producir apnea central del sueño sin afectar significativamente la respiración en el estado de vigilia ⁶.

Los mecanismos de la actividad oscilatoria del preBötC no se conocen del todo, especialmente los responsables de la generación de la actividad rítmica. Si las propiedades fundamentales para la generación del ritmo están en todas las neuronas que constituyen el preBötC o sólo en una subpoblación, es algo que aún se desconoce. Se cree que algunas propiedades biofísicas de la membrana citoplasmática de las neuronas del preBötC, podrían estar implicadas de forma significativa en la generación del ritmo respiratorio.

La rebanada transversal de tallo cerebral como modelo experimental

El modelo experimental de la rebanada de tallo cerebral fue desarrollado en 19914 con el objetivo de aislar la unidad mínima funcional del ritmo respiratorio, y en respuesta a la hipótesis que dicha unidad yace en el Grupo Respiratorio Ventral (GRV), en el tallo cerebral. A partir de una preparación in vitro llamada en bloc que contiene el tallo cerebral y la médula espinal de ratas neonatas, se hicieron cortes sucesivos en dirección rostro-caudal o caudo-rostral de 50 a 75 micras de espesor mientras se monitoreaba electrofisiológicamente la salida motora del nervio frénico. Se encontró una región localizada entre un punto rostral con respecto al óbex (la región extrema rostral del cuarto ventrículo) y caudal respecto al núcleo facial. Esta zona, de aproximadamente 350 micras de longitud, es capaz de generar una salida motora aún en ausencia del resto de las estructuras que forman el tallo cerebral (Figs. 1 y 2). Fue así como se aisló el preBötC en una rebanada transversal de tallo cerebral de entre 350 y 600 micras de grosor. Esta rebanada no sólo contiene el preBötC, sino también motoneuronas respiratorias del núcleo del nervio hipogloso (nervio craneal XII), del que se registra la salida motora del ritmo generado por las neuronas del preBötC ⁶. Esta preparación aísla el circuito funcional que genera el ritmo respiratorio, lo que facilita su estudio in vitro.

El desarrollo de la rebanada de tallo cerebral ha permitido investigar la neuromodulación postnatal del nervio hipogloso ¹⁷, la respuesta a la hipoxia en neuronas del núcleo generador in vitro ¹⁸, y los efectos de la nicotina sobre la regulación del ritmo respiratorio ¹⁹. Además, rebanadas de ratones transgénicos para los genes Mecp2 o Phox2B sirven como modelos experimentales para estudiar las alteraciones centrales de la respiración en el síndrome de Rett y en el síndrome congénito de hipoventilación central, respectivamente ²⁰

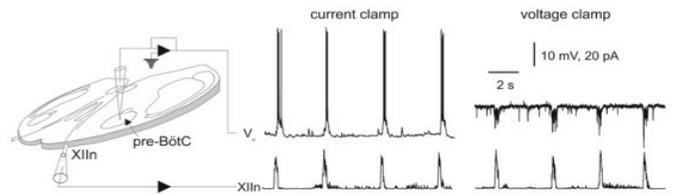


Figura 1. Modelo para el estudio in vitro de la ritmogénesis respiratoria: rebanada transversal de tallo cerebral. Esta preparación contiene el núcleo generador del ritmo: el complejo preBötzingger (preBötC) y una salida motora en fase (nervio XII). Se pueden registrar neuronas inspiratorias en fijación de corriente o fijación de voltaje y la salida motora.

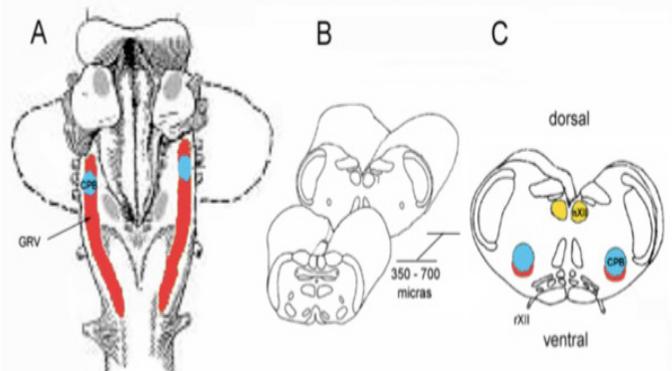


Figura 2. A Vista dorsal del tallo cerebral con el cerebelo removido hacia los costados. Se muestra la extensión del Grupo Respiratorio Ventral (zona roja) y el nivel aproximado en que se encuentra el preBötC (zona azul). B Vista caudo-rostral del tallo cerebral. La zona removida en el centro corresponde a la rebanada que contiene al preBötC y se muestra a la derecha. C Vista caudal de la rebanada de tallo cerebral. La zona amarilla en el extremo dorsal corresponde al núcleo del nervio hipogloso (nXII). Se muestran también las raíces del nervio hipogloso (rXII) en el extremo ventral; el preBötC y la orientación relativa del GRV. (Adaptada de 38 (A) y de 39, 40(B y C)

Neurotransmisión en el preBötC.

La neurotransmisión excitatoria en el preBötC es principalmente glutamatérgica. La activación de receptores tipo AMPA (llamados así porque unen 2-amino-3-(5-metyl-3-oxo-1,2- oxazol-4-l) acido propanoico) es esencial para la génesis del ritmo respiratorio in vitro. La micro- inyección en el preBötC de CNQX (6-ciano-7-nitroquinoxaline-2,3-diona), un antagonista del receptor AMPA/kainato, reduce la frecuencia y bloquea las oscilaciones respiratorias de las motoneuronas del nervio hipogloso ²¹. La aplicación del antagonista NBQX (2,3-dihidroxo-6-nitro-7-sulfamoil-benzo quinoxaline-2,3-diona) elimina la actividad rítmica del preBötC ²². En otros estudios in vitro, la aplicación de MK-801, un antagonista específico del receptor tipo NMDA (llamado así porque une N-Metyl-D-aspartato, NMDA) no provoca

ningún efecto sobre el ritmo respiratorio²¹⁻²³. Sin embargo, en estudios realizados *in vivo* se ha visto que la activación de receptores tipo NMDA y AMPA es importante para la generación del ritmo, pues su bloqueo farmacológico tiene efectos aditivos sobre la actividad de las neuronas inspiratorias²⁴.

Los receptores tipo NMDA son dependientes de voltaje; el canal iónico se encuentra normalmente bloqueado por Mg²⁺, que se liga fuertemente al canal e inhibe su permeabilidad. Cuando la membrana es despolarizada y existe glutamato en la sinapsis, el Mg²⁺ es removido y el canal iónico se abre. El Ca²⁺ es el principal ion que fluye por los receptores tipo NMDA, en contraste con el resto de los receptores glutamatérgicos ionotrópicos, en donde el principal ion es Na⁺. La respuesta excitatoria postsináptica provocada por la activación de los receptores tipo AMPA precede, y facilita la activación de los receptores tipo NMDA, a través del cambio de voltaje necesario en la membrana.

Es importante destacar que el preBötC es una red neuronal compleja que se encuentra regulada por múltiples neuromoduladores, y neurotransmisores como serotonina, somatostatina, Substancia P, y ATP (adenosina trifosfato) entre otros²⁵⁻²⁸. Estos neuromoduladores no participan en la generación del ritmo, pero influyen sobre la frecuencia que este despliega.

Mecanismos de generación del ritmo respiratorio

Desde el descubrimiento del preBötC, han surgido numerosas hipótesis que intentan explicar la generación del ritmo respiratorio. Se sabe que el preBötC contiene neuronas marcapaso con propiedades dependientes de voltaje¹³ y no dependientes de voltaje²⁹. La actividad marcapaso dependiente de voltaje depende de la corriente persistente de sodio (INaP). Mientras que las neuronas marcapasos no dependientes de voltaje dependen una corriente catiónica inespecífica activada por Ca²⁺ (ICAN). Estas dos corrientes parecen jugar un papel importante en la generación de ritmos en otros sistemas neuronales. Sin embargo, un estudio reciente muestra que la aplicación de los bloqueadores de las corrientes de la INaP e ICAN (riluzole y ácido flufenámico, respectivamente), en rebanas de tallo cerebral conteniendo el preBötC, provocan la desaparición del ritmo respiratorio. Sin embargo, la aplicación del agonista glutamatérgico AMPA o del neuropéptido Substancia P a estas rebanadas se restaura el ritmo respiratorio³⁰. Este resultado cuestiona la hipótesis que propone a las neuronas marcapaso como una población indispensable para generar el ritmo respiratorio.^{13, 29}

La fase inspiratoria del ciclo respiratorio *in vitro* se caracteriza por una ráfaga sincrónica de potenciales de acción, montados sobre una despolarización de 10 a 20 mV y 0.3 a 0.8s

de duración, llamada comando inspiratorio (Fig. 1).^{15, 31} En neuronas inspiratorias sin capacidad marcapaso, parte del origen del comando inspiratorio es atribuido a las corrientes generadas por la activación del receptor glutamatérgico tipo AMPA. Recientemente se ha sugerido que los canales TRPM4, (canales catiónicos no selectivos activados por Ca²⁺), podría contribuir a la generación del comando inspiratorio,¹⁴ pero aun no existen evidencias biofísicas claras que soporten esta hipótesis.

Se ha propuesto que la ICAN pudiera contribuir a la generación del comando inspiratorio, para lo cual esta debería responder de forma obligatoria a cambios transitorios de la concentración de Ca²⁺ citoplasmático, y ser activada antes del tren de potenciales de acción montados sobre el comando inspiratorio que caracterizan la actividad inspiratoria. Sin embargo, el aumento de Ca²⁺ intracelular durante la inspiración ocurre después de la iniciación del comando inspiratorio, como consecuencia de la activación de canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje debida a los potenciales de acción³¹. El flujo de Ca²⁺ que se da antes y durante los potenciales de acción y el comando respiratorio, ha sido monitoreado y cuantificado mediante técnicas de fluorescencia solo en el soma de las neuronas inspiratorias, por lo que la contribución de la liberación de Ca²⁺ de pozas intracelulares en dendritas para activar la ICAN aun no puede ser descartada.

Algunos estudios sugieren que la generación normal del patrón respiratorio resulta de la interacción compleja entre las propiedades emergentes de la red acoplada simétricamente e intrínsecamente por neuronas marcapaso^{2, 13, 29, 30}. También se ha sugerido que las neuronas marcapaso juegan un papel importante en la amplificación e iniciación del ritmo respiratorio, mientras que los mecanismos sinápticos son críticos para su sincronización y propagación³⁷.

En resumen, hasta ahora no se ha logrado identificar una propiedad específica de las neuronas inspiratorias a la cual pueda atribuirse la generación del ritmo respiratorio. Actualmente se piensa que la generación del ritmo respiratorio es una propiedad "emergente", es decir que es resultado de la conectividad de todas las neuronas que conforman el preBötC, y no depende de un tipo neuronal con características intrínsecas específicas^{13, 30, 32}.

Además, otros mecanismos como la regulación de Ca²⁺ intracelular y la señalización de Ca²⁺ mediada por el retículo endoplásmico, no han sido estudiados de forma extensa, aunque podrían ser muy útiles para entender el fenómeno de la generación del ritmo respiratorio.

Relevancia de estudio de la generación del ritmo respiratorio

El ritmo respiratorio debe ser constante, confiable e infalible para mantener adecuadamente el intercambio gaseoso en

vertebrados. En el ser humano, algunos síndromes presentan irregularidades en el patrón respiratorio como el síndrome de hipoventilación central congénita, llamado maldición de Ondina, el síndrome de Rett, y posiblemente la muerte de cuna 33-36. A pesar de la importancia clínica de la regularidad del ritmo generado por el preBötC, existe poca información acerca de los mecanismos-críticos para generar y regular el ritmo respiratorio.

CONCLUSIONES

La evidencia experimental indica que el preBötC es esencial para la generación del ritmo respiratorio. Sin embargo, también se ha reconocido que es tan sólo una parte de un sistema más complejo y extenso que requiere mayor estudio. La hipótesis que proponen a las neuronas marcapaso como las responsables de la generación del ritmo respiratorio, es vagamente sustentada por evidencias experimentales. Actualmente la mayoría de los estudios apoyan la idea que la generación del ritmo respiratorio es una propiedad emergente del circuito neuronal que se encuentra en el preBötC. Un mayor número de estudios se requieren para encontrar una respuesta contundente.

La comprensión de ¿cómo es generado el ritmo respiratorio?, ¿cómo se modula la plasticidad del circuito? y ¿cuáles son las propiedades de quimiosensibilidad del núcleo preBötC? ayudará a identificar la etiología de enfermedades como la apnea del sueño, la maldición de Ondina. Además, también contribuirá a diseñar nuevas estrategias terapéuticas para tratar enfermedades que causan insuficiencia respiratoria de forma indirecta como el síndrome de Rett, lesiones del tallo cerebral o médula espinal, hiperventilación y ansiedad.

BIBLIOGRAFIA

- Hilaire G, Pasaro R. Genesis and control of the respiratory rhythm in adult mammals. *News Physiol Sci.* 2003;18:23-28
- Feldman JL, Del Negro CA. Looking for inspiration: New perspectives on respiratory rhythm. *Nat Rev Neurosci.* 2006;7:232-242
- Lieske SP, Thoby-Brisson M, Telgkamp P, Ramirez JM. Reconfiguration of the neural network controlling multiple breathing patterns: Eupnea, sighs and gasps [see comment]. *Nat Neurosci.* 2000;3:600-607
- Smith JC, Ellenberger HH, Ballanyi K, Richter DW, Feldman JL. Pre-Botzinger Complex: A brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science.* 1991;254:726-729
- McCrimmon DR, Ramirez JM, Alford S, Zuperku EJ. Unraveling the mechanism for respiratory rhythm generation. *Bioessays.* 2000;22:6-9
- Gray PA, Janczewski WA, Mellen N, McCrimmon DR, Feldman JL. Normal breathing requires preBotzinger Complex neurokinin-1 receptor-expressing neurons. *Nat Neurosci.* 2001;4:927-930
- Hayashi F, Jiang C, Lipski J. Intracellular recording from respiratory neurons in the perfused 'in situ' rat brain. *J Neurosci Methods.* 1991;36:63-70
- Paton JF, St-John WM. Long-term intracellular recordings of respiratory neuronal activities in situ during eupnea, gasping and blockade of synaptic transmission. *J Neurosci Methods.* 2005;147:138-145
- St-John WM, Rudkin AH, Harris MR, Leiter JC, Paton JF. Maintenance of eupnea and gasping following alterations in potassium ion concentration of perfusates of in situ rat preparation. *J Neurosci Methods.* 2005;142:125-129
- Feldman JL, Smith JC, Ellenberger HH, Connelly CA, Liu GS, Greer JJ, Lindsay AD, Otto MR. Neurogenesis of respiratory rhythm and pattern: Emerging concepts. *Am J Physiol.* 1990;259:R879-886
- Johnson SM, Smith JC, Funk GD, Feldman JL. Pacemaker behavior of respiratory neurons in medullary slices from neonatal rat. *J Neurophysiol.* 1994;72:2598-2608
- Rekling JC, Feldman JL. PreBotzinger Complex and pacemaker neurons: Hypothesized site and kernel for respiratory rhythm generation. *Annu Rev Physiol.* 1998;60:385-405
- Del Negro CA, Morgado-Valle C, Feldman JL. Respiratory rhythm: An emergent network property? *Neuron.* 2002;34:821-830
- Pace RW, Mackay DD, Feldman JL, Del Negro CA. Inspiratory bursts in the preBotzinger Complex depend on a calcium-activated non-specific cation current linked to glutamate receptors in neonatal mice. *J Physiol.* 2007;582:113-125
- Pace RW, Mackay DD, Feldman JL, Del Negro CA. Role of persistent sodium current in mouse preBotzinger Complex neurons and respiratory rhythm generation. *J Physiol.* 2007;580:485-496
- Gray PA, Rekling JC, Bocchiaro CM, Feldman JL. Modulation of respiratory frequency by peptidergic input to rhythmogenic neurons in the preBotzinger Complex. *Science.* 1999;286:1566-1568
- Funk GD, Smith JC, Feldman JL. Development of thyrotropin-releasing hormone and norepinephrine potentiation of inspiratory-related hypoglossal motoneuron discharge in neonatal and juvenile mice in vitro. *J Neurophysiol.* 1994;72:2538-2541
- Ramirez JM, Quellmalz UJ, Wilken B, Richter DW. The hypoxic response of neurons within the in vitro mammalian respiratory network. *J Physiol.* 1998;507 (Pt 2):571-582
- Shao XM, Feldman JL. Pharmacology of nicotinic receptors in preBotzinger Complex that mediate modulation of respiratory pattern. *J Neurophysiol.* 2002;88:1851-1858
- Gaultier C, Gallego J. Neural control of breathing: Insights from genetic mouse models. *J Appl Physiol.* 2008;104:1522-1530
- Funk GD, Smith JC, Feldman JL. Generation and transmission of respiratory oscillations in medullary slices: Role of excitatory amino acids. *J Neurophysiol.* 1993;70:1497-1515
- Morgado-Valle C, Feldman JL. NMDA receptors in prebotzinger complex neurons can drive respiratory rhythm independent of ampa receptors. *J Physiol.* 2007;582:359-368
- Greer JJ, Smith JC, Feldman JL. Role of excitatory amino acids in the generation and transmission of respiratory drive in neonatal rat. *J Physiol.* 1991;437:727-749
- Pierrefiche O, Schmid K, Foutz AS, Denavit-Saubie M. Endogenous activation of NMDA and non-NMDA glutamate receptors on respiratory neurons in cat medulla. *Neuropharmacology.* 1991;30:429-440
- Pena F, Ramirez JM. Endogenous activation of serotonin-2a receptors is required for respiratory rhythm generation in vitro. *J Neurosci.* 2002;22:11055-11064
- Morgado-Valle C, Feldman JL. Depletion of Substance P and glutamate by capsaicin blocks respiratory rhythm in neonatal rat in vitro. *J Physiol.* 2004;555:783-792
- Llona I, Eugenin J. Central actions of somatostatin in the generation and control of breathing. *Biol Res.* 2005;38:347-352
- Huxtable AG, Zwicker JD, Poon BY, Pagliardini S, Vrouwe SQ, Greer JJ, Funk GD. Tripartite purinergic modulation of central respiratory neurons during perinatal development: The influence of atp, ectonucleotidases, and atp metabolites. *J Neurosci.* 2009;29:14713-

- 14725
29. Pena F, Parkis MA, Tryba AK, Ramirez JM. Differential contribution of pacemaker properties to the generation of respiratory rhythms during normoxia and hypoxia. *Neuron*. 2004;43:105-117
 30. Del Negro CA, Morgado-Valle C, Hayes JA, Mackay DD, Pace RW, Crowder EA, Feldman JL. Sodium and calcium current-mediated pacemaker neurons and respiratory rhythm generation. *J Neurosci*. 2005;25:446-453
 31. Morgado-Valle C, Beltran-Parrazal L, DiFranco M, Vergara JL, Feldman JL. Somatic Ca²⁺ transients do not contribute to inspiratory drive in preBotzinger Complex neurons. *J Physiol*. 2008;586:4531-4540
 32. Smith JC, Butera RJ, Koshiya N, Del Negro C, Wilson CG, Johnson SM. Respiratory rhythm generation in neonatal and adult mammals: The hybrid pacemaker-network model. *Respir Physiol*. 2000;122:131-147
 33. Issa FG, Porostocky S. Effect of sleep on changes in breathing pattern accompanying sigh breaths. *Respir Physiol*. 1993;93:175-187
 34. Carley DW, Trbovic SM, Radulovacki M. Diazepam suppresses sleep apneas in rats. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1998;157:917-920
 35. Viemari JC, Roux JC, Tryba AK, Saywell V, Burnet H, Pena F, Zanella S, Beventut M, Barthelemy-Requin M, Herzing LB, Moncla A, Mancini J, Ramirez JM, Villard L, Hilaire G. Mecp2 deficiency disrupts norepinephrine and respiratory systems in mice. *J Neurosci*. 2005;25:11521-11530
 36. Hunt CE, Corwin MJ, Lister G, Weese-Mayer DE, Ward SL, Tinsley LR, Neuman MR, Willinger M, Ramanathan R, Rybin D. Precursors of cardiorespiratory events in infants detected by home memory monitor. *Pediatric pulmonology*. 2008;43:87-98
 37. Ramirez JM, Tryba AK, Pena F. Pacemaker neurons and neuronal networks: An integrative view. *Current opinion in neurobiology*. 2004;14:665-674
 38. Richter DW, Spyer KM. Studying rhythmogenesis of breathing: Comparison of in vivo and in vitro models. *Trends in neurosciences*. 2001;24:464-472
 39. Ramirez JM, Telgkamp P, Elsen FP, Quellmalz UJ, Richter DW. Respiratory rhythm generation in mammals: Synaptic and membrane properties. *Respir Physiol*. 1997;110:71-85
 40. Ramirez JM, Quellmalz UJ, Wilken B. Developmental changes in the hypoxic response of the hypoglossus respiratory motor output in vitro. *J Neurophysiol*. 1997;78:383-392



La Hormona de Crecimiento en el Sistema Nervioso Central

Growth Hormone in the Central Nervous System

Citlalli Regalado Santiago¹,
María Leonor López Meraz²,
Enrique Juárez Aguilar³.

RESUMEN

La hormona de crecimiento (HC) es una molécula multifuncional que igual estimula el crecimiento corporal que influye en el metabolismo de lípidos y proteínas y en la proliferación, diferenciación y sobrevivencia de diferentes tipos celulares. Incluso el mecanismo por el cual ejerce sus acciones es variable, pudiendo ejercer efectos directos a través de la activación de un receptor específico o mediante la estimulación de efectores secundarios como el factor de crecimiento parecido a insulina tipo I o IGF-I, por sus siglas en inglés. Tradicionalmente, la glándula hipófisis se ha considerado como la fuente principal de producción de la HC. Sin embargo, actualmente se sabe que esta hormona es producida localmente en diferentes tejidos en los que ejerce un efecto autocrino. Más aún, la HC se ha detectado desde las primeras fases de desarrollo mucho antes de la formación y activación de la glándula hipófisis apuntando hacia un papel central de esta hormona desde las primeras etapas de la vida. Por otra parte, estudios recientes han sugerido un papel importante de la HC en el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso central (SNC). Los datos experimentales apoyan la idea de un papel central de la HC en el SNC que va desde la regulación de la biología de células troncales neuronales hasta su participación en el mantenimiento de procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria. El presente trabajo recopila las evidencias que soportan la hipótesis de una función “cerebral” de la HC.

Palabras Clave: Hormona de crecimiento, sistema nervioso central, neurogénesis, neuroprotección, aprendizaje.

ABSTRACT

Growth hormone (GH) is a multifunctional molecule that stimulates body growth as well as influences the metabolism of lipids and proteins and the proliferation, differentiation and survival of different cell types. Even the mechanism by which GH exerts its actions is variable. This hormone can exert it directly through the activation of a specific receptor or by stimulating secondary effectors like the insulin-like growth factor type I (IGF-I). Traditionally, the pituitary gland has been considered as the main source of production of GH. However, it is now known that this hormone is produced locally in various tissues in which exert an autocrine action. Moreover, this hormone has been detected at the earliest stage of development even before the formation and activation of the pituitary gland suggesting a central role of the GH in the beginning of life. Recent studies have suggested a role of GH in the development and function of the central nervous system (CNS). Experimental data support a role of GH in the CNS ranging from regulation of neural stem cell biology to its participation in the maintenance of cognitive processes such as learning and memory. The present review compiles evidence that support a “cerebral” function of GH.

Key words: Growth hormone, central nervous system, neurogenesis, neuroprotection, learning.

¹Doctorado en Ciencias Biomédicas.

²Centro de Investigaciones Cerebrales.

³Departamento de Biomedicina, Instituto de Ciencias de la Salud. Universidad Veracruzana.

Correspondencia:

Enrique Juárez Aguilar
Av. Luis Castelazo Ayala S/N, Col. Industrial Las Ánimas,
Xalapa, Ver. C.P 91190
Tel. (228) 8 41 89 00 Ext. 13758
enjuarez@uv.mx

INTRODUCCIÓN

La HC es una hormona proteica no glicosilada, que se sintetiza en la glándula hipófisis. Su función principal está relacionada con el crecimiento corporal y el metabolismo de carbohidratos. Adicionalmente, la HC estimula la diferenciación de varios tipos celulares presentes en el tejido adiposo, el muscular y el cartílago. *In vivo*, esta hormona ejerce una gran variedad de efectos, algunos de los cuales son mediados de manera indirecta por el factor de crecimiento parecido a la insulina I (IGF-I, por sus siglas en inglés), mientras que otros son directos, como los ejercidos sobre el metabolismo de la glucosa en adipocitos¹. A pesar de que la mayor parte de la HC presente en el organismo es sintetizada en las células de la adenohipófisis; la síntesis de esta hormona se ha detectado en otros tejidos². Estudios recientes sugieren que el eje HC/IGF-I juega un papel importante en el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso central (SNC), incluyendo aquellas actividades relacionadas con la diferenciación, la proliferación y la sobrevivencia neuronal³. Más aun, diversos trabajos sugieren un papel relevante de la HC en el mantenimiento de procesos cognitivos tales como el aprendizaje y la memoria. El presente trabajo revisa las evidencias que soportan el papel de la HC como un factor importante del desarrollo y funcionamiento del SNC.

Estructura de la HC y su receptor

El gen de la HC humana, se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 17, está constituido por 1.65 kilobases (1.65 kb) que incluyen 5 exones y 4 intrones que codifican predominantemente para una proteína de 22 kilodaltones (22-kDa). Esta proteína es la forma monomérica que normalmente se secreta en la glándula hipófisis. Estructuralmente está formada por 191 aminoácidos y 4 alfa-hélices anti-paralelas y conectadas entre sí a través de lazos o "loops", además de puentes disulfuro intramoleculares⁴. Cabe señalar que existen isoformas de la HC que se generan a partir de modificaciones postranscripcionales al RNAm (*splicing* alternativo). Este mecanismo genera una proteína de 20-kDa la cual es idéntica a la HC de 22-kDa, a excepción de la delección interna de 15 aminoácidos que abarcan desde el residuo 32 al 46⁵. Esta eliminación ocasiona la modificación de algunas actividades de la HC como la actividad lactógena y la actividad lipolítica^{6,7,8}. No obstante, la isoforma de 20-kDa, no es la única isoforma de la HC. Estudios realizados en aves de corral desde la etapa embrionaria hasta la etapa adulta han demostrado la existencia de distintas isoformas de la HC que difieren en sus pesos moleculares. Así, se ha reportado la presencia de isoformas de 15, 22, 25, 44, 50, 66, 80, 98, 105 y >110-kDa; la gran mayoría no presenta actividad biológica. Por otra parte, la isoforma activa de 22-kDa presenta inmunoreactividad en el estadio 18 de desarrollo embrionario y con un mayor incremento

a los 20 días de desarrollo⁹. Recientemente, se ha reportado una inmunoreactividad de la HC asociada a las proteínas de 15 y 16 kDa, específicamente en la etapa ED7 del desarrollo durante la formación de la retina neural del pollo¹⁰. Estas proteínas son isoformas de la HC que se producen de manera local en poblaciones conocidas como células del ganglio retinal y se cree que su expresión está relacionada con la sobrevivencia de esta población. Debido a lo anterior, se piensa que las isoformas de la HC pudieran tener una función específica.

Por otra parte, el receptor de la HC (HCR), consiste en una glicoproteína transmembranal de 620 aminoácidos y se clasifica dentro de la superfamilia de receptores de citocina clase I. Estudios de cristalografía de rayos X^{11,12} revelaron que el HCR posee un dominio extracelular, con cinco sitios de glicosilación y siete sitios que forman uniones disulfuro altamente conservado entre las especies. Eijnden y colaboradores (2006), observaron que las uniones disulfuro que conforman a los pares de cisteína son importantes para la maduración del propio receptor y para la unión del ligando, incluso, cuando las uniones disulfuro son alteradas, la activación por la HC es bloqueada, mientras que en la eliminación completa de las uniones disulfuro, la dimerización de los receptores, indispensable para la actividad biológica de la HC, es imposible¹³. Adicionalmente, el dominio extracelular puede ser liberado enzimáticamente dando lugar a la forma soluble del receptor, conocido como proteína de unión de la HC, (GHRBP, por sus siglas en inglés)¹⁴. La interacción de la HC a su receptor se lleva a cabo a través de dos sitios de unión en su molécula. Ambos se asocian de manera no covalente a dos moléculas del GHR idénticas en un proceso de dimerización secuencial. Es decir, el sitio 1 de la HC reacciona con una primera molécula de HCR formando un complejo HC-HCR en una relación 1:1. Posteriormente, la HC une a un segundo receptor a través del sitio 2 formando el complejo dimérico HCR-HC-HCR (1:2)¹⁵. Las primeras evidencias del proceso de dimerización surgieron de estudios cristalográficos¹⁶ y fueron corroboradas mediante experimentos *in vitro* a través del análisis de curvas de dosis respuesta en células sensibles a la HC^{15,16}. Los resultados de estos estudios demostraron que la HC ejerce sus efectos de una manera bifásica generando curvas dosis respuesta en forma de campana. Interesantemente, los sitios de unión en los HCR son idénticos a pesar de que su interacción con la HC se lleva a cabo en dos sitios diferentes en la molécula. El modelo propuesto de dimerización de los HCR explica el comportamiento de las curvas dosis-respuesta *in vitro*. Así, bajas concentraciones de la HC generan un número limitado de complejos diméricos por lo que la respuesta biológica no es tan evidente. Conforme aumenta su concentración, la actividad biológica va en aumento y está es óptima cuando se forma el máximo de complejos diméricos (2HCR/HC). Por el contrario, el exceso de hormona favorece la

formación de complejos monoméricos (HCR/HC) reduciendo el número de complejos diméricos activos. Cuando todos los HCR se encuentran unidos a una molécula de HC la actividad biológica se bloquea al no poder formarse los complejos diméricos¹⁵. En la actualidad se tiene evidencia de que la dimerización de los receptores es un proceso previo a la unión de la HC^{12, 18,19}. La actividad biológica de la HC se explica por el hecho de que su unión a los HCR produce un cambio conformacional en los dominios extracelulares y transmembranales del mismo que desencadena la activación de vías de señalización intracelular^{20, 21}. La unión de la HC a su receptor conduce a la activación de cinasas que de manera intracelular se encuentran asociadas al receptor de la hormona. Esta proteína intracelular conocida como Janus kinasa 2 o JAK2, a su vez, activa a otras vías de señalización incluyendo a los transductores de señal y activadores de la transcripción (STAT), a las cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK1/2) y la vía de la cinasa del fosfatidol-inositol 3 trifosfato (IP3K)21. La delección del dominio intracelular del GHR impide la asociación de la cinasa JAK-2 y por lo tanto la transducción de la señal²².

Presencia de la HC en el SNC.

A pesar de que la mayor parte de la HC presente en el organismo es sintetizada en las células de la adenohipófisis; la síntesis de esta hormona se ha detectado además en otros tejidos y en diferentes estadios de desarrollo². Tradicionalmente, el crecimiento embrionario y fetal se ha considerado independiente de la presencia de la HC debido a que el desarrollo de la glándula hipófisis y de las células somatotrofas se lleva a cabo más adelante. Sin embargo, nuevas evidencias sugieren un papel relevante de la HC en la embriogénesis. En este sentido, Pantaleon y colaboradores (1997) demostraron la presencia del GHR y de la HC en embriones de ratón pre-implantados de todas las etapas, desde el huevo fecundado (día 1) hasta el blastocisto (día 4)²³. Estos investigadores mostraron que el sistema GHR/HC es funcional en este estadio de desarrollo al estimular la síntesis de proteínas y el transporte de glucosa en los embriones. Más aún, este mismo grupo demostró que la HC detectada es producto de la transcripción del gen en el embrión y no de origen materno. Más adelante en el desarrollo, tanto el RNAm de la HC como la proteína son evidentes en otros órganos y sistemas, incluyendo al sistema nervioso. Por ejemplo, la HC es detectable a partir del décimo día de gestación en el cerebro fetal de la rata²⁴. En embriones de pollo, la HC es detectable en células que conforman el tubo neural, y la notocorda⁹. Además de las evidencias que sugieren la participación de la HC durante el desarrollo, también se ha demostrado la existencia de la hormona en el cerebro adulto de mamíferos y aves, aunque los sitios de expresión se limitan a ciertas áreas como son el

tálamo, el estriado, la formación reticular y el hipocampo²⁵. Además, la detección de la HC en el SNC no se modifica en ratas hipofisectomizadas, observándose la expresión de su RNAm en la corteza cerebral, en células del ganglio retinal, núcleo arcuato, núcleo periventricular, plexo coroideo, médula espinal y núcleo supraóptico²⁶. Estos resultados sugieren que la presencia de la HC en el SNC se debe a una producción local de la HC y no a la contribución de la hormona hipofisaria. En este sentido, recientemente se reportó la síntesis local de la HC en el hipocampo de ratas, demostrándose que ésta es regulada por la edad, la presencia de estrógenos y por condiciones de estrés²⁷. La presencia de la HC en el hipocampo y su regulación externa sugiere que esta hormona está relacionada con procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria.

Otras evidencias del papel de la HC en el desarrollo del SNC provienen de modelos animales con deficiencia o bloqueo de la actividad de esta hormona^{28, 29,30}. Así, uno de los primeros estudios que sugirieron un papel de esta hormona en el cerebro fueron los trabajos de Pelton y cols. (1977), quienes indujeron una deficiencia crónica de la HC en ratas tras la inyección de un antisuero procedente de monos inmunizados contra la hormona purificada. Los resultados del grupo de Pelton demostraron que el bloqueo sistémico de la hormona por el antisuero provocó una deficiencia importante en el contenido de HC hipofisaria con disminución en la talla corporal en los animales tratados³¹. Además, los grupos experimentales presentaron defectos en la maduración cerebral con una disminución importante de mielina y acumulación de células gliales "inmaduras"³¹. Interesantemente, los defectos de la deficiencia de la HC observados en este primer estudio fueron reproducibles en los trabajos de Noguchi y cols., (1985) utilizando roedores con deficiencia de la hormona (ratones Little)³². En este modelo, se encontró que los roedores con deficiencia de HC mostraron una disminución del 81.5% del tamaño del cerebro y una disminución del 80% en el contenido de DNA y RNA total del mismo órgano con respecto a los roedores silvestres^{32, 33}. Por otra parte, se ha reportado que la administración de HC bovina a ratones *lit* y *snell*, deficientes en esta hormona, durante los primeros meses de vida postnatal, restaura el crecimiento neuronal³⁴. De esta manera, es claro que la HC tiene un papel relevante desde el inicio del desarrollo embrionario y en especial del SNC.

HC y Aprendizaje-Memoria.

Estudios recientes sugieren un papel relevante de la HC en la regulación de la proliferación, sobrevivencia y diferenciación de células neurales. Experimentos *in vitro* han demostrado un efecto mitogénico de la HC sobre cultivos primarios de neuronas corticales³⁵, así como de precursores neuronales adultos³⁶. El mismo efecto se ha observado en líneas celulares de origen

neural³⁷. Además, la HC regula negativamente la diferenciación neuronal. La supresión de la diferenciación neuronal por parte de esta proteína es mediada por la proteína SOCS2³⁸. Aun cuando la HC parece inhibir la diferenciación neuronal, esta hormona estimula el crecimiento axonal³⁹ lo cual podría ser importante en la regeneración y conexión de los circuitos neuronales. *In vivo*, la administración sistémica de HC en ratas intactas o hipofisectomizadas estimula la proliferación celular en varias regiones del cerebro incluyendo al hipocampo⁴⁰. El hecho de que la HC regule la biología de células en esta región cerebral relacionada con la adquisición del aprendizaje y la memoria y que incluye a la región neurogénica del giro dentado, ha sugerido la participación de esta hormona en la adquisición y/o mantenimiento de estos procesos cognitivos. Interesantemente, la disminución de los niveles plasmáticos de la HC durante el envejecimiento está relacionada con un deterioro sistémico del organismo que a nivel del SNC se caracteriza por disminución en los sitios de unión de esta hormona en el plexus coroideo, hipotálamo, hipocampo, hipófisis y estriado⁴¹. Funcionalmente, la disminución de los niveles plasmáticos de la HC en el envejecimiento se relaciona con la pérdida de memoria, dificultad para aprender, cambios de humor y alteraciones metabólicas. El tratamiento con la HC en los pacientes deficientes a la misma corrige en cierta medida estos trastornos^{42, 43, 44, 45}.

El papel de la HC en el aprendizaje se ha sugerido también de manera indirecta al estudiar modelos animales en los que la ausencia de la hormona o su receptor producen alteraciones en el aprendizaje de ratas o ratones⁴⁶ o bien la demostración de daño cognitivo en pacientes con acromegalia⁴⁷. Del mismo modo, el tratamiento de pacientes con deficiencia de la HC (HCD) mejora el desempeño de los mismos en pruebas cognitivas⁴⁸. Por otra parte, la administración de la hormona en animales hipofisectomizados mejora su desempeño en pruebas de aprendizaje y memoria espacial como el laberinto acuático de Morris^{49, 50}. Más aun, el mejoramiento del aprendizaje en estos animales está relacionado con una regulación del receptor para el N-metil-D- aspartato (NMDA) un componente esencial en el proceso de potencialización de largo plazo, fenómeno relacionado con la adquisición de memoria⁵¹. Recientemente, Esteban y colaboradores (2010) demostraron que el mejoramiento del aprendizaje en ratas ancianas estimulado por la HC está relacionado con la regulación positiva de neurotransmisores como la serotonina, dopamina y noradrenalina⁵². Asimismo, el tratamiento con la HC regula positivamente la actividad electrofisiológica del hipocampo⁵³. En conjunto estos resultados sugieren un papel relevante de la HC en el mantenimiento de las capacidades cognitivas a lo largo de la vida.

Papel de la HC como neuroprotector.

El uso de la HC como agente protector de daño celular se ha reportado en diferentes tipos celulares y contra diferentes agentes dañinos^{54, 55}. En el SNC, la actividad protectora de la HC tiene al parecer dos funciones principales: 1) Como regulador del desarrollo embrionario y 2) Como agente protector ante un daño neuronal. Con respecto a la primera opción, Sanders y colaboradores (2009) han reportado la síntesis local de una variante de HC con actividad anti-apoptótica durante el desarrollo de la retina de pollo⁵⁶. En este sistema, la HC disminuyó la expresión de las caspasas 3 y 9 sugiriendo una regulación directa sobre la apoptosis en la retina^{56, 57}. Adicionalmente, la HC se encuentra presente en los axones de las células del ganglio retinal, sugiriendo un papel de esta hormona no solo en la sobrevivencia sino como una guía para el crecimiento axonal. Es claro entonces que al menos en el modelo de embriones de pollo, el papel de la HC durante el desarrollo embrionario es el de regular la muerte celular que sabemos ocurre de manera natural durante este proceso. El mismo efecto antiapoptótico podría ser relevante para la sobrevivencia de precursores neuronales de embrión de ratón⁵⁸. El mecanismo anti-apoptótico de la HC no es completamente claro, aunque se ha reportado que esta hormona regula la expresión de proteínas anti-apoptóticas como Bcl-2 y Bag-1 y la regulación del factor de transcripción nuclear (NF- κ B) el cual se ha relacionado con la sobrevivencia celular^{59, 60, 61}. Es posible que el efecto anti-apoptótico de la HC se lleve a cabo indirectamente a través del IGF-I quien finalmente regula las vías de señalización que median la muerte celular⁶¹. En apoyo del papel protector de la HC, se ha reportado que la deficiencia de esta hormona en el organismo produce una disminución de la sobrevivencia de los precursores neuronales en el giro dentado del hipocampo en animales adultos, reforzando la hipótesis de un papel de esta hormona en el mantenimiento de la neurogénesis a través de una actividad antiapoptótica⁶².

Por otra parte, el efecto de la HC sobre la sobrevivencia neuronal tiene implicaciones como agente neuroprotector en diferentes condiciones cerebrales adversas como la hipoxia/isquemia o el edema⁶³. Interesantemente, la HC es capaz de reaccionar específicamente a un daño cerebral mediante la expresión de su receptor en la zona dañada, lo que podría indicarle a esta hormona donde debe actuar⁶⁴. Asimismo, el daño cerebral después de hipoxia en animales de laboratorio o en pacientes con infarto cerebral estimula la neurogenesis sugiriendo que la respuesta del cerebro ante el daño consiste en la generación de nuevas neuronas que deberán migrar a las regiones afectadas. Las células recién producidas en la zona subgranular, una de las zonas neurogénicas del cerebro, migran hacia el estriado en donde se diferencian en neuronas que sustituyen a las neuronas dañadas⁶⁵. Dado que la HC se

ha relacionado con la regulación de la neurogénesis, es posible que esta hormona regule de la misma manera la formación de nuevas neuronas en el cerebro dañado. El principal efecto de esta hormona parece ser el mantenimiento de la sobrevivencia de las nuevas neuronas producidas más que el aumento en el número de las mismas. Estos resultados coinciden con aquellos trabajos en los que se ha demostrado un incremento inicial en la tasa de proliferación estimulado por la HC pero que finalmente se traduce en una mayor tasa de sobrevivencia de las neuronas producidas⁶⁶. El papel neuroprotector de la HC no sólo se ha demostrado en el daño por hipoxia/isquemia sino en otros modelos de estrés celular como el producido en animales con privación de sueño, en donde la HC es capaz de contrarrestar el efecto negativo de la privación a través de un aumento en la sobrevivencia de las neuronas del giro dentado del hipocampo⁶⁶. De esta manera, el efecto neuroprotector de la HC parece jugar un doble papel en el organismo, como regulador del desarrollo embrionario y como parte del sistema de reparación ante el daño cerebral.

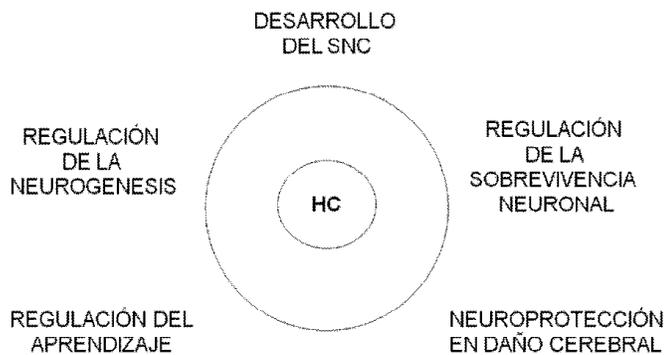


Figura 1. Principales acciones de la HC sobre el SNC. La HC es sintetizada localmente en el SNC en donde ejerce sus efectos directa o indirectamente.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo a CRS a través de la beca de doctorado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) número 235106.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vijayakumar A, Novosyadlyy R, Wu YJ, Yakar S, Derek L. Biological effects of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. *Growth Horm IGF Res* 2010; 20:1-7.
2. Harvey S. Extrapituitary growth hormone. *Endocrine* 2010; 38:335-359.
3. Harvey S and Hull K. Neural growth hormone. An update. *J Mol Neurosci* 2003; 20:1-13.
4. Lichanska AM, Waters MJ. New Insights into growth hormone receptor function and clinical implications. *Horm Res* 2008; 69:138-145.
5. Chapman GE, Rogers KM, Brittain T, Bradshaw RA, Bates OJ, Turner C.

The 20,000 molecular weight HC variant of human growth hormone. *J Biol Chem* 1981; 256: 2395-2401.

6. Peterson FC, Brooks CL. Different elements of mini-helix-I are required for human growth hormone or prolactin action via the prolactin receptor. *Protein Eng Des Sel* 2004; 17: 417-424.
7. Juárez-Aguilar E, Muñozledo-Castro F, Rodríguez-Guerra NE, Reséndez-Pérez D, y col. Functional domains of human growth hormone necessary for the adipogenic activity of hHC/hPL chimeric molecules. *J Cell Sci* 1999; 112: 3127-3135.
8. Juárez-Aguilar, Castro-Muñozledo F. 22-kDa and 20-kDa hHC isoforms show differential effects when assayed in 3T3-F442A and 3T3-F442A/CA adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 217: 28-33.
9. Arámburo C, Luna M, Carranza M, Reyes M, Martínez-Coria H. Growth hormone size variants: changes in the pituitary during development of the chicken. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 233: 67-74.
10. Harvey S, Lavelin I, Pines M. Growth hormone (GH) action in the brain. *J Mol Neurosci* 2002; 18: 89-95
11. De Vos AM, Ultsch M, Mulkerrin MG, Wells JA. Dimerization of the extracellular domain of the human growth hormone receptor by a single hormone molecule. *Science* 1991; 254: 821-857.
12. Brown RJ, Adams JJ, Pelekanos RA, Wan Y, McKinstry WJ, Palethorpe K. Model for growth hormone receptor activation based on subunit rotation within a receptor dimer. *Nat Struct Mol Biol* 2005; 12: 814-821.
13. Eijndez M, Lahaye LL, Strous GJ. Disulfide bonds determine growth hormone receptor folding, dimerization and ligand binding. *J Cell Sci* 2006; 119: 3078-3086.
14. Baumann G. Growth hormone binding protein 2001. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001; 14:355-375.
15. Wells JA. Biding in the growth hormone receptor complex. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 938: 1-6.
16. Cunninham BC, Ultsch M, De Vos AM, Mulkerrin MG, Clauser KR, Wells JA. Dimerization of the extracellular domain of the human growth hormone receptor by a single hormone molecule. *Science* 1991; 254: 821-825.
17. Fuh G, CunninHCam BC, Fukunaga R, Nagata S, Goeddel DV, Wells JA. Rational design of potent antagonists to the human growth hormone receptor. *Science* 1992; 256: 1677-1680.
18. Yang N, Xiangdong W, Jing J, Stuart JF. Role of growth hormone (HC) receptor transmembrane domain in receptor predimerization and HC-induced activation. *Mol Endocrinol* 2007; 21:1642-1655.
19. Yang N, Langenheim JF, Wang X, Jiang J, Chen WY, Frank SJ. Activation of growth hormone receptors by growth hormone and growth hormone antagonist dimmers. *Mol Endocrinol* 2008; 22:978-988.
20. Frank SJ. Receptor dimerization in HC and erythropoietin action –it takes two to tango, but how? *Endocrinology* 2002; 143: 2-10.
21. Waters MJ, Hoang HN, Fairlie DP, Pelekanos RA, Brown RJ. New insights into growth hormone action. *J Mol Endocrinol* 2006; 36: 1-7.
22. Goujon L, Allevato G, Simonin G, Paquereau L, Le Cam A, Clark J, y col. Cytoplasmic sequences of the growth hormone receptor necessary for signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 91:957-961.
23. Pantaleon M, Whiteside EJ, Harvey MB, Barnard RT, Waters MJ, Kaye PL. Functional growth hormone (GH) receptors and GH are expressed by preimplantation mouse embryos: A role for GH in early embryogenesis? *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:5125-5130.
24. Zhai Q, Lai Z, Roos P, Nyberg F. Characterization of growth hormone binding sites in rat brain. *Acta Paediatr Suppl* 1994; 406:92-95.
25. Lai Z, Roos P, Zhai O, Olsson Y, Höhlenhag K, Larsson C, Nyberg F. Age-related reduction of human growth hormone-binding sites in the human brain. *Brain Res.* 1993; 621:260-266.
26. Minami S, Kamegai J, Hasegawa O, Sugihara H, Okada K, Wakabayashi I. Expression of growth hormone receptor gene in rat hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 1993; 5:691-696.

27. Donahue CP, Kosik KS, Shors TJ. Growth hormone is produced within the hippocampus where it responds to age, sex, and stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 6031–6036.
28. Palacios N, Sánchez-Franco F, Sánchez L, Sánchez-Grandes M, Cacicedo L. Acciones neurotróficas de la hormona de crecimiento durante el desarrollo y envejecimiento cerebral. *Mapfre Medicina* 2005; 16:195–208.
29. Nyberg F. Growth hormone in the brain: characteristics on specific brain targets for the hormone and their functional significance. *Front Neuroendocrinol* 2000; 21: 330–348.
30. Ransome MI, Turnley AM. Analysis of neuronal subpopulations in mice over-expressing suppressor of cytokine signaling-2. *Neuroscience* 2005; 132: 673–687.
31. Pelton EW, Grindeland RE, Young E, Bass NH. Effects of immunologically induced growth hormone deficiency on myelinogenesis in developing rat cerebrum. *Neurology* 1977; 27:282–288.
32. Noguchi T. Effects of growth hormone on cerebral development: morphological studies. *Horm Res* 1996; 45:5–17.
33. Noguchi T, Sugiasaki T, Tsukada Y. Microcephalic cerebrum with hypomyelination in the growth hormone-deficient mouse (lit). *Neurochem Res* 1985; 10:1097–1106.
34. Noguchi T, Sugiasaki T, Tsukada Y. Stimulation of Snell dwarf mouse neuronal growth by GH and T4. *Neurochem Pathol* 1984; 2:123–138.
35. Ajo R, Cacicedo L, Navarro C, Sánchez-Franco F. Growth hormone action on proliferation and differentiation of cerebral cortical cells from fetal rat. *Endocrinology* 2003, 144; 1086–1097.
36. McLenachan S, Lum MG, Waters MJ, Turnley AM. Growth hormone promotes proliferation of adult neurosphere culture. *Growth Horm IGF Res* 2009; 19:212–218.
37. Lyuh E, Kim HJ, Kim M, Lee JK, Park KS, Yoo KY, Lee KW, Ahn YO. Dose-specific or dose-dependent effect of growth hormone treatment on the proliferation and differentiation of cultured neuronal cells. *Growth Horm IGF Res* 2007, 17:315–322.
38. Scott HJ, Stebbing MJ, Walters CE, McLenachana S, Ransome MI, Nichol NR, Turnley AM. Differential effects of SOCS2 on neuronal differentiation and morphology. *Brain Res* 2006; 1067: 138–145.
39. Baudet ML, Rattray D, Martin BT, Harvey S. Growth hormone promotes axon growth in the developing nervous system. *Endocrinology* 2009; 150: 2758–2766.
40. Aberg ND, Johansson I, Aberg MAI, Lind J, Johansson UE, Cooper-Kuhn CM, Kuhn HG, Isgaard J. Peripheral administration of GH induces cell proliferation in the brain of adult hypophysectomized rats. *J Endocrinol* 2009; 201:141–150.
41. Velasco B, Cacicedo L, Escalada J, López-Fernández J, Sánchez-Franco F. Growth hormone gene expression and secretion in aging rats is age dependent and not age-associated weight increase related. *Endocrinology* 1998; 139: 314–320.
42. Forshee BA. The aging brain: is function dependent on growth hormone/insulin-like growth factor-1 signaling. *Age* 2006; 28:173–180.
43. Burger C. Region-specific genetic alterations in the aging hippocampus: implications for cognitive aging. *Front Aging Neurosci* 2010; 2:1–12.
44. Van Nieuwpoort IC, Drent ML. Cognition in the adult with childhood-onset GH deficiency. *Eur J Endocrinol* 2008; 159: S53–S57.
45. Le Greves M, Le Greves P, Nyberg F. Age-related effects of IGF-1 on the NMDA-, GH- and IGF-1-receptor mRNA transcripts in the rat hippocampus. *Brain Res Bull* 2005; 65:369–374.
46. Li E, Kim DH, Cai M, Lee S, Kim Y, Lim E, Ryu JH, Unterman TG, Park S. Hippocampus-dependent spatial learning and memory are impaired in growth hormone-deficient spontaneous dwarf rats. *Endocrine J* 2011; 58: 257–267.
47. Leon-Carrion J, Martin-Rodríguez JF, Madrazo-Atutxa A, Soto-Moreno A, Venegas-Moreno E, Torres-Vela E, Benito-López P, Angeles-Galvez M, Tinahones FJ, Leal-Cerro A. Evidence of cognitive and neurophysiological impairment in patients with untreated naive acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95:4367–4379.
48. Sathivageeswaran M, Burman P, Lawrence D, Harris AG, Falletti MG, Maruff P, Wass J. Effects of GH on cognitive function in elderly patients with adult-onset GH deficiency: a placebo-controlled 12-month study. *Eur J Endocrinol* 2007; 156:439–447.
49. Le Greves M, Zhou Q, Berg M, Le Greves P, Höhlenhag K, Meyerson B, Nyberg F. Growth hormone replacement in hypophysectomized rats affects spatial performance and hippocampal levels of NMDA receptor subunit and PSD-95 gene transcript levels. *Exp Brain Res* 2006; 173: 267–273.
50. Park SW, Shin S, Kim CH, Ko A, Kwak MJ, Nam MH, Park SY, Kim SJ, Sohn YB, Galinsky RE, Kim H, Yeo Y, Jin DK. Differential effects of insufflated, subcutaneous, and intravenous growth hormone on bone growth, cognitive function, and NMDA receptor subunit expression. *Endocrinology* 2010; 151:4418–4427.
51. Le Greves M, Steensland P, Le Greves P, Nyberg F. Growth hormone induces age-dependent alteration in the expression of hippocampal growth hormone receptor and N-methyl-D-aspartate receptor subunits gene transcripts in male rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:7119–7123.
52. Esteban S, Garau C, Aparicio S, Moranta D, Barcelo P, Ramis M, Tresguerres JAF, Rial R. Improving effects of long-term growth hormone treatment on monoaminergic neurotransmission and related behavioral tests in aged rats. *Rejuvenation Res* 2010; 13:707–715.
53. Ghada S. Mahmoud and Lawrence M. Grover. Growth hormone enhances excitatory synaptic transmission in area CA1 of rat hippocampus. *J Neurophysiol* 2006; 95:2962–2974.
54. Madrid O, Varea S, Sánchez-Pérez I, Gómez-García L, De Miguel E, Gómez de Segura IA, Perona R. Growth hormone protects against radiotherapy-induced cell death. *Eur J Endocrinology* 2002; 147: 535–541.
55. Isla A, Budke M, Cacicedo L, García-Grande A, Vázquez-Rodríguez I, de Miguel E, Pérez-Álvarez M. Protective effects of growth hormone in cell cultures of the central nervous system. *Rev Neurol* 2002; 34: 208–211.
56. Sanders EJ, Parker E, Harvey S. Endogenous growth hormone in human retinal ganglion cells correlates with cell survival. *Mol Vision* 2009; 15:920–926.
57. Harvey S, Baudet ML, Sanders EJ. Growth hormone-induced neuroprotection in the neural retina during chick embryogenesis. *Ann NY Acad Sci* 2009; 1163:414–416.
58. Regalado Santiago C, Lopez Meraz ML, Juarez Aguilar E. Growth hormone regulates survival of primary cultures of embryonic neural precursor. *Mol Biol Cell* 2011; 22: 2068.
59. Jeay S, Sonenshein GE, Postel-Vinay MC, Baixeras E. Growth hormone prevents apoptosis through activation of nuclear factor-κB in interleukin-3-dependent Ba/F3 cell line. *Mol Endocrinol* 2000; 14: 650–661.
60. Jeay S, Sonenshein GE, Kelly PA, Postel-Vinay MC, Baixeras E. Growth hormone exerts antiapoptotic and proliferative effects through two different pathways involving nuclear factor-κB and phosphatidylinositol 3-kinase. *Endocrinology* 2001; 142:147–156.
61. Frago LM, Pañeda C, Dickson SL, Hewson AK, Argente J, Chowen JA. Growth hormone (GH) and GH-releasing peptide-6 increase brain insulin-like growth factor-I expression and activate intracellular signaling pathways involved in neuroprotection. *Endocrinology* 2002; 143:4113–4122.
62. Lichtenwalner RJ, Forbes ME, Sonntag WE, Riddle DR. Adult-onset deficiency in growth hormone and insulin-like growth factor-I decreases survival of dentate granule neurons: Insights into the

- regulation of adult hippocampal neurogenesis. *J Neurosci Res* 2006; 83:199–210.
63. Han TR, Chun MH, Jang DH, Kim KS, Lim KH, Cho HJ. Neuroprotective effects of growth hormone against hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats: 1H magnetic resonance spectroscopic study. *J Korean Med Sci* 2007; 22: 122-126.
64. Christophidis LJ, Gorba T, Gustavsson M, Williams CE, Werther GA, Russo VC, Scheepens A. Growth hormone receptor immunoreactivity is increased in the subventricular zone of juvenile rat brain after focal ischemia: A potential role for growth hormone in injury-induced neurogenesis. *Growth Horm IGF Res* 2009; 19:497–506.
65. Lichtenwalner RJ, Parent JM. Adult neurogenesis and the ischemic forebrain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; 26: 1–20
66. García-García F, De la Herrán-Aritab AK, Juárez-Aguilar E, Regalado-Santiago C, Millán-Aldaco D, Blanco-Centurión C, Drucker-Colín R. Growth hormone improves hippocampal adult cell survival and counteracts the inhibitory effect of prolonged sleep deprivation on cell proliferation. *Brain Res Bull* 2011; 84:252–257.



Aprendizaje visomotor en la salud y la enfermedad

Juan Fernández Ruiz, Rosalinda Díaz,
Pablo Moreno-Briseño, Juan Manuel Gutiérrez Garralda.

RESUMEN

Actualmente las bases neuronales de la coordinación visomotora son intensamente estudiadas debido a que pueden ser sujetas a la implementación de nuevas tecnologías terapéuticas en pacientes con diversos tipos de deficiencias motoras. Sin embargo falta mucho por conocer en relación a su modificación durante el aprendizaje, lo cual podría afectar de manera importante el desempeño de las interfaces terapéuticas si los algoritmos diseñados con dichos fines no toman en cuenta la gran plasticidad neuronal del sistema. En el presente artículo exponemos el trabajo que hemos realizado de forma comprensiva en relación al aprendizaje visomotor, analizando el efecto de la introducción de dos tipos de perturbaciones ópticas sobre el sistema visual. La primera perturbación es la refracción del campo visual, la cual ha recibido un renovado interés por parte de la comunidad científica al demostrarse su efecto terapéutico en pacientes con hemi-atención, mientras que la segunda perturbación es la inversión del campo visual, que ha servido a varios artículos anecdóticos, pero que nunca ha sido estudiada sistemáticamente. Una diferencia crítica entre ambas perturbaciones es el papel de la retroalimentación. Mientras que en la refracción del campo visual la retroalimentación es congruente con la actualización correctiva del sistema, en la inversión del campo visual la retroalimentación es incongruente con la actualización correctiva. El análisis del efecto de estas perturbaciones en diferentes poblaciones ha permitido profundizar tanto en el funcionamiento de este sistema, como en el esclarecimiento de sus bases neuronales.

Palabras clave: aprendizaje, sistema motor, coordinación visomotora.

ABSTRACT

The search for the neural basis of visuomotor control is currently a high research priority because they could be used for novel therapeutic approaches in patients with different types of motor deficits. However, much has to be learned in relation to the visuomotor learning process, since the way different therapeutic interfaces function could be affected if the neural plastic changes are not taken into account. Here we review much of the work we have been doing in visuomotor learning in our lab. We explain the two main optical perturbations used to challenge the visuomotor system, which are the introduction of wedge prisms that displace the visual field, and the introduction of dove prisms that reverse the visual field. These two perturbations differ in how they affect the feedback mechanism. While the first produce a congruent feedback that can use the current error correction algorithms of the system, the later led to an incongruent feedback that is incompatible with the current error correction system. The analysis of the effect of these perturbations in different patient populations has advanced our understanding of how the visuomotor system works.

INTRODUCCIÓN

La coordinación sensorimotora es fundamental en los animales. En el humano la coordinación visomotora juega un papel fundamental en la mayoría de las actividades cotidianas que incluyen, entre otras, desde comer hasta manejar un automóvil. De hecho, aunque estas habilidades son altamente recompensadas por la sociedad a través de grandes ganancias económicas a los mejores deportistas de fútbol, tenis, golf, etc., su verdadero impacto se puede observar en pacientes que presentan deficiencias en estas capacidades, como los pacientes con ataxia óptica, o con ataxias espinocerebelares (1-3).

La coordinación visomotora se refiere básicamente a utilizar información visual para guiar los movimientos o acciones del sistema motor. A simple vista este proceso podría parecer fácil de dilucidar. Sin embargo décadas de investigaciones básicas, así como los intentos recientes de recrear mecánicamente este sistema, nos han permitido revalorar en toda su complejidad a este problema.

La coordinación visomotora es una capacidad que se desarrolla de forma postnatal y que en condiciones normales continúa a lo largo de toda la vida del individuo (4). Debido a que las condiciones físicas y mecánicas varían con la edad (por ejemplo el largo de los brazos y por consiguiente la longitud de alcance de las manos se modifica hasta el fin de la adolescencia), este sistema sigue siendo plástico, por lo que puede adaptarse incluso a perturbaciones artificiales, como sería la introducción de prismas que refractan o invierten el campo visual (5).

Representaciones internas.

Uno de los conceptos fundamentales de las neurociencias es que el sistema nervioso es capaz de formar representaciones o modelos internos de diversas entidades que incluyen entre otras al espacio corporal. Dentro de estas representaciones se ha propuesto que el sistema nervioso también es capaz de formar representaciones internas de las transformaciones sensorimotoras. Dichas transformaciones se refieren al proceso de, por ejemplo, transformar la información visoespacial de la localización de un objeto para su uso subsecuente por el sistema motor (6). Ahora bien, dentro del sistema motor se han propuesto por lo menos dos sistemas de representaciones internas que contribuyen a la planeación y control del movimiento. Estos son el sistema de las representaciones cinemáticas y el de las representaciones dinámicas (7, 8). Las representaciones cinemáticas son aquellas que se ocupan de las velocidades y trayectorias espaciales de los efectores, mientras que las dinámicas se ocupan de las fuerzas para generar los movimientos de los efectores. Se puede decir, en otras palabras, que las representaciones cinemáticas se ocupan de la velocidad y la dirección para mover la mano desde el teclado de la computadora hasta la taza de café,

mientras que las representaciones dinámicas se encargarían de la fuerza con la que se movería la mano antes, durante o después de cargar la taza de café. Mediante estudios que alteran uno u otro sistema, se ha encontrado que estos sistemas pueden funcionar independientemente, aunque generalmente se encuentran integrados. Por ejemplo, si se alteran las condiciones dinámicas durante la ejecución de un movimiento en particular, la compensación ejercida por el efector se ve interrumpida cuando se incorpora una segunda perturbación dinámica antagónica a la primera. Sin embargo, si en lugar de introducir una segunda perturbación dinámica, se introduce una perturbación cinemática, entonces no ocurre interferencia entre ambas representaciones (7, 8). Estos hallazgos han dado lugar a la teoría de que el sistema motor trabaja modularmente, y que es posible estudiar estos módulos de forma más o menos independientes (7). Un tipo específico de aprendizaje cinemático es la adaptación visomotora con la que responde el sistema a la introducción de una perturbación óptica. Se ha demostrado que el sistema es lo suficientemente plástico para adaptarse a esta perturbación tanto en condiciones de retroalimentación cerrada o abierta (9). De igual manera se ha demostrado que el sistema puede responder a este tipo de perturbaciones ya sea si son producidas por sistemas computarizados que modifican la trayectoria de una representación virtual del efector (10), o bien si son producidas por la introducción de prismas que desplazan la localización aparente del blanco (11).

Adaptación a Prismas.

Desde finales del siglo XIX von Helmholtz (12) ya había descrito el fenómeno conocido como adaptación a prismas. Esta tarea consiste básicamente en pedirle al sujeto que realice tareas visomotoras mientras mira a través de un prisma que debido al fenómeno de la refracción, desplace ópticamente el campo visual. Las características conductuales de este fenómeno de plasticidad visomotora han sido ampliamente estudiadas (5, 13, 14). De tal forma, se han analizado las propiedades de sus dos componentes principales que son la adaptación y el postefecto subsecuente, el cual aparece una vez que es retirado el prisma (11, 15). También se ha estudiado la tasa de decaimiento del postefecto en condiciones activas y pasivas (16, 17), y la modularidad de la adaptación (18, 19). Sin embargo, aunque se ha investigado incluso el efecto del envejecimiento en este paradigma (20, 21), sus bases neuronales no habían sido investigadas hasta la década de los 80s en la que surgieron los primeros estudios que intentaron correlacionar deficiencias en la ejecución en este paradigma con lesiones en diferentes regiones cerebrales. Dichos estudios se han centrado en la posible participación de los ganglios basales, del cerebelo y de la corteza cerebral en sus regiones frontal y parietal.

Bases neuronales de la adaptación a prismas de refracción

La posible participación de los ganglios basales en diferentes tipos de aprendizajes de procedimientos ha sido ampliamente documentada (22, 23), por lo que en varios estudios se ha explorado el efecto del daño en los ganglios basales en la adaptación a prismas. Desde 1965 se reportó que lesiones experimentales en el núcleo caudado en monos Rhesus afectaban algunos aspectos de la adaptación a prismas (24). Posteriormente, diversos estudios han analizado el desempeño de pacientes con la enfermedad de Parkinson en este paradigma, y han encontrado desde adaptación normal (25, 26), hasta una adaptación significativamente más lenta (27). Estudios similares con pacientes con la enfermedad de Huntington encontraron deficiencias significativas en la adaptación, especialmente en pacientes con la enfermedad de Huntington que también presentaban demencia (28). Desafortunadamente los estudios anteriores fueron hechos con muestras pequeñas de pacientes y descripciones pobres de los métodos y resultados experimentales, lo que se corrigió en un estudio más reciente que presentó una gran población de pacientes tanto de la enfermedad de Parkinson como de la enfermedad de Huntington (29). En dicho estudio se demostró que ninguna de las dos poblaciones de pacientes mostraba deficiencias ni en la tasa, ni en la magnitud final de la adaptación. Sin embargo, ambas poblaciones de pacientes mostraban un postefecto significativamente disminuido (29).

En relación al cerebelo, diversos estudios que han evaluado a pacientes con daño cerebelar han encontrado deficiencias en su adaptación a prismas. Por ejemplo, cuando se comparó a pacientes con daño cerebelar versus pacientes con la enfermedad de Parkinson, o pacientes con Alzheimer, se encontró que únicamente el grupo con lesión cerebelar mostraba deficiencias en la adaptación a prismas (26). Mas adelante, en un estudio con un número significativamente mayor de pacientes, se reportó que daños específicos al cerebelo afectaban o incluso impedían por completo la adaptación a prismas (30). Aunque estudios con primates han confirmado parcialmente los descubrimientos en humanos (31), estudios recientes han encontrado resultados que sugieren la necesidad de profundizar en el posible papel del cerebelo en este tipo de aprendizajes (1, 32).

Los estudios que han investigado el papel de la corteza cerebral en la adaptación a prismas se han enfocado a los lóbulos frontal y parietal. Un estudio inicial en monos sugirió que la lesión del lóbulo frontal afectaba la adaptación a prismas (24), pero un estudio subsiguiente con pacientes no encontró el mismo efecto (33). Estudios mas recientes, sin embargo, han encontrado las deficiencias en pacientes con lesiones del lóbulo frontal en humanos (27) y en monos con lesiones en la corteza premotora (34).

Estudios de nuestro laboratorio.

Estudios conductuales.

En el laboratorio hemos estudiado dos aspectos que forman parte del procesamiento visomotor. El primero es el de la localización y retención de información espacial. En esta área se implementó una tarea que permite medir la capacidad del sistema para identificar y recordar la posición de un estímulo en el espacio visual. A diferencia de estudios previos en los que no importa la localización exacta del estímulo sino que más bien se enfocan a la capacidad del número y sets de estímulos a recordar (35-37), en nuestro diseño la variable crítica es sí el sujeto recuerda la posición exacta del estímulo en el espacio visual. Para caracterizar esta capacidad se comenzaron a investigar dos variables involucradas en este proceso. La primera es el offset que consiste en la distancia entre la posición original del estímulo presentado en una primera ocasión, y su posición durante una segunda presentación. La segunda variable es el tiempo de retardo entre ambas presentaciones del estímulo. Los primeros estudios han demostrado que existe un umbral de la distancia crítica para la detección del cambio de posición del estímulo visual (Figura 1).

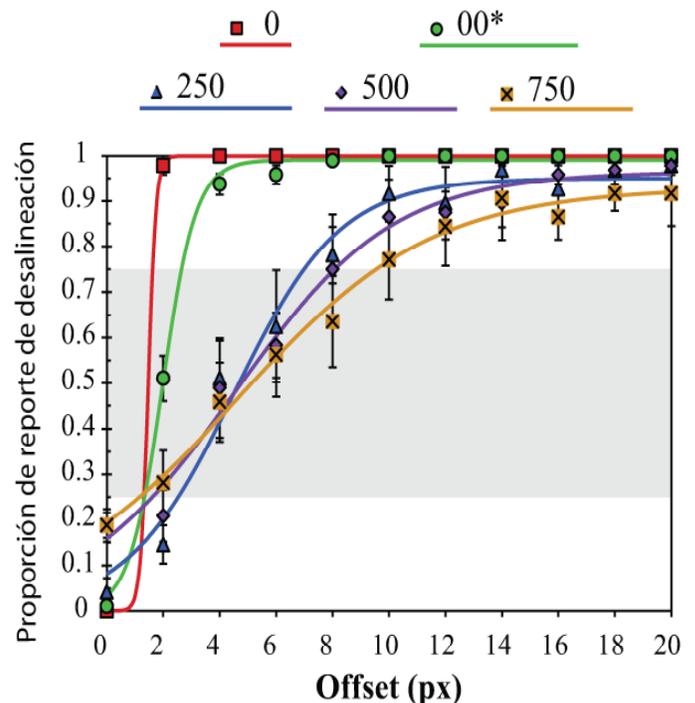


Figura 1. Detección del cambio de posición de un estímulo en el espacio visual utilizando el método de igual-diferente. Se muestra la detección del cambio de posición en función de diferentes magnitudes del offset (diferencia en la alineación entre la línea muestra y la línea de muestra que va desde 0 hasta 20 píxeles) a diferentes retardos (desde 0 a 750 milisegundos, $n = 12$). Barras de error = S.E.M. En el setup utilizado 10 píxeles equivalen a 0.32° visuales. Nótese el claro efecto de la magnitud del offset sobre la detección del cambio de posición (38).

El segundo proceso que se ha estudiado es el del aprendizaje visomotor en sí, para lo cual se han empleado tradicionalmente prismas de refracción. Sin embargo, recientemente se ha detectado que el sistema responde de diferente manera a los prismas de refracción los cuales producen perturbaciones que dan lugar a una retroalimentación congruente entre el sistema visual y el motor, que a prismas de inversión, los cuales dan lugar a una retroalimentación incongruente (Figura 2) (39).

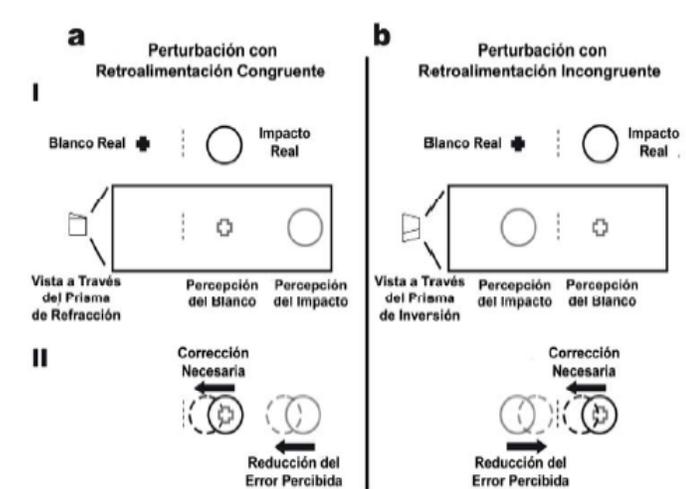


Figura 2. Descripción del efecto de dos perturbaciones ópticas que dan lugar a dos tipos diferentes de retroalimentación. A. Efecto de la introducción de prismas de refracción que dan lugar a una retroalimentación congruente. B. efecto de la introducción de prismas de inversión que dan lugar a una retroalimentación incongruente. La tarea ilustrada consiste en realizar un movimiento balístico a un blanco. En I se muestra la localización real del blanco y del impacto, y como serían vistos a través de prismas de refracción (A) y de prismas de inversión (B). En II se ilustra la corrección necesaria del movimiento para acercarse al blanco, y la reducción del error percibida por el sistema visual en ambos tipos de perturbaciones. Con los prismas de refracción la corrección necesaria y la percepción de la reducción del error son congruentes. Con los prismas de Inversión la corrección necesaria y la percepción de la reducción del error son incongruentes.

Como se mencionó anteriormente, se ha encontrado que pacientes con lesiones de los ganglios basales (enfermedad de Huntington o enfermedad de Parkinson) muestran tasas de aprendizaje visomotor iguales a los sujetos sanos, mientras que sujetos con lesiones cerebelares (ataxia espinocerebelar tipo 2) muestran una severa deficiencia en la tasa de adaptación (1, 29). Por otro lado, estudios recientes sugieren que la introducción de prismas de inversión produce resultados diferentes al simple desplazamiento horizontal. De los pacientes con enfermedad de Huntington que hemos evaluado, todos adaptan a la refracción, mientras que ninguno a logrado adaptar a la inversión óptica (n = 10) (Figura 3). Estos resultados claramente disocian por un lado la deficiencia motora mostrada por los pacientes que se refleja en una mayor dispersión en su ejecución en la línea base, y por

otro lado la deficiencia que muestran en la inversión del campo visual, pero no en la adaptación al desplazamiento lateral. Los pacientes con la enfermedad de Parkinson que hemos evaluado parecen seguir este mismo patrón, y aún desconocemos el efecto de la lesión cerebelar en este tipo de rotación. La principal pregunta que surge de estas evidencias empíricas es si la diferencia en la retroalimentación en que difieren ambos tipos de perturbaciones es el proceso fundamental que produce la disociación de resultados en los pacientes evaluados. Otra posibilidad que se ha comenzado a evaluar es si los pacientes son capaces de formular representaciones internas de la localización espacial del blanco a alcanzar. Para evaluar esta posibilidad sería conveniente evaluar si los pacientes pueden realizar la tarea llamada en la literatura “anti-pointing”, la cual surgió del paradigma experimental llamada “anti-saccade”, que consiste en realizar movimientos sacádicos a la posición opuesta en el espacio donde se presenta un posible blanco (40). Esta tarea permitiría disociar si el sujeto puede realizar movimientos a una representación interna generada a partir de un estímulo visual, o si bien no puede realizar la transformación visomotora de disociar la localización espacial del estímulo visual para realizar un movimiento al campo espacial procesado por el otro hemisferio.

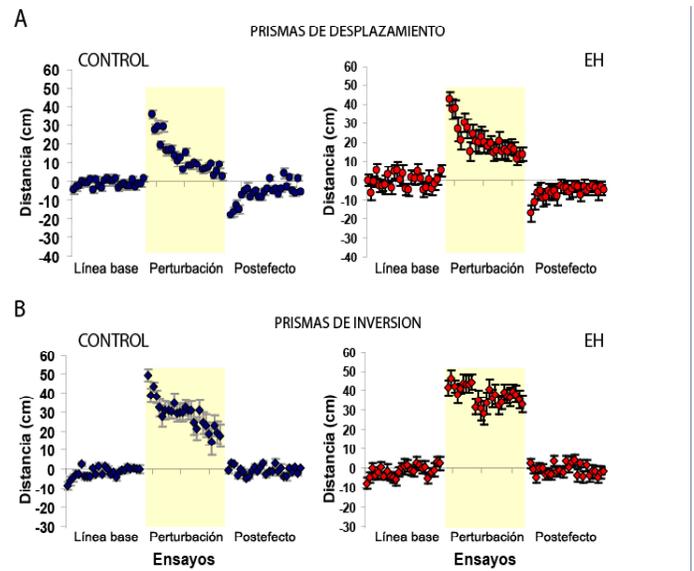


Figura 3. Efecto de la introducción de dos tipos diferentes de perturbaciones ópticas (A. prismas de refracción; B. prismas de inversión) en el aprendizaje visomotor en sujetos sanos (Ay B izquierda) y pacientes con la enfermedad de Huntington (EH) (A y B derecha). El eje X denota los ensayos y el eje Y denota la distancia con respecto al blanco. Las barras de error denotan los errores estándar. Las barras amarillas denotan los periodos de exposición a las perturbaciones ópticas. Línea base es la fase inicial de ejecución sin prismas, Perturbación es la fase de ejecución con prismas de refracción o inversión, y Postefecto es la fase de ejecución una vez que se retiran los prismas. Nótese la deficiente adaptación del grupo de pacientes en la adaptación a la inversión (39)

Estudios de imagenología cerebral.

Los estudios con lesiones tanto en pacientes como en primates no humanos han arrojado información general que nos permite tener una visión global de la participación de diversas estructuras en el aprendizaje visomotor medido a través de la adaptación a prismas. No obstante, los datos aún siguen siendo parciales e incompletos. Es por esto que para entender más profundamente este tipo de aprendizaje es importante utilizar técnicas que permitan analizar el funcionamiento global del cerebro. Una posible aproximación es usar la imagenología funcional. Las técnicas de imagenología cerebral son poderosas herramientas que permiten visualizar el cerebro en condiciones *in vivo* y así poder hacer estudios de correlaciones anatómicas o funcionales. Por ejemplo, mediante el uso de la imagenología por resonancia magnética se ha podido detectar regiones cuya degeneración esta correlacionada con la pérdida de la olfacción en la enfermedad de Huntington (41). Respecto a la imagenología funcional y el aprendizaje visomotor, únicamente existen dos reportes que han investigado la adaptación a prismas de refracción (42, 43). En el primer estudio se demostró que la corteza parietal posterior se activa de manera selectiva comparada con una línea base de movimiento a blancos semialeatorios; mientras que en el segundo se demostró la activación de más estructuras durante la adaptación. Desafortunadamente ambos estudios se quedaron al nivel de reportar únicamente las activaciones, sin intentar hacer un análisis mas profundo del funcionamiento del sistema, o de discernir temporalmente los diferentes procesos involucrados en la tarea que se utilizó (42, 43).

En nuestro laboratorio también hemos comenzado a investigar el patrón temporal de activación de la corteza parietal posterior durante una prueba de adaptación a prismas de inversión utilizando la técnica de resonancia magnética funcional (IRMf) relacionada a eventos, la cual permite una mejor resolución temporal y espacial (44). En la Figura 4 se puede observar en un corte de la corteza parietal posterior, específicamente en el precuneus, como la activación se invierte después de introducir los prismas de inversión. En contraste, la activación observada en el giro angular se mantiene ligada a la dirección de señalamiento del efector.

Esta técnica de IRMf permitirá, en principio, obtener datos funcionales de las estructuras que pudieran estar participando en los fenómenos de plasticidad neuronal asociados a tareas de aprendizaje procedural, específicamente de aprendizajes que impliquen cambios de la representación de la transformación visomotora durante la adaptación a prismas (45). Es importante notar que además del análisis del curso temporal de actividad de los sitios de interés, el análisis de los datos funcionales mediante técnicas de inteligencia artificial, como la utilización de discriminantes lineales y enfoques

bayesianos así como otras técnicas equivalentes como lo son los árboles de decisión y las redes neuronales, pudieran aportar datos novedosos (46).

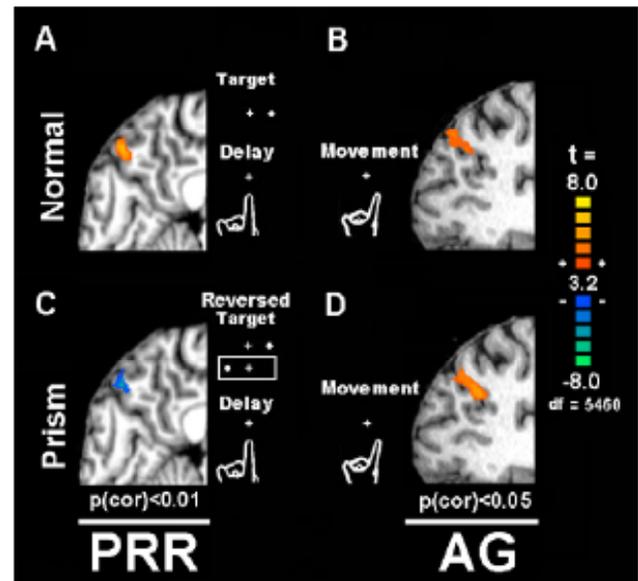


Figura 4. Efecto de la introducción de prismas de inversión en una tarea de señalamiento medido con resonancia magnética funcional. A y B representan las activaciones en la corteza parietal inferior (A) y en el giro angular (B) en condiciones normales. (C) representa el cambio de activación en la corteza parietal inferior después de la introducción de prismas de inversión, mientras que (D) representan la activación en el giro angular que se mantiene ligada al movimiento del miembro, y no a la inversión de óptica como lo hace la corteza parietal inferior (C). Las activaciones son significativas al nivel de $(p < 0.01)$. La barra colorimétrica representa los valores t para el estadístico del modelo lineal general aplicando la corrección de Bonferroni (44).

CONCLUSIÓN

En esta revisión hemos descrito las características principales del aprendizaje visomotor, la cual es una capacidad fundamental para el ser humano. Estudios tanto en nuestro laboratorio como en otros centros de investigación han permitido delimitar en gran medida las bases neuronales que subyacen esta capacidad. Ahora sabemos que los ganglios basales no son necesarios para recalibrar la coordinación visomotora, y sin embargo parecen ser fundamentales para corregir errores cuando estos requieren de procesos considerados tradicionalmente como cognitivos. En contraste, la participación del cerebelo parece ser fundamental tanto para la recalibración sensorimotora como para la reducción del error bajo procesos cognoscitivos. Sin embargo queda claro que aun falta diseccionar la contribución de las diferentes áreas cerebelares en ambos procesos, así como también falta investigar la participación de diferentes áreas corticales en este tipo de procesamientos. El continuo desarrollo de las técnicas de imagenología cerebral aunadas a las herramientas provistas

por la inteligencia artificial será una herramienta fundamental para proseguir con dichos avances.

Agradecimientos

El presente artículo fue posible en parte por el apoyo otorgado por el COVECYT al proyecto 127808.

BIBLIOGRAFÍA

- Fernandez-Ruiz J, Velasquez-Perez L, Diaz R, Drucker-Colin R, Perez-Gonzalez R, Canales N, et al. Prism adaptation in spinocerebellar ataxia type 2. *Neuropsychologia*. 2007;45(12):2692-8.
- Maschke M, Gomez CM, Ebner TJ, Konczak J. Hereditary cerebellar ataxia progressively impairs force adaptation during goal-directed arm movements. *J Neurophys*. 2004;91(1):230-8.
- Perenin MT, Vighetto A. Optic ataxia: a specific disruption in visuomotor mechanisms. I. Different aspects of the deficit in reaching for objects. *Brain*. 1988;111 (Pt 3):643-74. Epub 1988/06/01.
- Ferrel C, Bard C, Fleury M. Coordination in childhood: modifications of visuomotor representations in 6- to 11-year-old children. *Exp Brain Res*. 2001;138(3):313-21. Epub 2001/07/20.
- Held R. Plasticity in Sensory-Motor Systems. *Sci Am*. 1965;213(5):84-&.
- Wolpert DM, Ghahramani Z. Computational principles of movement neuroscience. *Nature Neurosci*. 2000;3 Suppl:1212-7. Epub 2000/12/29.
- Flanagan JR, Nakano E, Imamizu H, Osu R, Yoshioka T, Kawato M. Composition and decomposition of internal models in motor learning under altered kinematic and dynamic environments. *J Neurosci*. 1999;19(20):RC34. Epub 1999/10/12.
- Krakauer JW, Ghilardi MF, Ghez C. Independent learning of internal models for kinematic and dynamic control of reaching. *Nature Neurosci*. 1999;2(11):1026-31. Epub 1999/10/20.
- Redding GM, Rossetti Y, Wallace B. Applications of prism adaptation: a tutorial in theory and method. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005;29(3):431-44. Epub 2005/04/12.
- Ghahramani Z, Wolpert DM. Modular decomposition in visuomotor learning. *Nature*. 1997;386(6623):392-5.
- Fernandez-Ruiz J, Diaz R. Prism adaptation and aftereffect: Specifying the properties of a procedural memory system. *Learn Memory*. 1999;6(1):47-53.
- Helmholtz Hv, Southall JPC. *Treatise on physiological optics*. Dover ed. Mineola, NY: Dover Publications; 2005.
- Harris CS. Perceptual Adaptation to Inverted, Reversed, and Displaced Vision. *Psychol Rev*. 1965;72(6):419-44.
- Kornheiser AS. Adaptation to laterally displaced vision: a review. *Psychol Bull*. 1976;83(5):783-816. Epub 1976/09/01.
- Redding GM, Wallace B. Prism exposure aftereffects and direct effects for different movement and feedback times. *J Motoe Beh*. 2000;32(1):83-99. Epub 2000/09/29.
- Fernandez-Ruiz J, Diaz R, Aguilar C, Hall-Haro C. Decay of prism aftereffects under passive and active conditions. *Cogn Brain Res*. 2004;20(1):92-7.
- Hamilton CR, Bossom J. Decay of Prism Aftereffects. *J Exp Psychol*. 1964;67(2):148-&.
- Fernandez-Ruiz J, Hall-Haro C, Diaz R, Mischner J, Vergara P, Lopez-Garcia JC. Learning motor synergies makes use of information on muscular load. *Learn Mem*. 2000;7(4):193-8. Epub 2000/08/15.
- Kitazawa S, Kimura T, Uka T. Prism adaptation of reaching movements: Specificity for the velocity of reaching. *J Neurosci*. 1997;17(4):1481-92.
- Bock O, Schneider S. Sensorimotor adaptation in young and elderly humans. *Neurosci Biobehav Rev*. 2002;26(7):761-7. Epub 2002/12/10.
- Fernandez-Ruiz J, Hall C, Vergara P, Diaz R. Prism adaptation in normal aging: slower adaptation rate and larger aftereffect. *Cogn Brain Res*. 2000;9(3):223-6.
- Fernandez-Ruiz J, Wang J, Aigner TG, Mishkin M. Visual habit formation in monkeys with neurotoxic lesions of the ventrocaudal neostriatum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(7):4196-201. Epub 2001/03/29.
- Packard MG, Knowlton BJ. Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annu Rev Neurosci*. 2002;25:563-93.
- Bossom J. The Effect of Brain-Lesions on Prism-Adaptation in Monkey. *Psychon Sci*. 1965;2(2):45-6.
- Stern Y, Mayeux R, Hermann A, Rosen J. Prism adaptation in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1988;51(12):1584-7. Epub 1988/12/01.
- Weiner MJ, Hallett M, Funkenstein HH. Adaptation to lateral displacement of vision in patients with lesions of the central nervous system. *Neurology*. 1983;33(6):766-72. Epub 1983/06/01.
- Canavan AG, Passingham RE, Marsden CD, Quinn N, Wyke M, Polkey CE. Prism adaptation and other tasks involving spatial abilities in patients with Parkinson's disease, patients with frontal lobe lesions and patients with unilateral temporal lobectomies. *Neuropsychologia*. 1990;28(9):969-84. Epub 1990/01/01.
- Paulsen JS, Butters N, Salmon DP, Heindel WC, Swenson MR. Prism adaptation in Alzheimer's and Huntington's disease. *Neuropsychology*. 1993;7(1):73.
- Fernandez-Ruiz J, Diaz R, Hall-Haro C, Vergara P, Mischner J, Nunez L, et al. Normal prism adaptation but reduced after-effect in basal ganglia disorders using a throwing task. *Eur J Neurosci*. 2003;18(3):689-94.
- Martin TA, Keating JG, Goodkin HP, Bastian AJ, Thach WT. Throwing while looking through prisms .1. Focal olivocerebellar lesions impair adaptation. *Brain*. 1996;119:1183-98.
- Baizer JS, Kralj-Hans I, Glickstein M. Cerebellar lesions and prism adaptation in macaque monkeys. *J Neurophys*. 1999;81(4):1960-5. Epub 1999/04/14.
- Miall RC, Silburn P. A study of motor performance and motor learning in episodic ataxia. *NeuroReport*. 1997;8(9-10):2159-64.
- Welch RB, Goldstein G. Prism adaptation and brain damage. *Neuropsychologia*. 1972;10(4):387-94. Epub 1972/12/01.
- Kurata K, Hoshi E. Reacquisition deficits in prism adaptation after muscimol microinjection into the ventral premotor cortex of monkeys. *J Neurophys*. 1999;81(4):1927-38. Epub 1999/04/14.
- Bor D, Owen AM. A common prefrontal-parietal network for mnemonic and mathematical recoding strategies within working memory. *Cereb Cortex*. 2007;17(4):778-86. Epub 2006/05/19.
- Courtney SM, Petit L, Maisog JM, Ungerleider LG, Haxby JV. An area specialized for spatial working memory in human frontal cortex. *Science*. 1998;279(5355):1347-51. Epub 1998/03/21.
- D'Esposito M, Aguirre GK, Zarahn E, Ballard D, Shin RK, Lease J. Functional MRI studies of spatial and nonspatial working memory. *Cogn Brain Res*. 1998;7(1):1-13.
- Gutierrez-Garralda J, Saldivar M, Fernandez-Ruiz J, editors. Characterizing how well can we remember a spatial location in our visual field. *Society for Neuroscience Annual Meeting; 2008; Washington, D.C.: Society for Neuroscience*.
- Moreno-Briseño P, Diaz R, Alonso ME, Ochoa A, Fernandez-Ruiz J, editors. Huntington's disease patients do not adapt to incongruent error feedback *Society for Neuroscience Annual Meeting; 2008; Washington, D.C.: Society for Neuroscience*.
- Munoz DP, Everling S. Look away: the anti-saccade task and the voluntary control of eye movement. *Nature Rev Neurosci*. 2004;5(3):218-28. Epub 2004/02/21.

41. Barrios FA, Gonzalez L, Favila R, Alonso ME, Salgado PM, Diaz R, et al. Olfaction and neurodegeneration in HD. *NeuroReport*. 2007;18(1):73-6. Epub 2007/01/30.
42. Clower DM, Hoffman JM, Votaw JR, Faber TL, Woods RP, Alexander GE. Role of posterior parietal cortex in the recalibration of visually guided reaching. *Nature*. 1996;383(6601):618-21. Epub 1996/10/17.
43. Danckert J, Ferber S, Goodale MA. Direct effects of prismatic lenses on visuomotor control: an event-related functional MRI study. *Eur J Neurosci*. 2008;28(8):1696-704.
44. Fernandez-Ruiz J, Goltz HC, DeSouza JF, Vilis T, Crawford JD. Human parietal "reach region" primarily encodes intrinsic visual direction, not extrinsic movement direction, in a visual motor dissociation task. *Cereb Cortex*. 2007;17(10):2283-92. Epub 2007/01/12.
45. Fernandez-Ruiz J, Diaz R, Moreno-Briseno P, Campos-Romo A, Ojeda R. Rapid topographical plasticity of the visuomotor spatial transformation. *J Neurosci*. 2006;26(7):1986-90.
46. Cruz-Ramirez N, Acosta-Mesa HG, Barrientos-Martinez RE, Nava-Fernandez LA. How good are the Bayesian information criterion and the minimum description length principle for model selection? A Bayesian network analysis. *Lect Notes Artif Int*. 2006;4293:494-504.



El cerebro adicto

The addicted brain

Alejandra Evelyn Ruiz Contreras^{1,2}, Mónica Méndez Díaz¹,
Antonio Romano López¹, Seraid Caynas¹, Oscar Prospéro García¹.

RESUMEN

La adicción a sustancias es un problema de salud pública a nivel mundial. Un cerebro adicto se desarrolla a consecuencia de cambios en la fisiología cerebral. Las drogas gustan porque activan prioritariamente al sistema cerebral del placer; este efecto aumenta la probabilidad de que el sujeto consuma nuevamente la droga. Sin embargo, este consumo también activa, aunque en menor intensidad, a sistemas cerebrales como al de castigo. Conforme se hace asiduo al consumo de la droga, se presentan cambios en la actividad de diversos sistemas neuroquímicos cerebrales. Uno de estos cambios es la hiperactivación del sistema de castigo que se expresa ante la ausencia de la droga. Dicha hiperactivación se asocia con la presencia del síndrome de abstinencia. De esta manera, la recaída en el consumo de la droga ocurre para eliminar las respuestas fisiológicas adversas asociadas a dicho síndrome de abstinencia. Adicionalmente, hay un sistema que inhibe al del placer. Se genera en la corteza prefrontal y termina activando al globo pálido interno. Este pierde su control sobre el del placer, por lo que facilita la ocurrencia de respuestas impulsivas. Igualmente, ocurre plasticidad cerebral en regiones que controlan el consumo de la droga provocando que se vuelva habitual y que se aprenda la relación entre claves ambientales y el consumo de la droga. Es posible que exista un cerebro pre-adicto o vulnerable a la adicción, dependiente de la carga genética o por cambios epigenéticos. Por ello, es necesario conocer cómo las variaciones genéticas están implicadas en las adicciones, a fin de favorecer terapias más eficientes; además, controlar factores ambientales que de otra manera facilitan el consumo de drogas por el sujeto y de esta manera promover la prevención.

Palabras clave: Adicción, sistema de reforzamiento, sistema de castigo, genes, epigénesis.

ABSTRACT

Addiction to substances of abuse is a universal public health problem. The addict brain is a result of physiological changes. The pursuing of addiction substances depends on their ability to activate the rewarding brain system thereby increasing the probability of persisting in exhibiting this behavior. The drug intake not only activates the rewarding system but also the punishment system, meaning, the system that mediates displeasure or fear. Due to this effect, the drug becomes less a positive reinforcer and more a negative reinforcer. Once the user of drugs try to quit their use, the rewarding system is less active and the punishment system which is more active is expressed, and the user suffers all the condition of the withdrawal syndrome. As a result, the user persists in the use of drugs, among other things, to avoid the suffering caused by the withdrawal syndrome, mediated to a large extend by the punishment system. In addition to these two systems, there is the prefrontal cortex system that inactivates both rewarding and punishment systems. The prefrontal cortex also down-regulates the expression of the behavior. Via basal ganglia, the prefrontal cortex prevent the execution of a given behavior. It is able of interrupting an on-going behavior in order to prevent damage. However, with the frequent use of drugs, the prefrontal cortex loses control over these systems; consequently, the subject becomes impulsive and unable of foreseeing the consequences of his/her acts. Other brain regions, i. e. hippocampus and striatum nucleus are also modified by the frequent use of drugs, making the subject to learn environmental cues and facilitating the habit formation. There is some literature supporting the possibility of the existence of a predisposition to be a user of drugs, a sort of pre-addict brain. This pre-addict brain depends on genetic traits that somehow make the subject vulnerable to drugs use. Epigenetic changes also count to explain some subject's vulnerability. Hence, it is of great importance to take into account all these variables: genetic, epigenetic and environmental to have a big picture of the user of drugs in order to mount more efficient pharmacological and not pharmacological interventions.

Key words: rewarding system; punishment system, genes, epigenesis

¹Laboratorio de Canabinoides, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina.

²Laboratorio de Neurogenómica Cognitiva, Departamento de Psicofisiología, Facultad de Psicología.

Universidad Nacional Autónoma de México.

Correspondencia:

Dr. Oscar Prospéro García

Laboratorio de Canabinoides. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

Apdo. Postal 70-250, México, D. F. 04510. México.

E-mail: opg@unam.mx

Telephone: (52-55) 5623 2509, fax: (52-55) 5623 2241.

INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad, el humano ha hecho uso de drogas para alterar su estado de conciencia con fines recreativos o místicos. Básicamente, el humano consume las drogas por que le provocan una sensación subjetiva de recompensa, de placer, de bienestar, al menos cuando inicia en su vida el consumo de sustancias de abuso. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), la palabra “droga” se refiere a una sustancia que previene o cura una enfermedad; pero en términos coloquiales, “droga” hace referencia a una sustancia usada sin fines terapéuticos y que tiene efectos psicoactivos¹. De acuerdo al *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV-R* (DSM-IV, de la *American Psychiatric Association*), el desorden por uso de sustancias involucra dos patrones de conductas desadaptadas: la dependencia (o adicción, de acuerdo a la OMS) y el abuso. En la dependencia se observa en el consumidor, el desarrollo de tolerancia a la droga, síndrome de abstinencia, pérdida de control en el consumo y uso de la sustancia, a pesar de saber que le puede provocar problemas físicos o psicológicos. El abuso se refiere al uso de la sustancia en situaciones riesgosas, asociadas a problemas legales, o a problemas sociales o interpersonales; y también a su uso recurrente dejando de cumplir con responsabilidades.

Se conocen diversos tipos de drogas, una manera de clasificarlas es si son lícitas (como la cafeína, el tabaco y el alcohol) o ilícitas (como la marihuana, la cocaína, el opio, los hongos alucinógenos, entre otras). Todas provocan un efecto en el sistema nervioso central, impactando primariamente los sistemas cerebrales del placer, aunque no exclusivamente². Cada una de las drogas provoca efectos específicos en receptores o transportadores de diversos sistemas cerebrales de neurotransmisión. Actualmente, sabemos que conforme el uso de la droga se hace frecuente, los diversos sistemas cerebrales se vuelven más activos, llevando al paciente a una adaptación neuronal³. De esta manera, estas alteraciones conducen a la adicción, una enfermedad cerebral crónica, que tienden a provocar en el paciente constantes recaídas^{2,4}La adicción se caracteriza por una pérdida en el control en el consumo de la sustancia⁴ que puede generar alteraciones en la salud, el entorno social, el económico e incluso puede involucrar situaciones jurídicas (i. e., manejar en estado de ebriedad y causar accidentes).

Uno de los enigmas que aún no logramos entender es por qué sólo algunas personas desarrollan un consumo patológico de sustancias. Una posible hipótesis es que exista una vulnerabilidad genética que genere a un cerebro pre-adicto. Sin embargo, como ya mencionamos el consumo de la sustancia genera cambios neuroadaptativos en el cerebro. En esta revisión discutiremos la situación actual del consumo de sustancias en

México. Posteriormente, discutiremos los cambios observados en el cerebro adicto: qué sistemas cerebrales están involucrados y cómo se ven afectados por el consumo de sustancias. Adicionalmente, discutiremos la vulnerabilidad genética y la interacción entre el gen y el medio ambiente (epigénesis) en relación a la adicción.

Las adicciones en México

En la Encuesta Nacional de Adicciones (ENA) del 2008 más reciente (la próxima se publicará en noviembre del 2011), se reportaron los patrones de consumo de drogas en nuestro país. En el caso del tabaco, la ENA describió que el inicio de consumo es a los 17.1 años en la población general; pero considerando sólo a la población adolescente, el inicio ocurre a los 13.7 años. El tabaquismo es la primera causa de muerte prevenible según la OMS⁶ y es la quinta causa de muerte en nuestro país. En el caso del alcohol, la ENA no señala la edad de inicio de consumo, pero sí reporta que el consumo más alto de alcohol ocurre entre los 18 y 29 años. Además, la ENA indicó que poco más de 4 millones de mexicanos cursan con dependencia o abuso al alcohol⁵.

Por otro lado, el consumo de drogas ilegales en nuestro país ha aumentado del 4.6% al 5.2% de 2002 a 2008. El consumo de drogas ilegales ha aumentado particularmente entre las mujeres, de 1% en 2002 a 1.9% en 2008, mientras que se observa que la proporción de usuarios de drogas entre hombres y mujeres es de 4.6:1. Las drogas más consumidas en nuestro país en 2008 fueron la marihuana y la cocaína, cuyo nivel de consumo aumentó de 2002 (3.5% y 1.2%, respectivamente) a 2008 (4.2% y 2.4%, respectivamente)⁵. En el caso de la metanfetaminas y el crack, la ENA describió un aumento de seis veces en 2008 con respecto al 2002. Otro dato importante es que los adolescentes (12-17 años) y los jóvenes (18-25 años) están más expuestos a la posibilidad de consumir drogas ilegales y son quienes en mayor proporción desarrollan dependencia, en comparación con adultos de 26 años o más. El consumo de inhalables, marihuana y metanfetamina ocurre con mayor frecuencia antes de los 18 años, y la mayoría de los usuarios de drogas (89.8%) iniciaron el consumo antes de los 26 años⁵. Estos datos nos señalan que la población más vulnerable a desarrollar problemas en el consumo de sustancias son los adolescentes y jóvenes menores de 26 años. Esta vulnerabilidad puede estar asociada con el desarrollo cerebral, particularmente en áreas prefrontales, ya que en estas edades presenta inmadurez, comparada con el de la tercera década de la vida⁷. No está demás mencionar que dentro de las funciones de la corteza prefrontal está la toma de decisiones. Las decisiones las tomamos evaluando las potenciales consecuencias de las mismas, por lo mismo, una corteza prefrontal inmadura, como la del adolescente no toma siempre decisiones adaptativas.

Los mecanismos cerebrales del placer

Comer, dormir, llevar a cabo conducta sexual, son ejemplos de conductas motivadas que nos proveen de una sensación subjetiva de recompensa cuando las realizamos⁸. El estímulo asociado a cada una de estas conductas (p. ej., el alimento) funciona como reforzador. Un reforzador se define como un estímulo que aumenta la probabilidad de que el sujeto repita una conducta. En el cerebro, tenemos un sistema que se encarga de detectar los estímulos que son reforzantes: el sistema de motivación-recompensa o sistema de placer. Este sistema fue descubierto por Olds y Milner en 1954⁹, al colocar un electrodo intracranalmente en las fibras del haz prosencefálico medial, de tal forma que cuando la rata presionaba una palanca se producía una estimulación eléctrica sobre estas fibras, estimulando al cerebro anterior, incluyendo al Núcleo Accumbens (NAc). Las ratas implantadas así se autoestimulaban de manera frecuente y por periodos largos de tiempo, excluyendo la ejecución de otras conductas⁹, lo que sugiere que presionar la palanca era más reforzante que cualquier otra conducta, incluida la ingestión de alimento. Más tarde se identificaron regiones cerebrales importantes en el sistema de motivación-recompensa. Una de ellas es el Área Tegmental Ventral (ATV), con gran densidad de neuronas dopaminérgicas que proyectan al NAc, a la amígdala, al núcleo cama de la estria terminalis, al área septal lateral, a la corteza prefrontal y al hipotálamo lateral¹⁰. El NAc, también recibe proyecciones de la corteza prefrontal (CPF), el hipocampo, la amígdala, el hipotálamo lateral, el tálamo dorsomedial y los núcleos pedúnculo pontino tegmental y laterodorsal tegmental^{2,11}. La comunicación entre estas regiones cerebrales ocurre por diversos neurotransmisores como la dopamina (DA), la serotonina (5-HT), la acetilcolina (ACh), el glutamato (Glu), el ácido γ -aminobutírico (GABA), y neuromoduladores como los endocannabinoides (eCBs) y las endorfinas (EDFs)², sistemas que se alteran en la adicción.

Los reforzadores naturales, que promueven la sobrevivencia del individuo (p. ej., alimentarse¹²) y de la especie (p. ej., llevar a cabo conducta sexual¹³) activan al sistema del placer, generando la sensación de recompensa. Incluso, otros reforzadores, como un buen chiste¹⁴ o escuchar música¹⁵ también lo activan. Todas las drogas (incluyendo la lícitas) estimulan al sistema mesolímbico, ya sea de manera directa o indirecta, activándolo incluso más que los reforzadores naturales^{10,16}. El neurotransmisor crucial liberado por la administración de sustancias adictivas es la DA¹⁷, del ATV al NAc, probablemente responsable de la sensación de motivación por la búsqueda de reforzadores y de la placentera asociada a su consumo. El incremento en la liberación de DA en el NAc durante la intoxicación con la droga ocurre tanto en sujetos adictos como en no adictos, aunque en menor proporción en los sujetos

adictos¹⁸. Además de DA, en el NAc también se libera 5-HT durante la administración de la droga; pero cuando se impide la autoadministración, los niveles de DA y 5-HT caen por debajo de los niveles observados durante la línea base¹⁹. El uso crónico de la droga produce cambios plásticos, p. ej., modificaciones en la expresión del receptor dopaminérgico D2¹⁸ o de receptores glutamatérgicos AMPA3, o mGluR2/3²⁰. Está demostrado que estímulos novedosos o conspicuos (p. ej., un flash de luz) activan a las neuronas dopaminérgicas del ATV y que esta respuesta disminuye conforme se repite el mismo estímulo²¹. Sin embargo, la repetición de la administración continua de la sustancia (i. e., éxtasis, alcohol, cocaína por 7 o 10 días) no disminuye la activación del ATV e incluso, mantiene altos los niveles de dopamina en el NAc de ratas, mientras que bajos los de serotonina y noradrenalina²² hasta varios días después del cese de administración de la droga^{22,23}. En consecuencia, se observa una sensibilización del sistema por el uso de la droga (p. ej., una respuesta locomotora alta²⁴). En humanos se ha observado que sujetos dependientes presentan una activación dopaminérgica del tálamo dorsomedial que no ocurre en los sujetos controles cuando se les administra la droga de abuso¹⁸.

Además del sistema dopaminérgico, otros sistemas neuroquímicos son relevantes en la adicción. Se sabe que el sistema endocanabinoide (eCBs), mediante el receptor a cannabinoides 1 (CB1), modula la activación presináptica del ATV inducida por el sistema glutamatérgico²⁵ proveniente de regiones como la corteza prefrontal, la región pedúnculo pontina o el núcleo subtalámico. El eCBs también modula presinápticamente la activación glutamatérgica de otras estructuras como la CPF y la amígdala, así como la activación gabaérgica de la CPF, la amígdala y el hipocampo²⁶. De esta manera, el eCBs modula directamente al sistema mesolímbico, participa en el proceso de búsqueda de la droga²⁶ y es uno de los sistemas que sufre cambios plásticos en el NAc por la administración de drogas³. Por otro lado, también se ha observado que el efecto reforzante de las drogas de abuso, incluyendo a otras drogas además de los opiáceos, depende de la activación del sistema opioidérgico en diferentes regiones como el ATV, el NAc y la amígdala²⁵.

Como hemos observado, el uso de una sustancia de abuso activa al sistema de placer. Sin embargo, el uso crónico de la droga propicia modificaciones en el sistema de placer, alterando su respuesta, incluso ante reforzadores naturales, de tal forma que el sujeto requiere aumentar la cantidad consumida de la sustancia para producir el efecto inicial (tolerancia)² y deja de responder a los reforzadores naturales. Estos cambios plásticos también ocurren en el sistema del castigo.

Los mecanismos cerebrales del castigo.

El procesamiento de estímulos amenazantes y otros estímulos

emocionales son procesados por la amígdala²⁷, una estructura ubicada en el lóbulo temporal medial que emplea glutamato, GABA, acetilcolina, dopamina, hormona liberadora de corticotropina, endocannabinoides, en su neuroquímica. La amígdala, a través de la activación del hipotálamo y del *Locus coeruleus*, facilita la respuesta al estrés^{28,29}, activando una serie de respuestas autonómicas (p. ej., elevación de la ritmo cardiaco) preparando al organismo para contender con la amenaza que está percibiendo. Entonces, el sistema de castigo está integrado por la amígdala y el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal²⁸.

La activación de la amígdala también se ha asociado con el condicionamiento al miedo en que se aprende la asociación entre un estímulo neutro y uno que naturalmente infringe daño -estímulo incondicionado- (p. ej., choques eléctricos o malestar gastrointestinal), de tal manera que después, la sola presencia del estímulo inicialmente neutro, ahora estímulo condicionado, provocará una respuesta -condicionada- similar a la provocada por el estímulo dañino²⁷. La función de la amígdala sería entonces aprender a detectar qué estímulos son dañinos, para proteger al organismo, generando respuestas de evitación y asegurar el bienestar del sujeto.

La interacción entre los sistemas del placer y del castigo ocurre en todo momento en la vida de un sujeto normal y en el paciente adicto. Durante la intoxicación con drogas de abuso, además del sistema mesolímbico, también se ha descrito la participación de la amígdala, particularmente del núcleo central². La amígdala proyecta fibras glutamatérgicas al ATV. Tanto el NAc como la amígdala codifican estímulos que predicen una recompensa³⁰. Además, se ha observado que la activación del ATV y del núcleo basolateral de la amígdala precede a la respuesta del NAc ante estímulos que predicen la aparición de un reforzador³⁰. Esto evidencia la interacción constante de estos sistemas en la evaluación de los estímulos.

Como mencionamos, la administración de una droga durante su uso inicial produce una sensación placentera, pero en después de un tiempo de administración frecuente producirá además una sensación displacentera que es oponente, el síndrome de abstinencia³¹. Conforme el uso de la droga se hace sostenido, entonces, estos procesos oponentes se mueven de su estado inicial, de tal forma que el estado placentero que provocaba la droga, ahora disminuye y aumentan las sensaciones displacenteras asociadas al síndrome de abstinencia, provocada por la ausencia de la droga³¹.

Durante la fase de abstinencia a la droga, además del decremento en los niveles de DA y 5-HT en el NAc¹⁹, se observa un aumento en la liberación del factor liberador de corticotropina (CRF) en la amígdala, probablemente, regulando a la baja receptores GABAérgicos de la misma³². De este modo, las neuronas liberadoras de CRF estarían liberadas de la inhibición

GABAérgica y se facilitaría la activación autonómica que ocurre durante el síndrome de abstinencia³². La respuesta fisiológica adversa observada durante el síndrome de abstinencia (p. ej., sudoración, temblores, hipotermia, aumento de la frecuencia cardiaca y respiratoria), provoca un afecto negativo², que se suprime con la administración de la droga, lo que sugiere que en esta condición, la droga funciona como un reforzador negativo. Esto es, se consume la sustancia para eliminar los síntomas aversivos del síndrome de abstinencia, lo que aumenta la probabilidad de que el sujeto consuma reiteradamente la sustancia de abuso².

En la adicción, durante la ausencia de la droga, a pesar de que la amígdala sigue cumpliendo su función de cuidar al organismo ante la presencia de estímulos aversivos, lo hace favoreciendo una serie de respuestas neuronales que llevan al sujeto a realizar conductas que le permitan evitar el síndrome de abstinencia. Entre estas respuestas están la búsqueda y el consumo de la droga. Los cambios producidos en el sistema de castigo, asociado a la activación del sistema del placer, hacen que la adicción sea un problema de una alta complejidad por los cambios neuroadaptativos que ocurren en el cerebro. Estos cambios neuroadaptativos propician la recaída al consumo de drogas del paciente. En este contexto, creemos que el mayor problema en la enfermedad adicción a sustancias de abuso es la recaída².

Los mecanismos cerebrales de regulación del placer y los de inhibición de la conducta

Mecanismos de regulación del placer: Corteza Prefrontal

Entre las funciones de la CPF están el control de la conducta y el control cognitivo (la habilidad para llevar a cabo conductas dirigidas por metas, ante la presencia de estímulos sobresalientes y competitivos con la tarea). Diferentes subregiones de la CPF se han asociado con la adicción, la CPF medial (CPFm) y la corteza orbitofrontal (COF). La CPFm está involucrada en la modulación del sistema del placer. Recibe proyecciones dopaminérgicas del ATV y glutamatérgicas de estructuras de los núcleos de la base, a través del tálamo dorsomedial³³. Las eferencias de la CPFm son glutamatérgicas para el ATV, para el estriado dorsal y para el NAc³³. De tal modo que la activación de la CPFm resulta en la activación del ATV y, consecuentemente, del NAc. Por otro lado, la COF recibe entradas de cortezas sensoriales asociativas, del hipotálamo y de la amígdala; y tiene una comunicación recíproca con la CPFm³⁴. Estas regiones responden de manera diferente a la administración aguda de anfetamina de manera sistémica. Esto es, la CPFm (más ejecutiva) disminuye su frecuencia de disparo, mientras que la orbitofrontal (COF; más límbica) la aumenta³⁴. Cuando se repite la administración de la droga, la respuesta excitadora de la COF y la inhibidora de la CPFm aumentan³⁴,

sugiriendo que ha ocurrido plasticidad en estas regiones. Estos cambios también se asocian con una baja eficiencia en memoria de trabajo³⁴, indicando una alteración en conductas dirigidas por metas^{2,34}. Es frecuente observar en sujetos adictos, evaluados en tareas de toma de decisiones en que se busca obtener mayor cantidad de reforzadores a largo plazo (p. ej., *Gambling task* tarea de apuestas), que eligen obtener reforzadores a corto plazo, a pesar de saber que esa estrategia no los lleva a obtener ganancias a largo plazo³⁵. Esto sugeriría que las modificaciones que ocurren durante la adicción en la CPF^{18,36}, alterando su función, hacen que el sujeto sea vulnerable a la recaída al no considerar las consecuencias a largo plazo (impulsividad)².

La CPFm se subdivide en la corteza prelímbica y la infralímbica. Estas cortezas establecen una red neuronal con el estriado, formando dos subcircuitos: el límbico (que incluye al sistema mesolímbico, la amígdala y a la CPFm infralímbica) y el motor (formado por el estriado dorsal, la sustancia negra y la corteza motora). La activación de la CPFm prelímbica (que proyecta a la región *core* del NAc) está asociada a la recaída por la búsqueda de la droga, particularmente por la acción de ACh y DA; mientras que la activación de la CPFm infralímbica (que proyecta a la región *shell* del NAc), no facilita la búsqueda de la droga, a menos que el disparador sea un estímulo condicionado específico³⁷.

Mecanismos de inhibición de la conducta: núcleo subtalámico y globo pálido interno

El consumo inicial de una droga generalmente es voluntario. Conforme el uso de la misma se hace frecuente, entonces se transita al consumo habitual de la droga. La autoadministración crónica de cocaína (100 días) en monos, provoca que la activación del NAc se extienda hacia la región del estriado dorsal³⁸ (región de los núcleos de la base asociada con la formación de hábitos), facilitando la activación del movimiento. Asimismo, se ha observado un aumento en la DA extracelular en el estriado dorsal ante el condicionamiento de un estímulo no contingente (una luz) a la autoadministración de cocaína, que no se observa en el NAc³⁹. Esto último señala la participación del estriado dorsal en el mantenimiento de la búsqueda de la droga asociado a estímulos ambientales³⁹. Se ha sugerido que la homeostasis glutamatérgica se pierde en la adicción, de tal forma que el control de la CPF sobre el NAc y el estriado dorsal está afectado, por lo que el control en la búsqueda a la droga está alterado. De esta manera, observamos que los cambios plásticos que sufre el cerebro por el consumo crónico de la sustancia, también involucran al circuito motor.

Además del estriado dorsal, otras regiones de los núcleos de la base están implicadas en la adicción. El núcleo subtalámico, que forma parte de la vía indirecta, recibe

proyecciones GABAérgicas del globo pálido externo, y envía proyecciones glutamatérgicas al globo pálido interno y a la sustancia negra. Tanto el globo pálido interno como la sustancia negra envían proyecciones GABAérgicas al tálamo dorsomedial, inhibiendo la salida talámica a la corteza motora, lo que previene la ejecución del movimiento⁴⁰. En tareas que evalúan la inhibición de la respuesta en humanos, se ha observado la activación de la corteza frontal inferior derecha y del núcleo subtalámico, diferente a la que ocurre cuando sí se debe dar la respuesta (regiones motoras, estriatales y del globo pálido)⁴¹. Al lesionar bilateralmente al núcleo subtalámico, las ratas disminuyen el número de veces que se autoadministran cocaína, mientras que trabajan más por conseguir comida, un reforzador natural⁴². Lo mismo ocurre cuando se realiza una estimulación cerebral profunda, en que se observa un condicionamiento de aversión de lugar a la cocaína, y un condicionamiento de preferencia de lugar a la comida⁴³. Estos resultados muestran que, además de que el núcleo subtalámico participa en la inhibición de la conducta (al impedir realizar conductas motivadas por cocaína), también participa en la motivación opuesta entre reforzadores naturales y no naturales, como las drogas de abuso⁴².

La vulnerabilidad genética

Es conocido el hecho que las adicciones afectan familias, pero también es cierto que una persona, aunque tenga la vulnerabilidad genética, no necesariamente se convertirá en adicto. Finalmente dependerá de factores medioambientales. La adicción, con múltiples componentes fisiológicos alterados, es un rasgo multivariable y poligénico⁴⁴. Existen hasta ahora algunos genes identificados asociados a la adicción⁴⁵, pero faltan aún muchos más por dilucidar. Una herramienta para calcular en qué proporción de la varianza fenotípica de un rasgo está explicada por la varianza genética, en comparación con la ambiental (en una población en un momento determinado) es el índice de heredabilidad. Este índice asume un valor entre cero, que significa que hay una mayor influencia ambiental para el rasgo, y uno, que indica que el rasgo tiene una mayor influencia genética. La heredabilidad varía en función de la sustancia de abuso y se ha calculado en un rango entre 0.4 y 0.7⁴⁴. Por ejemplo, para la cocaína, que tiene el mayor riesgo adictivo es de 0.7; mientras que la marihuana⁴⁴ tiene una heredabilidad de 0.4. Sin embargo, esto no nos dice qué genes son los que están participando. La ventaja de conocer los genes involucrados en la adicción es facilitar tratamientos más eficientes en contra de las adicciones, ya que es sabido que un tratamiento no tiene la misma eficiencia terapéutica en todos los casos.

Una aproximación al estudio a la genética de la adicción es probar la asociación de fenotipos (p. ej., alcoholismo, tabaquismo, respuesta a tratamiento) y de variaciones puntuales

de un solo nucleótido (SNPs, por sus siglas en inglés) en un gen determinado; estos SNPs se han buscado en genes que codifican para proteínas en los diferentes sistemas de neurotransmisión⁴⁴ y en los asociados a enzimas metabolizadoras de las drogas, ubicadas en el hígado (p. ej., el citocromo P450 (CYP450)⁴⁶, sistema enzimático expresado en el hígado que se encarga del metabolismo de las sustancias). Por ejemplo, en el caso del alcohol, se han descrito dos polimorfismos en los genes: alcohol deshidrogenasa (ADH1B, His47Arg, es decir, en que se sustituye el amino ácido histidina por una arginina en la posición 47) y aldehído deshidrogenasa (ALDH2, Glu487Lis), en que una de las variaciones se asocia a un pobre metabolismo del acetaldehído, provocando las sensaciones desagradables de la embriaguez. Estos polimorfismos en consecuencias, disminuirán la probabilidad de desarrollar alcoholismo⁴⁷. Genes asociados a la neuroquímica cerebral como el GABAR2 (que codifica para la subunidad alfa-2 del receptor GABAA), OPRM1 (que codifica para el receptor μ opioide), el CNR1 (que codifica para el receptor CB1) y el DRD2 (en su forma TaqA1, que se asocia con una menor expresión del receptor a dopamina D2 en el área mesolímbica) se han asociado con el alcoholismo y la adicción a otras sustancias^{44,48,49}.

Una complejidad en la identificación de genes asociados a la adicción es que se pueden asociar con otros fenotipos como alguna patología psiquiátrica (p. ej., tabaquismo y depresión)⁵⁰. A esta comorbilidad la llamamos patología dual. Se ha propuesto la hipótesis de que las personas que cursan con adicción, potencialmente lo hacen como automedicación. Por ejemplo, existe una correlación entre la presencia de tabaquismo y depresión y de trastornos de uso de sustancias con trastornos de ansiedad o conducta antisocial⁵¹. No sabemos si la patología psiquiátrica es causa de la adicción, sin embargo, sí sabemos que con frecuencia, ambos rasgos están presentes en la misma persona. Se ha sugerido que el consumo de las drogas en personas que tienen otra patología psiquiátrica, potencialmente sea para controlar ésta última⁵².

La interacción gen-medio ambiente: epigenesis

Como mencionamos arriba, gen no es destino. En contraste, sabemos que es posible que aún sin tener una vulnerabilidad genética un sujeto puede ser proclive a la adicción. La interacción con el medio ambiente puede producir cambios duraderos en la expresión génica, por modificaciones en la cromatina, que no se deben a mutaciones en el DNA; a esto se le denomina epigenesis⁵³. Entre los cambios epigenéticos que se pueden producir están la metilación, la acetilación, la fosforilación de histonas, y también la metilación y acetilación en sitios específicos del DNA⁵³ (p. ej., en las citocinas de las islas CpG). Una consecuencia funcional de la metilación es condensar la

cromatina, de tal forma que es más difícil que los factores de transcripción activen a la región promotora del gen produciendo una baja transcripción. Esto genera una baja o nula producción de la proteína para la que codifica el gen⁵³.

Un ejemplo de la interacción gen-medioambiente es el cuidado materno; un bajo cuidado materno se asocia con la metilación del receptor a glucocorticoides (GR)^{54,55}; esta metilación produce una baja disponibilidad del GR, un aumento en la liberación de hormona adrenocorticotropa y de corticosterona (hormona del estrés) ante la presencia de un estresor, que las ratas que recibieron un alto cuidado materno. Además, ratas que recibieron bajo cuidado materno consumen más alcohol que las de alto cuidado⁵⁶, sugiriendo una vulnerabilidad a la adicción.

El consumo de sustancias también provoca cambios epigenéticos. La administración aguda de cocaína activa la acetilación y fosforilación de histonas; mientras que la administración crónica, provoca una acetilación diferente a la que ocurre durante la administración aguda (en la histona 3, y no en la histona 4)⁵⁷. Estos cambios epigenéticos no ocurren de manera global en todos los genes, sino de manera específica⁵⁷, lo que indicaría la selectividad de los cambios que se producen en la adicción. Entonces, podría pensarse que los cambios plásticos de larga duración que ocurren en el cerebro adicto pueden deberse a modificaciones epigenéticas, que favorecen el desarrollo y el mantenimiento de la adicción⁵⁷.

CONCLUSIÓN

El cerebro adicto es un cerebro disfuncional. Los cambios que exhibe incluyen la alteración en la expresión de receptores en diversos sistemas de neurotransmisión, que pueden ser producto de cambios epigenéticos producidos por el consumo de la droga o son consecuencia de experiencias tempranas en la vida que generan una patología psiquiátrica que se expresará de manera comórbida con la adicción (patología dual). También pueden ser resultado de una carga genética que vulnera al sujeto. Las drogas inducen cambios neuroadaptativos en el sistema del placer, en el sistema del castigo y en los sistemas que regulan al sistema del placer y de inhibición de la conducta. Los cambios en los sistemas del placer y displacer sugieren un modelo dinámico e integral para el entendimiento del cerebro adicto. Además indica que un cerebro adicto es un cerebro que siempre será vulnerable a la recaída. Entender esto significa que no podemos demandarle a un sujeto que deje el consumo de drogas de manera voluntaria. Además, a pesar de que logre su rehabilitación, siempre es posible que ocurra una recaída. Por lo mismo, conocer la vulnerabilidad genética o adquirida de un sujeto, permitirá implementar mejores terapias farmacológicas

para ayudar al paciente a controlar la adicción y promover su rehabilitación.

Agradecimientos

Este trabajo se hizo con el apoyo de los Donativos IN208010 de DGAPA-UNAM a OPG, el Donativo 80148 del CONACyT a MMD y el Donativo IN217313 de DGAPA-UNAM a AERC.

BIBLIOGRAFÍA

- Organization WH. World Health Organization. http://www.who.int/substance_abuse/terminology/who_lexicon/en/ [Acceso 19 de julio 2011].
- Koob GF, Volkow ND. Neurocircuitry of Addiction. *Neuropsychopharmacology* 2010; 35 (1) :217-238.
- Kauer JA, Malenka RC. Synaptic plasticity and addiction. *Nat Rev Neurosci* 2007;8(11):844-858.
- National Institute on Drug Abuse N. *The Science of Addiction. Drugs, Brains, and Behavior*. NIH, U.S. Department of Health and Human Services; 2008:30.
- Consejo Nacional Contra las Adicciones, Fuente IM de PR de la, Instituto Nacional de Salud Pública. *Encuesta Nacional de Adicciones*. México: Secretaría de Salud; 2008.
- World Health Organization. *WHO Report on the Global Tobacco Epidemic, 2008: The MPOWER package*. Ginebra: World Health Organization; 2008:330.
- Sowell ER, Peterson BS, Thompson PM. Mapping cortical change across the human life span. *Nat Neurosci* 2003:309-315.
- Méndez Díaz M, Ruiz Contreras AE, Prieto Gómez B, Romano A, Caynas S, Prospéro García O. El cerebro y las drogas, sus mecanismos neurobiológicos. *Salud Mental* 2010; 33: 451-456,.
- Olds J, Milner P. Positive Reinforcement Produced by Electrical Stimulation of Septal Area and Other Regions of Rat Brain. *J Comp Physiol Psychol*. 1954;47: 419-427.
- Adinoff B. Neurobiologic processes in drug reward and addiction. *Harv Rev Psychiatry*. 2004;12(6):305-320.
- O'Donnell P, Grace AA. Synaptic Interactions Accumbens Neurons: Input among Excitatory Afferents to Nucleus Hippocampal Gating of Prefrontal Cortical. *J Neurosci* 1995;15:3622-3639.
- Martel P, Fantino M. Mesolimbic dopaminergic system activity as a function of food reward: a microdialysis study. *Pharmacol, Biochem Behav* 1996;53(1):221-226.
- Fiorino DF, Coury A, Phillips A G. Dynamic changes in nucleus accumbens dopamine efflux during the Coolidge effect in male rats. *J Neurosci* 1997;17(12):4849-4855.
- Mobbs D, Greicius MD, Abdel-Aziz E, Menon V, Reiss AL. Humor modulates the mesolimbic reward centers. *Neuron*. 2003;40(5):1041-1048.
- Menon V, Levitin DJ. The rewards of music listening: Response and physiological connectivity of the mesolimbic system. *NeuroImage*. 2005;28(1):175-184.
- Zombeck J a, Chen G-T, Johnson ZV, et al. Neuroanatomical specificity of conditioned responses to cocaine versus food in mice. *Physiol Behav* 2008;93(3):637-650.
- Gardner EL. Addiction and brain reward and anti-reward pathways. *Adv Psychosom Med* 2011;30:22-60.
- Volkow N. Role of Dopamine, the Frontal Cortex and Memory Circuits in Drug Addiction: Insight from Imaging Studies. *Neurobiol Learn Mem* 2002;78(3):610-624.
- Parsons LH, Koob GF, Weiss F. Serotonin dysfunction in the nucleus accumbens of rats during withdrawal after unlimited access to intravenous cocaine. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;274(3):1182-1191.
- Kalivas PW. The glutamate homeostasis hypothesis of addiction. *Nat Rev Neurosci* 2009;10(8):561-572.
- Schultz W. Predictive reward signal of dopamine neurons. *J Neurophys* 1998;80:1-27.
- Mayerhofer A, Kovar KA, Schmidt WJ. Changes in serotonin, dopamine and noradrenaline levels in striatum and nucleus accumbens after repeated administration of the abused drug MDMA in rats. *Neurosci Lett* 2001;308(2):99-102.
- Ding Z-M, Rodd Z a, Engleman E A, McBride WJ. Sensitization of ventral tegmental area dopamine neurons to the stimulating effects of ethanol. *Alcohol Clin Exp Res* 2009;33(9):1571-1581.
- Kalivas PW, Stewart J. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Res Rev* 1991;16(3):223-244.
- Melis M, Pistis M, Perra S, Muntoni AL y cols. Endocannabinoids mediate presynaptic inhibition of glutamatergic transmission in rat ventral tegmental area dopamine neurons through activation of CB1 receptors. *J Neurosci* 2004;24(1):53-62.
- Méndez Díaz M, Soria Gómez EJ, Rueda Orozco PE, Prospéro García O. The mighty cannabinoids: a potential pharmacological tool in medicine. En: *Neural Mechanisms of Action of Drugs of Abuse and Natural Reinforcers*. Research Signpost, India 2008. pp 137-158.
- Phelps E A, LeDoux JE. Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. *Neuron*. 2005;48(2):175-87.
- Francis DD, Meaney MJ. Maternal care and the development of stress response. *Curr Opin Neurobiol* 1999;9:128-134.
- Drevets WC. Neuroimaging and neuropathological studies of depression. *Curr Opin Neurobiol* 2001;11:240-249.
- Ambroggi F, Ishikawa A, Fields HL, Nicola SM. Basolateral Amygdala Neurons Facilitate Reward-Seeking Behavior by Exciting Nucleus Accumbens Neurons. *Neuron*. 2008;59: 648-661.
- Solomon RL, Corbit JD. An opponent-process theory of motivation. I. Temporal dynamics of affect. *Psychol Rev* 1974;81(2):119-45.
- Merlo Pich E, Lorang M, Yeganeh M, et al. Increase of extracellular corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity levels in the amygdala of awake rats during restraint stress & ethanol withdrawal as measured by microdialysis. *J Neurosci* 1995;15: 5439-5447.
- Tzschentke TM. The medial prefrontal cortex as a part of the brain reward system. *Brain Res* 2000;19: 211-219.
- Moghaddam B, Homayoun H. Divergent Plasticity of Prefrontal Cortex Networks. *Neuropsychopharmacology*. 2008;(33): 42-55.
- Yücel M, Lubman DI. Neurocognitive and neuroimaging evidence of behavioural dysregulation in human drug addiction: implications for diagnosis, treatment and prevention. *Drug Alcohol Rev* 2007;26(1): 33-9.
- Kalivas PW, Volkow ND. The Neural Basis of Addiction: A Pathology of Motivation and Choice. *Am J Psychiatry*. 2005;162: 1403-1413.
- Lasseter HC, Xie X, Ramirez DR, Fuchs RA. Prefrontal Cortical Regulation of Drug Seeking in Animal Models of Drug Relapse. *Curr Top Behav Neurosci* 2010;3: 101-117.
- Porrino LJ, Lyons D, Smith HR, Daunais JB, Nader M a. Cocaine self-administration produces a progressive involvement of limbic, association, and sensorimotor striatal domains. *J Neurosci* 2004;24(14):3554-3562.
- Ito R, Dalley JW, Robbins TW, Everitt BJ. Dopamine release in the dorsal striatum during cocaine-seeking behavior under the control of a drug-associated cue. *J Neurosci* 2002;22: 6247-6253.
- Stelt M Van der, Marzo V Di. The endocannabinoid system in the basal ganglia and in the mesolimbic reward system. *Eur J Pharmacol* 2003;480(1-3): 133-150.
- Aron AR, Poldrack RA. Cortical and Subcortical Contributions to Stop Signal Response Inhibition: Role of the Subthalamic Nucleus. *J*

- Neurosci* 2006;26(9): 2424 -2433.
42. Baunez C, Dias C, Cadore M, Amalric M. The subthalamic nucleus exerts opposite control on cocaine and "natural" rewards. *Nat Neurosci* 2005;8(4): 484-489.
 43. Rouaud T, Lardeux S, Panayotis N, Paleressompoulle D y cols. Reducing the desire for cocaine with subthalamic nucleus deep brain stimulation. *Proc Nat Acad Sci U S A*. 2010;107(3): 1196-200.
 44. Goldman D, Oroszi G, Ducci F. The genetics of addictions: Uncovering the genes. *Nat Rev Gen*. 2005;6(7): 521-532.
 45. Li MD, Burmeister M. New insights into the genetics of addiction. *Nat Rev Gen* 2009;10: 225-231.
 46. Rossini A, Mattos R, Felipe L, Pinto R. CYP2A6 polymorphisms and risk for tobacco-related cancers. *Pharmacogenomics*. 2008;9(11):1737-1752.
 47. Thomasson HR, Edenberg HJ, Crabb DW, Mai XL y cols. Alcohol and Aldehyde Dehydrogenase Genotypes and Alcoholism in Chinese Men. *Am J Hum Gen* 1991:677-681.
 48. Gelernter J, Kranzler HR. Genetics of alcohol dependence. *Hum Gen* 2009;126: 91-99.
 49. Ruiz-Contreras A.E, Delgado-Herrera M, García-Vaca P.A, Almeida-Rosas G.A, Soria-Rodríguez G, Soriano-Bautista A.A, Cadena-Valencia J.D, Bazán-Frías, J.R., Gómez-López N, Espejel-Núñez A, Vadillo-Ortega F, Carrillo-Sánchez K, Verdín-Reyes J.C, March-Mifsut S, Méndez-Díaz M & Prospéro-García O. Potential involvement of the AATn polymorphism of the CNR1 in the efficiency of procedural memory in humans. *Neurosci. Lett*. 494: 202-206, 2011.
 50. Swan GE, Lessov-Schlaggar CN, Bierut LJ, et al. Status of Genetic Studies of Nicotine Dependence. In: *Phenotypes and endophenotypes: Foundations for genetic studies of nicotine use and dependence. Tobacco Control Monograph No. 20*. Bethesda, MD: US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute. NIH Publication No. 09-6366; 2008: 19-70.
 51. Kessler R, Chiu WT, Demler O, Walters EE. Prevalence, Severity, and Comorbidity of 12-Month DSM-IV Disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*. 2005;62: 617-627.
 52. Khantzian E. The ego, the self, and opiate addiction: Theoretical and treatment considerations. In: *Psychodynamics of drug dependence. Research Monograph series 12.*; 1977: 101-117.
 53. Levenston JM, Sweatt JD. Epigenetic mechanisms in memory formation. *Nat Rev Neurosci* 2005;6: 108-118.
 54. Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, et al. Maternal care , hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 1997;277: 1659-1662.
 55. McGowan PO, Sasaki A, D'Alessio AC, et al. Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat Neurosci* 2009;12(3): 342-348.
 56. Huot RL, Thirivikraman KV, Meaney MJ, Plotsky PM. Development of adult ethanol preference and anxiety as a consequence of neonatal maternal separation in Long Evans rats and reversal with antidepressant treatment. *Psychopharmacology* 2001;158: 366-373.
 57. Malvaez M, Barrett RM, Wood MA, Sanchis-Segura C. Epigenetic mechanisms underlying extinction of memory and drug-seeking behavior. *Mamm Genome*. 2009;20: 612-623.



COMUNICACIÓN CIENTÍFICA

Instrucciones para los autores

La Revista Médica de la Universidad Veracruzana es el órgano oficial del Instituto de Ciencias de la Salud, Hospital Escuela y Facultad de Medicina-Xalapa. Es un foro abierto a científicos, médicos, investigadores, docentes, estudiantes y otros profesionales de la salud que deseen expresar y compartir experiencias en temas desarrollados por esta comunidad de científicos. Se edita semestralmente, e incluye: editoriales, artículos originales, especiales, de revisión bibliográfica, comunicaciones breves, comentarios, cartas al editor, reportes de casos clínicos, reporte de artículos publicados, una sección de historia de la medicina, arte y medicina y un vocabulario inglés-español de términos médicos. Debido a lo multidisciplinario de estos temas, se cubre una amplia gama de actividades médicas, procedimientos de laboratorio y actividades desarrolladas en las facultades y hospitales. Los editoriales sólo se considerarán por invitación.

La aceptación de publicar un trabajo es decisión exclusiva del comité editorial. Los manuscritos deben acompañarse de una carta cediendo los derechos editoriales a la revista, asegurando que no han sido publicados en otras revistas; ninguna publicación parcial o total del material enviado puede ser publicada o empleada en otro sitio sin autorización expresa de la revista. Los artículos en inglés deben ser previamente revisados por un corrector de estilo que tenga experiencia en el campo médico y/o biológico; en caso necesario en la oficina de la Revista se pueden obtener nombre y dirección de algunos expertos.

Toda correspondencia o escrito debe dirigirse a:

Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Instituto de Ciencias de la Salud.

Av. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n.

Col. Industrial las Ánimas.

C. P. 91190, Xalapa, Veracruz, México.

Tel. (228)8418925, fax (228)8418926.

Correos electrónicos: revista_medica@uv.mx

rev_meduv@hotmail.com

Todos los manuscritos deberán enviarse en original y dos copias, acompañados de un disquete o CD que contenga la versión original en Microsoft Word, con letra Times New Roman 11, a doble espacio, en papel blanco tamaño carta por una sola cara, y las figuras en archivos JPG.

Cada sección o componente del manuscrito debe iniciar en una nueva página siguiendo la siguiente secuencia: (1) página del título, (2) resumen y palabras clave, (3) texto, (4) agradecimientos, (5) referencias, (6) cuadros (cada uno en una página con su título y pies por separado en otra hoja) y (7) pies de figuras. Todas las páginas deben ir numeradas, incluyendo la página del título, cuadros, figuras y referencias. Deben incluirse los permisos para reproducir material publicado previamente o para ilustraciones que puedan identificarse a alguna persona.

Página del título

El título deberá escribirse en español e inglés. En esta sección deben incluirse los nombres completos de los autores, grados académicos sin abreviaturas, la institución a la que pertenecen y fuentes de apoyo recibido. En la parte inferior debe señalarse nombre, dirección, apartado postal y teléfono, así como correo electrónico del autor responsable, a quien se le enviará cualquier notificación, pruebas de galeras y solicitud de sobretiros.

Resumen y palabras clave

Artículos originales: el resumen y el *abstract* deben ser menores de 250 palabras y deberán estructurarse con los subtítulos: introducción, objetivos, material y métodos, resultados y conclusiones. Al final debe incluirse una lista de tres a cinco palabras consideradas como clave para la publicación.

Artículo de revisión: el resumen y el *abstract* deben ser menores de 250 palabras. Al final debe incluirse una lista de tres a cinco palabras consideradas como clave para la publicación.

Texto

Cada parte debe iniciar en una página por separado manteniendo el siguiente orden: introducción, materiales y métodos, ética, resultados, discusión y, cuando sea necesario, conclusiones y recomendaciones. Aconsejamos evitar la jerga exagerada de la especialidad, así como el abuso de las iniciales. Las instrucciones se presentan de acuerdo con el International Committee of Medical Journal Editors que se publicó en el *Ann Intern Med* 1982; 96: 766-71 y en el *Br Med J*. 1982; 284: 1877-90. Los nombres de equipo y fármacos deben hacer referencia a la compañía con su nombre completo. En caso de medicamentos, los nombres genéricos deben ir seguidos del nombre comercial entre paréntesis.

Bibliografía

Las referencias bibliográficas deben numerarse en el orden que fueron citadas en el texto y usar para su identificación números arábigos como superíndices. La lista de referencias también debe ir a doble espacio. Cuando haya más de 4 autores, se escribirá sólo el nombre del primero seguido por: y cols. Deberán apegarse a las normas del Index Medicus <http://www.encolombia.com/medicina/infectologia/infectologia4100sup-requisitos3.htm>, como es el caso de las abreviaturas de revistas. Las comunicaciones personales y los resultados no publicados deben incorporarse al texto y no como referencias.

Cuadros

Deben contener los resultados más importantes. Sus títulos y pies deben ir en página aparte.

Figuras

Las figuras e ilustraciones deben ir en papel ilustración, papel albanene o equivalente. Las fotografías deben ser impresas en alto contraste, en blanco y negro y ser de tamaño postal (127 x 173 mm). Todas las figuras y fotos deben ir debidamente identificadas en su parte posterior con una etiqueta adherible, no escribir directamente sobre las figuras o fotografías. Toda figura debe ir acompañada de su texto o pie en hoja aparte.

Los artículos aceptados serán sometidos a una revisión editorial que puede incluir, en caso necesario, la condensación del texto, la corrección del estilo y la supresión o adición de cuadros, ilustraciones y anexos, sin modificarse el sentido del artículo.

La aceptación de los artículos será comunicada por escrito a los autores en un periodo no mayor a un mes desde la fecha de recepción. Para ello, deberán indicar claramente la dirección, teléfono, fax, correo electrónico y domicilio donde laboren los autores principales.