



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

TRABAJO DE GRADO

**SEÑALIZACIÓN CELULAR
EN EL DESARROLLO DEL SISTEMA
NERVIOSO Y LA SINAPTOGÉNESIS:
UNA MIRADA FISIOLÓGICA.**

Clara Sofía Quintero La Rota

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Departamento de Ciencias Fisiológicas
Bogotá D.C, Colombia
2019

TRABAJO DE GRADO

SEÑALIZACIÓN CELULAR EN EL DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO Y LA SINAPTOGÉNESIS: UNA MIRADA FISIOLÓGICA.

Clara Sofía Quintero La Rota

Revisión narrativa de tema presentado como requisito para optar al título de:
**Magister en Fisiología
Profundización.**

Director:
Doctor, Jairo Alberto Zuluaga Gómez

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Departamento de Ciencias Fisiológicas
Bogotá D.C, Colombia
2018

Resumen

El tema motivo de este trabajo (desarrollo del sistema nervioso y sus procesos culminantes, la sinaptogénesis y la neuroplasticidad) es muy amplio, y puede ser abordado con distintos criterios de clasificación. La revisión presentada en este trabajo, que no pretende en absoluto ser exhaustiva, se ha realizado con base en los grupos de moléculas señalizadoras. No obstante, cualesquiera que sean las categorías que sirvan de base para ordenar el tema, inevitablemente se llega al punto en que “todo depende de todo”, es decir, hay una interdependencia e interrelación general que conecta todas las moléculas y vías, En los siguientes capítulos se presenta una breve síntesis de las moléculas de señalización más importantes implicadas, hasta donde se sabe, en el neurodesarrollo, y un análisis de sus patrones de convergencia y divergencia, para finalizar con algunas conclusiones desde la óptica fisiológica integrativa. La interpretación desde una óptica fisiológica busca hallar sentido a todas esas redes de interdependencia de procesos en el neurodesarrollo, con el fin de lograr una visión que trascienda lo químico y contribuya a la comprensión de las propiedades complejas del sistema nervioso.

Palabras clave: Sinaptogénesis, neurodesarrollo, señalización celular, fisiología, neuroplasticidad.

Abstract

The theme of this work (development of the nervous system and its culminating processes, synaptogenesis and neuroplasticity) is very broad, and can be approached with different classification criteria. The review presented in this work, which is not intended to be exhaustive at all, has been carried out based on the groups of signaling molecules. However, whatever the categories that serve as a basis for ordering the subject, inevitably the point is reached that “everything depends on everything”, that is, there is a general interdependence and interrelation that connects all the molecules and pathways, The following chapters present a brief synthesis of the most important signaling molecules involved, as far as is known, in neurodevelopment, and an analysis of their convergence and divergence patterns, to conclude with some conclusions from the integrative physiological perspective. Interpretation from a physiological perspective seeks to make sense of all these networks of interdependence of processes in neurodevelopment, in order to achieve a vision that transcends the chemical and contributes to the understanding of the complex properties of the nervous system.

Keywords: Synaptogenesis, neural development, cell signaling, physiology, neuroplasticity.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
Resumen	IX
Lista de figuras	XII
Justificación	7
Objetivos	9
Introducción y contextualización	10
1. Morfógenos: moléculas generadoras de patrones de desarrollo	13
1.1 Factores de crecimiento fibroblástico	
1.2 Proteínas Óseas Morfogenéticas y Erizo sónico.	
1.3 Wnt	
2. Neurotrofinas	
2.1 Factor de crecimiento nervioso	
2.2 Factor de crecimiento derivado del cerebro	
2.3 Factor neurotrófico ciliar	
3. Neurotransmisores	
3.1 serotonina	
3.2 endocannabinoides	
4. Moléculas asociadas a la matriz extracelular	
4.1 Cadherinas	
4.2 Proteoglicanos	
4.3 agrina	
4.4 semaforinas	

5. Otras moléculas de señalización

- 5.1 Netrina -1
- 5.2 Efrinas
- 5.3. Citokinas
- 5.4 Factor de crecimiento semejante a insulina

6. El citoesqueleto como efector

7. Papel de la neuroglia

8. Micro-RNAs: la epigenética

9. Modelos de neuroplasticidad

- 9.1 Plasticidad computacional
- 9.2 Sistemas disipativos y autoorganizados

10. Conclusiones

- 10.1 Plurifuncionalidad evolutiva de las moléculas de señalización
- 10.2 Señalización multidireccional
- 10.3 Señalización sináptica bidireccional.
- 10.4 El citoesqueleto, efector clave del neurodesarrollo.
- 10.5 Propiedades emergentes del SNC: autopoiesis y autoorganización.

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1: Etapas del desarrollo de sistema nervioso.	11
Figura 2: Vías de señalización celular de los factores de crecimiento fibroblástico.	16
Figura 3: Vías de señalización de las neurotrofinas (1)	22
Figura 4: Vías de señalización de las neurotrofinas (2)	23
Figura 5: Organización de la unión neuromuscular en <i>Drosophila</i> .	51
Figura 6: Neurogénesis y gliogénesis.	52
Figura 7: Regulación por miRNAs de las vías de señalización celular que controlan la sinaptogénesis.	55
Figura 8: Resumen de la acción de moléculas señalizadoras en distintas etapas del neurodesarrollo,	65

Justificación

El abrumador desarrollo que han tenido en años recientes la biología molecular, la epigenética y las “ómicas” (genómica, proteómica, transcryptómica, epigenómica, etc), han permitido conocer con mucho más detalle los procesos celulares y moleculares que subyacen a la vida en general, y al desarrollo del sistema nervioso en particular. No obstante, la gran cantidad de información sobre vías moleculares y cascadas de señalización puede llevar a una visión escindida y compartimentalizada de los fenómenos biológicos. La clasificación de las moléculas y sus interacciones en términos químicos tiende a conceptualizar los procesos celulares como fenómenos separados, o bien articulados mediante modelos mecanicistas.

La fisiología busca, por el contrario, una **perspectiva integradora y holística** de los procesos biológicos, que parte de la visión de la vida como un fenómeno que trasciende la suma de reacciones químicas al interior del citoplasma. En los sistemas vivos es perfectamente aplicable el concepto de que **el todo es más que la suma de sus partes**: la célula es más que un conjunto de moléculas intrincadamente organizadas, los órganos y sistemas son más que meros conjuntos de células, y cada ser vivo tiene propiedades de homeostasis y alostasis que van más allá de las de sus órganos y células componentes, en una espiral de complejidad creciente. Por lo tanto, los sistemas vivos han de ser abordados para su estudio desde la fisiología como **sistemas complejos con propiedades emergentes**, y desde un punto de vista termodinámico, como **sistemas disipativos**: estructuras coherentes, estables, autoorganizadas, en los cuales la disipación de la energía no lleva a desorden del sistema (aumento de la entropía) sino a un orden alejado del equilibrio, mediante procesos de autorregulación.

El tema motivo de este trabajo (desarrollo del sistema nervioso y sus procesos culminantes, la sinaptogénesis y la neuroplasticidad) es muy amplio, y puede ser abordado con **distintos criterios de clasificación**, con miras a organizar la exposición del tema: se puede tomar como base para ordenar los conceptos las moléculas o grupos de moléculas, y enunciar la actividad conocida de cada una en distintos momentos del desarrollo y localizaciones del sistema nervioso; se puede partir de las etapas o momentos del neurodesarrollo, y analizar las moléculas y vías que toman parte en los procesos de esa etapa; se pueden revisar partes específicas del sistema nervioso, tales como la unión neuromuscular, la corteza frontal, el hipocampo o el cerebelo, para describir los procesos que tienen lugar en ellas durante el desarrollo y las vías de señalización involucradas.

La revisión presentada en este trabajo, que no pretende en absoluto ser exhaustiva, se ha realizado con base en el primer criterio mencionado, es decir, por grupos de moléculas señalizadoras. No obstante, cualesquiera que sean las categorías que sirvan de base para ordenar el tema, inevitablemente se llega al punto en que “todo depende de todo”, es decir, hay una interdependencia e interrelación general que conecta todas las moléculas y vías,

todos los tipos de células neurales, todos los mecanismos de regulación entre sí, en un proceso cuyas etapas no pueden separarse de manera rígida, sino que fluyen.

La interpretación desde una óptica fisiológica busca hallar sentido a todas esas redes de interdependencia de procesos en el neurodesarrollo, con el fin de lograr una visión que trascienda lo químico y contribuya a la comprensión de las propiedades complejas del sistema nervioso.

Objetivos

Objetivo general

Interpretar desde una perspectiva fisiológica los procesos de señalización celular que participan en el desarrollo embrionario y fetal del sistema nervioso, en particular en la sinaptogénesis, con el fin de explorar y proponer modelos de integración de lo molecular en la fisiología.

Objetivos específicos

- Hacer una revisión narrativa de las vías de señalización celular conocidas implicadas en la formación del sistema nervioso en el período embrionario, con énfasis en las que participan en la génesis, selección y consolidación de las sinapsis.
- Identificar patrones de convergencia y/o divergencia en estas cascadas de señalización.
- Interpretar las distintas vías de señalización implicadas en la neurogénesis y sus interacciones desde un punto de vista fisiológico y construir una síntesis desde la óptica de la fisiología.
- Con base en la interpretación fisiológica realizada, formular preguntas que orienten la integración de lo molecular dentro de la visión y el pensamiento fisiológico.

Introducción y contextualización

El desarrollo del sistema nervioso comprende unas etapas intrincadamente reguladas y no necesariamente secuenciales que se inician con la **neurulación** (formación del tubo neural, que en el ser humano ocurre a las 3 a 4 semanas de gestación), seguida por **proliferación** celular masiva con expansión en tamaño, **migración**, **diferenciación** (neurogénesis y gliogénesis), **construcción de la arquitectura** (incluye formación de circunvoluciones en primates y otras especies), **sinaptogénesis**, **mielinización**, poda y **reorganización** sináptica. El cerebro humano es uno de los órganos más complejos que existen; esto implica que para su formación la generación y especialización de un gran número de células deben ocurrir en el momento apropiado, en el lugar apropiado y en la cantidad apropiada, así como generarse una cantidad ingente de conexiones, también del modo apropiado (12). Las cifras son asombrosas: Se estima que en la corteza cerebral del adulto existen aproximadamente 16,34 billones de neuronas, el 80% de las cuales son neuronas de proyección glutamatérgicas excitatorias (13,07 billones). Para generar ese número de neuronas, deben producirse unos 3,86 millones de neuronas por hora durante la neurogénesis prenatal, a partir del día 32 posconcepcional hasta la semana 27. Las neuronas están conectadas en complejas redes por aproximadamente 164 trillones de sinapsis (1). Esto teniendo en cuenta que no todas las protoneuronas generadas durante la fase de proliferación sobreviven, ya que la muerte celular hace parte importante de los procesos de cavitación, plegamiento y fusión en el SNC, y también hay selección y muerte neuronal en el proceso de conexión de las neuronas con sus tejidos blanco (4).



Figura 1. Diseño original de la autora.

En el ser humano, la neurogénesis y la arquitectura general del encéfalo tiene lugar en la etapa prenatal, mientras que la maduración glial, mielinización y sinaptogénesis se dan predominantemente después del nacimiento. Se estima que la maduración completa del cerebro humano toma hasta los 20 a 25 años de edad, por lo cual la experiencia tiene mucho mayor peso en esta maduración que el que tiene en otras especies. Además, la sinaptogénesis continúa a lo largo de toda la vida, generando cambios en la conectividad que en gran medida dependen de la influencia ambiental (12) Es, por lo tanto, un proceso dinámico que implica no sólo formación sino modificación y eventual desaparición (selección o poda) de muchas sinapsis, y que está modelado por factores genéticos, epigenéticos y ambientales. La sinaptogénesis y la remodelación de las redes neurales es el fundamento celular que subyace a la conectividad y la plasticidad neuronal que da lugar a procesos tales como la memoria, el aprendizaje y la rehabilitación de lesiones neurológicas.

*“La propiedad más fascinante e importante del cerebro de los mamíferos es su capacidad de adaptación en respuesta a los estímulos conductuales a través de la plasticidad sináptica. Este proceso implica modificaciones de los circuitos neuronales, que pueden ocurrir: cambiando la fuerza o la eficacia de la transmisión sináptica en las sinapsis preexistentes, modulando la excitabilidad neuronal, o remodelando las conexiones sinápticas o podando las existentes. La **remodelación sináptica puede ocurrir a través de una reorganización de la morfología neuronal tanto en los sitios pre-sinápticos como en los post-sinápticos.** Las últimas modificaciones estructurales están respaldadas principalmente por los **cambios plásticos de las espinas dendríticas**”. (7)*

Las investigaciones desarrolladas en el campo de la señalización celular neural han sido realizadas en una variedad de metodologías, incluyendo especies desde *Caenorhabditis elegans* hasta mamíferos. Con la codificación parcial o total del genoma de muchas especies, se ha podido comprender mejor la homología entre genes y sus productos, que permite, aunque sólo hasta cierto punto, extrapolar los resultados obtenidos en una especie a otras, en particular a la especie humana, ya que entre más lejana evolutivamente una especie hay mayor divergencia tanto en los genes como en los mecanismos de regulación. Entre las moléculas reguladoras implicadas en las distintas fases del neurodesarrollo y la formación de sinapsis se han documentado, entre otras, neurotransmisores, neuromoduladores, hormonas y neurohormonas, factores de crecimiento y morfógenos, moléculas asociadas al intersticio, proteínas adheridas a la membrana celular, factores de crecimiento, factores neurotróficos, neurregulinas, efrinas y citoquinas, los cuales actúan en un continuum de distancia y de acción (**los conceptos describen, pero no separan**).

A su vez, estos señalizadores realizan su acción sobre las células nerviosas mediante interacciones con receptores de distintas clases. Entre los más importantes se encuentran los **receptores tirosin-quinasa**, los cuales tienen una hélice alfa transmembrana y un dominio citosólico con actividad enzimática intrínseca o asociada que los conecta a vías de señalización intracelular. A través de receptores tirosinquinasa ejercen sus efectos

ligandos tales como insulina, factor de crecimiento epidérmico (**EGF**), factores de crecimiento fibroblásticos (**FGFs**) y neurotrofinas.

La interacción ligando – receptor desencadena vías de señalización celular en cascada tales como la proteína G monomérica Ras asociada a la MAPK (ras-map quinasa), vía de los fosfoinosítidos o del inositol trifosfato (PI3), vía del diacilglicerol (DAG), vía de serina-quinasas y SMAD, vías controladas por ubiquitinación y vías de señalización controladas por escisión proteica, entre otras. Tanto las moléculas de señalización como las vías intracelulares están presentes en varios momentos y localizaciones, y en distintos linajes celulares en el proceso de desarrollo neural y además interactúan entre ellos de maneras complejas y no totalmente dilucidadas.

En los siguientes capítulos se presenta una breve síntesis de las moléculas de señalización más importantes implicadas, hasta donde se sabe, en el neurodesarrollo, y un análisis de sus patrones de convergencia y divergencia, para finalizar con algunas conclusiones desde la óptica fisiológica integrativa.

1. Morfógenos: moléculas generadoras de patrones de desarrollo

En el desarrollo embrionario del sistema nervioso tienen marcada relevancia los **morfógenos** o “moléculas de patronaje” (patterning molecules), familias de genes relativamente conservados a lo largo de la evolución cuyos productos proteicos regulan **la diferenciación celular y la arquitectura tisular mediante un control transcripcional de la expresión génica** muy preciso tanto en el espacio como en el tiempo. Entre ellas se encuentran las **proteínas óseas morfogenéticas (BMPs)**, las **Wnts**, el **erizo sónico (Shh)** y los **factores de crecimiento fibroblástico (FGFs)**. Adicionalmente, todas ellas participan en los procesos de construcción de los circuitos neurales actuando como **señaladoras en el crecimiento axonal dirigido y la sinaptogénesis** (5).

Las cascadas de señalización intracelular acopladas a estas moléculas señaladoras **varían considerablemente** según el momento del desarrollo y el proceso sobre el cual actúan. Mientras la diferenciación celular es mediada principalmente por cambios a nivel de la transcripción génica, las respuestas a nivel del cono de crecimiento y las sinapsis son mucho más rápidas, involucrando principalmente cambios focales en el citoesqueleto. La activación de unas u otras cascadas de señalización es, pues, cuestión en gran parte dependiente del “contexto celular”.

Los morfógenos realizan múltiples tareas importantes en el desarrollo del sistema nervioso, reciclando, por así decir, las fuentes de señalización de las primeras etapas para pasos posteriores, en una amplia diversificación de los sistemas de señalización celular. Es interesante que algunas de sus acciones afectan la célula de manera profunda y permanente debido a cambios transcripcionales (identidad celular) y otras actúan a nivel subcelular, en sitios definidos, sin alterar la identidad neuronal. Sus acciones no sólo se limitan al período del desarrollo prenatal, sino a la actividad de los circuitos neuronales maduros (5).

*Se identifica un modelo de **divergencia funcional temporal**, es decir, las mismas señales cumplen diferentes roles en diferentes momentos del desarrollo. Además, hay divergencia debido a las distintas cascadas intracelulares acopladas a la señalización de los morfógenos en cada proceso y en cada tipo celular. También se identifica convergencia en el hecho de que distintos sistemas de señalización participan muchas veces de un mismo proceso siendo complementarias entre sí.*

1.1 Factores de crecimiento fibroblástico

Uno de los sistemas de señalización más importantes y multifuncionales en el desarrollo del sistema nervioso es el de los **FGFs** (Factores de Crecimiento Fibroblástico). Se trata de una familia de moléculas que existe desde los invertebrados (2 genes en *C. elegans*, 3 en *Drosophila*) y comprende **22 genes** en el ser humano y en el ratón (**FGF1 a 23**), divididos en **siete subfamilias** de acuerdo con su homología y su afinidad por los distintos tipos de receptores. Una subfamilia de FGF denominada “**similares a hormonas**” tienen baja afinidad de unión por las moléculas de la matriz extracelular y se difunden y actúan a larga distancia, en la regulación del metabolismo; en otra subfamilia sus componentes no llegan a ser secretados, y actúan **a nivel intracelular** (núcleo o canales iónicos), sin activar receptores de superficie. Las otras **cinco subfamilias se comportan de un modo “típico”**, es decir, son secretadas al espacio extracelular, donde se unen a proteoglicanos de heparán-sulfato y actúan de forma autocrina o paracrina con sus receptores, situados en las membranas celulares, y son ellas las que se sabe que están **implicadas en el desarrollo neural**. (10).

Los **FGFs** son proteínas con peso molecular aproximado de 16 kilodalton, que existen en una forma ácida (**aFGF**) y otra básica (**bFGF**). Se encuentran en cerebro tanto embrionario como adulto, en cantidades relativamente grandes, unas 100 veces más abundante que el factor de crecimiento neural (**NGF**) o el factor de crecimiento derivado del cerebro (**BDGF**). No tienen un mecanismo convencional de liberación. Simplemente pasan a la matriz extracelular, y son indispensables para la supervivencia de una variedad de células neurales embrionarias en cultivo. Además, estimulan el crecimiento de neuritas, reducen el daño celular y mejoran la regeneración en sistema nervioso central y periférico en mamíferos. También actúan sobre una amplia variedad de células (condroblastos, osteoblastos, etc.) y sobre angiogénesis tumoral (4).

Los **receptores de FGF (FGFR)** son una subfamilia de los **receptores tirosinkinasa**, que comprende una molécula en *C. elegans*, dos en *Drosophila*, y **cuatro en los vertebrados (FGFR1 a 4)**, con un dominio extracelular que se une a su ligando (los FGF), a los proteoglicanos de heparan-sulfato y a las moléculas de adhesión celular. Los FGFR existen en **varias isoformas**, entre las cuales la b y la c son generadas por splicing alternativo de sus genes y tienen diferentes especificidades de unión. La unión de los FGFs a sus FGFRs requiere la **interacción de ambos con los proteoglicanos de heparan-sulfato**, y genera **dimerización** del receptor, **autofosforilación** del dominio tirosinkinasa y reclutamiento de distintas cascadas intracelulares. Se han demostrado **cuatro vías principales** de transducción intracelular, entre otras, de las señales mediadas por la unión de los FGFs a sus FGFRs:

- La más importante es la vía de la **MAP kinasa y Erk**, que conduce a la expresión y activación de factores de transcripción (efectores) y además a la **inducción de múltiples circuitos de retroalimentación inhibitoria** que actúan como

reguladores de esta vía, la cual es de particular importancia en los efectos de los FGFs en la proliferación celular.

- La vía **PLC γ /Ca $^{++}$** está implicada en la estimulación del surgimiento de neuritas.
- La vía **PI3 kinasa/ Akt** media algunas acciones de los FGFs en tejidos no neurales.
- La cuarta vía, que involucra las proteínas de acoplamiento **FRS2a y b y las GTPasas Rnd1 y RhoA**, participa en el reordenamiento del citoesqueleto (10).



Figura 2: Diseño original de la autora

Como se puede inferir del gráfico anterior, la señalización por FGFs muestra un alto grado de diversificación por **divergencia**, dado por varios factores: En primer lugar, la alta **diversidad de genes** de los FGFs, que han ido aumentando en número en el proceso evolutivo, a medida que aumenta la complejidad de los organismos; en segundo lugar, la **diversidad de receptores**, que muestra tendencia similar. Además, la interacción entre ligandos y receptores no es altamente específica, lo que da lugar a **muchas posibles combinaciones ligando-receptor**, que varían en función de cuáles sean los receptores expresados en la célula blanco. Esta diversidad se ve incrementada por el papel de los + **proteoglicanos de heparán-sulfato** en la interacción, ya que existen muchas moléculas de este tipo en la matriz extracelular, y puede variar su concentración relativa, su afinidad por el ligando y su afinidad por el receptor, modulando la formación y actividad de los complejos FGF – FGFR. Los PGHS también modifican la vida media de los FGFs y limitan su difusión, regulando su acción en el tiempo y en el espacio.

Una vez que los receptores transducen la señal al interior de la célula, existe un punto de convergencia relativa, ya que existen muchos tipos de receptores tirosinkinasa, y varios de ellos pueden activar vías semejantes. Pero, específicamente para los FGFR, hay varias vías de señalización intracelular, que pueden ser activadas de manera diferencial en distintos tipos de células, o en una misma célula dependiendo del grado de expresión de sus enzimas. A su vez, la principal de estas vías actúa sobre una amplia gama de genes, ya que regula factores de transcripción. Por todas estas razones, el conjunto ya de por sí amplio de los FGFs logra la generación de una mucho mayor variedad de respuestas biológicas, y no es de extrañar que los FGFs cumplan un espectro tan amplio de funciones en el desarrollo del SN.

1.1.1 Los FGF actúan en la organización presináptica.

La señalización por FGFs participa en la determinación de la identidad rostrocaudal en las motoneuronas espinales, gracias a señalización por gradientes que regula la expresión de genes Hox (5). Algunos miembros de la familia de proteínas FGF actúan **a nivel del cono de crecimiento axonal** para **determinar la trayectoria** de neuronas motoras en el nervio troclear. Además, en experimentos que registraron los efectos de extractos de prosencéfalo de ratón en motoneuronas embrionarias de pollo se determinó **FGF22, FGF7** y **FGF10** también juegan un papel importante en la **organización presináptica** durante la sinaptogénesis, induciendo **ramificación de las neuritas** y **agregación de vesículas**. En fibras musgosas de cerebelo in vivo se halló también un papel de los FGF en la diferenciación neuronal presináptica. Al parecer, distintos miembros de la familia FGF pueden tener diversas acciones. (5).

La regulación del desarrollo neural por los FGFs se da en casi todos los pasos del proceso de desarrollo del SN: inducción, proliferación, migración, diferenciación, sinaptogénesis y formación de circuitos. En la **inducción del ectodermo dorsal** su participación es clave, junto con la inhibición de la BMP (proteína ósea morfogenética), la cual induce diferenciación no neural. Los FGFs actúan en parte por antagonismo sobre la BMP, pero también a través de otras vías, en las cuales interactúan con otros ligandos como Wnt y retinoides. La determinación del patrón de la placa neural así mismo se ve influida por los FGFs, en función de su gradiente de concentración y tiempo de exposición, que modifican la expresión de distintos genes Hox y Cdx, para determinar poblaciones de neuronas motoras. Los FGFs participan también en la generación del patrón del sistema nervioso periférico, que se origina de la cresta neural y de las placodas ectodérmicas. En este caso, variación en los niveles de FGFs y de Wnt determinan el destino de las células. FGF3 y FGF8 inducen la placoda ótica, mientras FGF8 induce la placoda olfatoria. En la **regionalización del primordio neural**, para desarrollar los segmentos ventral y dorsal de las vesículas encefálicas primarias y secundarias, nuevamente se encuentran los FGFs como factores determinantes; distintos tipos de FGFs señalizan el desarrollo de distintas secciones, como el mesencéfalo, el cerebelo y el cerebro posterior. Además, en interacción

con la BMP y los genes Shh (Sonic Hedgehog), especifican el neurotransmisor fundamental en poblaciones de neuronas: noradrenalina, serotonina o dopamina. La participación de distintos FGFs es secuencial, para determinar distintos pasos en el desarrollo. Los FGFs también participan en la adquisición de identidad molecular de las áreas corticales que sucede alrededor del nacimiento, mediante la regulación de la expresión de factores de transcripción. (10).

FGF17 y FGF18 poseen actividad divergente, probablemente como consecuencia de sus distintos patrones de expresión espacio – temporales y sus diferentes afinidades por sus receptores. FGF8 actúa como un **morfógeno clásico** en el telencéfalo, con un gradiente de difusión en el eje anteroposterior que imparte distintas identidades posicionales en función de su concentración, como resultado de patrones graduados de expresión génica. También, en interacción con los receptores FGFR1, es fundamental para determinar las neuronas hipotalámicas productoras de GnRH (10).

El siguiente paso una vez que las células progenitoras neurales se han generado es su **supervivencia y expansión**, y aquí los FGFs de nuevo tienen un papel. Distintos FGFs estimulan la proliferación de linajes neurogénicos (10).

Los FGFs también tienen un papel destacado en la **migración** de muchos tipos de células, incluyendo la de las neuronas jóvenes, uno de los pasos esenciales en la morfogénesis del sistema nervioso. El FGF18 es secretado por neuronas corticales y retroalimenta a los progenitores neurales para la expresión de varios factores de transcripción, lo que sugiere un asa de retroalimentación de las células que ya han alcanzado su posición respecto a las que no lo han hecho, que conduce a la formación laminar. La señalización mediante los receptores FGFR1 y 2 es necesaria para la migración de células astrogiales y el direccionamiento de los axones que cruzan la línea media. En su ausencia se produce agenesia del cuerpo calloso (síndrome de Kallman). También participan en la especificación, migración y diferenciación de células precursoras en la corteza cerebral y cerebelosa (10).

Un paso fundamental para la construcción de circuitos es el **crecimiento direccional** de los axones hacia sus blancos. En este proceso, los FGFs actúan como **señales originadas en las células blanco** (ya sean éstas nerviosas o de otro tipo) que controlan el crecimiento, navegación, ramificación y reconocimiento de su objetivo final en los axones. FGF8 actúa como un quimioatrayente para los axones del nervio troclear (en pollos), mientras que repele indirectamente los de neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo, mediante inducción de la expresión del quimiorrepelente Sema3F; las conexiones entre diferentes áreas corticales del telencéfalo se controlan de manera similar. Al parecer, la acción de otros tipos de moléculas (como las moléculas de adhesión CAMs) sobre el crecimiento axonal es mediada por los FGFs. Éstas y muchas otras interacciones del sistema FGFs – FGFRs con otras vías de señalización contribuyen en gran manera a la diversidad y complejidad de sus funciones (10).

Finalmente, en el ensamblaje coordinado de las estructuras pre y postsinápticas que se requiere para la **sinaptogénesis**, tienen importancia los FGF22, 7 y 10, que se expresan en el período en que las neuronas reciben sinapsis e inducen la agregación de vesículas sinápticas en las terminales axónicas. FGF22 se requiere específicamente para la diferenciación presináptica glutamatérgica, y FGF7 cumple el mismo papel en la diferenciación GABAérgica, siendo esta especificidad no sólo relacionada con su distinta localización, sino con la activación de distintas cascadas en la célula presináptica, y con el reconocimiento de isoformas específicas de sus receptores. Asimismo, aunque la capacidad de regeneración del tejido neural después de una lesión es limitada, la que se produce depende fuertemente de FGF2, el cual tiene así un efecto neuroprotector (10).

1.2 Proteínas óseas morfogenéticas (BMPs) y Erizo Sónico (Shh)

En la médula espinal en desarrollo en los vertebrados, hay dos tipos de moléculas de señalización que controlan la diferenciación en el eje dorsoventral: la placa del piso libera **Shh (erizo sónico)**, el cual actúa como principal determinante de los tipos celulares que se generan en la **región ventral de la médula**, mientras la placa del techo libera **BMPs (proteínas óseas morfogenéticas)**, las cuales inducen la diferenciación de los tipos celulares en la **región dorsal** de la médula, así como de las células de la cresta neural y los linajes de células autonómicas. Los axones en crecimiento de las neuronas dorsales comisurales se extienden hacia la placa del piso y a través de ella, siguiendo mecanismos de señalización mediados principalmente por **netrinas** y **slits** (típicas moléculas de guianza de los axones), pero **también por BMPs y Shh**. Las **BMPs poseen actividad de repulsión** capaz de direccionar ventralmente los axones (por formación de heterodímeros entre BMP7 y GDF7 en ratones), aunque el receptor no se ha identificado. **BMP7 causa colapso del cono de crecimiento**. Los axones comisurales además son atraídos hacia la placa del piso, principalmente por netrina-1 y su receptor Dcc, pero también por la **acción quimioatrayente de Shh** mediada por la proteína Smo. Los experimentos permiten concluir que “al menos parte de la cascada de señalización responsable de la interacción con el citoesqueleto para mediar la acción quimioatrayente está conservada muy probablemente corriente debajo de Shh entre las actividades de patronaje y las de guianza axonal” (5). Las BMP y Shh no son las moléculas principales de guianza de los axones comisurales, pero **actúan como reguladores finos de sus trayectorias** hacia la placa del piso (5).

Se puede identificar un proceso de convergencia de varias señales sobre las mismas cascadas, además de la divergencia funcional antes descrita, tal y como sucede con los factores de crecimiento fibroblástico. De hecho, los distintos morfógenos ejercen sus acciones a través de vías intracelulares comunes, moduladas de manera específica por cada uno.

1.3 Wnt

Las moléculas **Wnt** cumplen un papel bien caracterizado de influenciar la proliferación celular, pero también están involucradas en la especificación de neuronas sensoriales en los ganglios de la raíz dorsal en etapas tempranas del desarrollo, así como en la guianza axonal, el crecimiento de neuritas y la sinaptogénesis, siendo versátiles no sólo en sus funciones, sino en los **mecanismos mediante los cuales las señales de Wnt son transducidas e integradas, los cuales varían entre especies.** (*Divergencia evolutiva*) En *Drosophila*, los axones comisurales de la cuerda nerviosa ventral embrionaria se dirigen hacia la línea media y la cruzan, o bien por la comisura anterior o por la posterior, proceso en el cual está involucrada la señalización por netrinas, pero no los homólogos de BMPs ni Shh. En cambio, **Drl** (receptor atípico tirosin-kinasa homólogo de Ryk en vertebrados) se expresa exclusivamente en los axones que cruzan por la comisura anterior. El ligando de Drl es **Wnt5**, expresado en neuronas adyacentes a la comisura posterior, que ejerce una acción quimiorrepelente al interactuar con Drl, por una vía independiente del receptor Fz. Por el contrario, en *C. elegans*, el ortólogo de Ryk LIN-18 funciona en forma paralela con la vía de señalización Fz/LIN-17 (que no depende de la actividad de kinasa) en la diferenciación celular. En vertebrados, los axones comisurales, después de cruzar la placa del piso, cambian abruptamente su capacidad de respuesta a netrina 1 y a Slit y se vuelven en dirección cefálica, para dirigirse a sus blancos en el cerebro. Este proceso es regulado por la **expresión de Wnt4 en un gradiente anteroposterior** en la placa del piso durante la ventana de tiempo en el cual los axones realizan el cambio de dirección, lo cual sucede después de cruzar la línea media. Este gradiente de Wnt4 parece ser leído por **receptores Fz3** y convertido en señalización de atracción para dirigir eficazmente los axones hacia el cerebro. En mamíferos, Ryk no es expresado por las neuronas dorsales comisurales, por lo cual no está involucrado en la transmisión de las señales de Wnt en el proceso del cruce comisural. Las Wnt en mamíferos pueden transmitir señales por la vía Fz-3 o por la vía Ryk, cuyo dominio intracelular se une a **Dvl** (vía canónica de señalización Wnt). Por lo tanto, *la vía de señalización Wnt constituye un punto de convergencia, mientras que sus efectores corriente abajo muestran divergencia dependiendo del contexto celular.*

*Se puede identificar **convergencia** en el hecho de que los mismos sistemas de moléculas participen en la morfogénesis de estructuras y sistemas distintos, y luego un proceso de **divergencia funcional**, dado por las vías de señalización intracelular. Una misma molécula, actuando sobre distintos receptores, e incluso sobre el mismo receptor, puede activar vías intracelulares diferentes, según el estado de maduración de la célula, y originar procesos muy variados, que se interrelacionan de manera intrincada.*

2. Neurotrofinas

Los integrantes de esta familia de proteínas cruciales en el desarrollo y supervivencia neural se encuentran tanto en el sistema nervioso central como periférico. En mamíferos se conocen hasta el momento cuatro neurotrofinas: **factor de crecimiento nervioso (NGF)**, **el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF)**, **neurotrofina-3 (NT-3)** y **neurotrofina-4/5 (NT-4/5)** (35). Su expresión en el tejido nervioso varía dependiendo de la etapa del desarrollo, y continúa en la etapa adulta. Entre las funciones que ejercen se puede citar la regulación del destino celular, el mantenimiento de la diferenciación, morfología y supervivencia de las neuronas y el crecimiento de neuritas. Además, participan en el control de la función sináptica y la plasticidad neuronal mediante la regulación de la expresión de proteínas tales como canales iónicos, enzimas y neuropéptidos esenciales para la función neuronal. El proceso de neurogénesis continua en el hipocampo del cerebro adulto se mantiene gracias al estímulo de las neurotrofinas. Su acción es fundamental en la regulación del neurodesarrollo y en los procesos de supervivencia vs muerte celular asociados a éste (4).

Los genes de las neurotrofinas comparten homologías tanto en su secuencia de aminoácidos (cerca al 50%, que refleja su origen evolutivo de un mismo gen) como en su estructura que incluye la existencia de múltiples promotores. El transcripto de cada gen comprende una secuencia señal y un pre-dominio seguido de la secuencia de la proteína madura, y debe ser procesado por proteólisis. Las proteasas responsables de este procesamiento postraduccional regulan la concentración de las neurotrofinas, y son objeto de regulación por otras vías. Las neurotrofinas maduras son homodímeros asociados de forma no covalente y actúan mediante unión a receptores tirosin-quinasa, seguido por internalización y transporte por el axón hacia el soma celular (35)

Receptores de neurotrofinas: Existen receptores de alta y de baja afinidad. Los de alta afinidad son del tipo tirosin-quinasa (Trk), formados por tres dominios (intracelular, transmembrana y extracelular) y son específicos para cada neurotrofina (TrkA para NGF, TrkB para BDNF, TrkC para NT3. NT4/5 se une al TrkB, y con menor afinidad a TrkA). La unión de las neurotrofinas a los Trk induce su dimerización y autofosforilación, con subsecuente activación de las vías intracelulares asociadas. El receptor de baja afinidad se denomina p75NTR. Todas las neurotrofinas se unen a él, teniendo mayor afinidad las pro-neurotrofinas (moléculas no procesadas por escisión enzimática), y participa en respuestas como la supervivencia celular, el crecimiento de neuritas, la parada del ciclo celular y la apoptosis. Este receptor se ha relacionado con la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer.

Vías de señalización de las neurotrofinas: La unión de las neurotrofinas a los receptores Trk y su posterior internalización activa tres vías principales de señalización, **todas las cuales tienen efecto sobre la transcripción génica** (35):

Vía Ras-MAPK: Los receptores Trk activados utilizan adaptadores como la **proteína Shc** para interactuar con **proteínas de unión a receptores de factores de crecimiento (Grb2)** la cual por medio de zonas ricas en prolina se asocia a la **proteína con actividad intercambiadora de GTP (SOS)** permitiendo así la activación de la **proteína G con actividad reguladora (Ras)**. Una vez activada, Ras pone en marcha la cascada de señalización **MAPK** y de sus **proteínas G con actividad reguladora tipo Raf**. Estas proteínas Raf activadas fosforilan a la **proteín - quinasa activada por mitógenos (MEK)** que su vez activa a la **proteína quinasa (ERK)**. Las proteínas ERK se translocan al núcleo, donde fosforilan, activan y regulan factores de transcripción induciendo así la expresión de genes. La activación de esta cascada es necesaria para la **diferenciación** y promoción de la **supervivencia** de varios grupos neuronales, además del **crecimiento de neuritas** (35)

Vía PI3-K: Puede ser activada de dos formas: por medio de **Ras** o a través de las proteínas adaptadoras **Shc/Grb2**; en este caso, la proteína fosforilada **Grb2** recluta a la proteína de anclaje **GAB1** que permitirá la unión y activación de **PI3-K**. La activación de PI3-K activa a su vez a la proteína quinasa Akt, que regula factores de transcripción y también fosforila varias proteínas importantes que participan en la supervivencia celular. Esta vía promueve múltiples efectos en el **desarrollo y supervivencia** neuronal (35).

Vía PLC-γ: Esta enzima cataliza la hidrólisis de fosfatidilinositol 4,5 bifosfonato para producir diacilglicerol (DAG) e inositoltrifosfato (IP3). DAG activa isoformas de la proteína quinasa (PKC), mientras que IP3 promueve la salida de calcio intracelular. IP3 y DAG activan varias enzimas, entre ellas PKC Ca²⁺-calmodulina dependiente. La vía PLC-γ permite el **control de la expresión y actividad de muchas proteínas**, incluyendo canales iónicos y factores de la transcripción. Su principal papel es a nivel de la **plasticidad sináptica** (35).

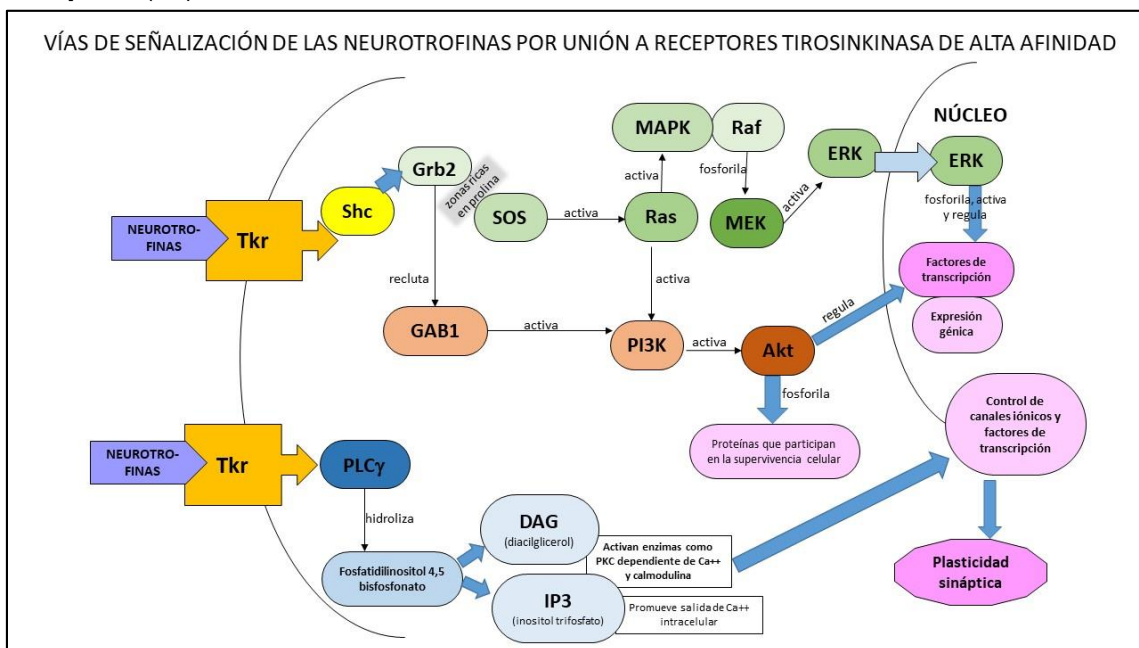


Figura 3: Diseño original de la autora.

Como se puede observar, estas vías son en esencia las mismas que median la acción de los morfógenos, por lo que hay una **convergencia de distintas moléculas señalizadoras sobre un grupo de cascadas de señalización intracelular**. Así se va configurando un sistema de control en el cual hay unos estímulos principales, indispensables para generar un proceso determinado en un tipo de células, y otros estímulos paralelos que ejercen una modulación fina sobre el mismo proceso, con bucles de retroalimentación cruzada entre las diversas moléculas señalizadoras.

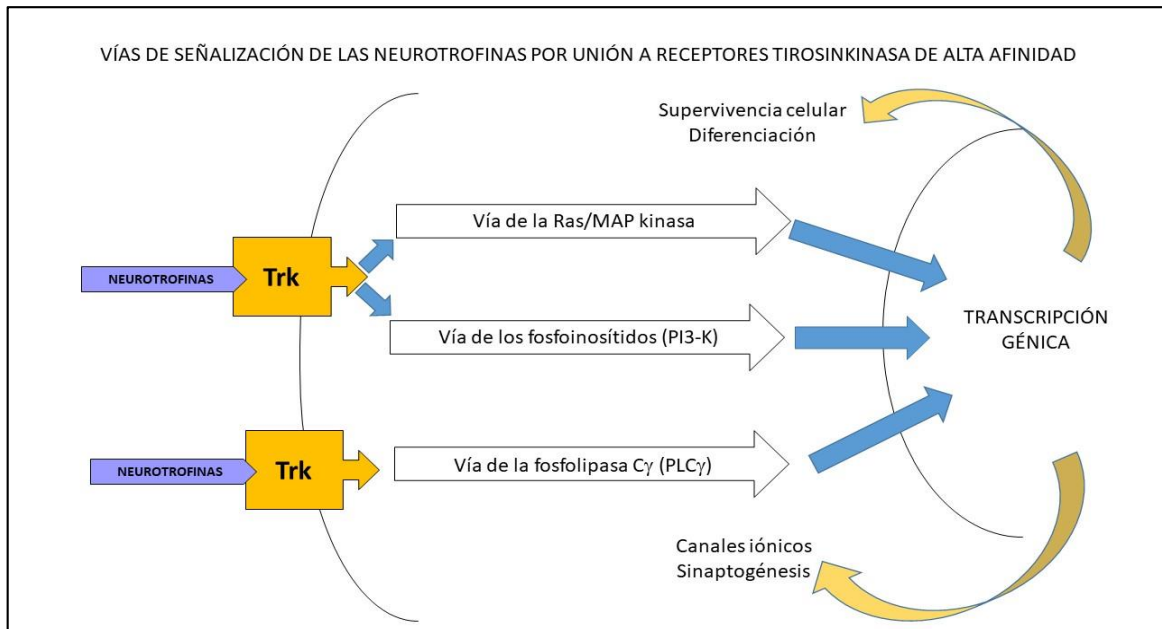


Figura 4: Diseño original de la autora.

2.1 Factor de crecimiento nervioso (NGF)

La primera neurotrofina conocida fue el factor de crecimiento nervioso (NGF), descubierto e investigado inicialmente por Rita Levi-Montalcini y su grupo de investigación entre 1964 y 1980 (Premio Nobel por ello). El NGF es **indispensable para la supervivencia neural y el crecimiento de neuritas** en múltiples poblaciones neuronales in vitro e in vivo (neuronas colinérgicas del prosencéfalo basal, del estriado y del septum, células de Purkinje del cerebelo, células retinianas, neuronas simpáticas pos-ganglionares y células sensoriales de la raíz dorsal, así como receptores periféricos). En el ser humano, está codificado por un solo gen con longitud de 45 kilobases, localizado en el cromosoma 1, el cual se puede transcribir en al menos cuatro mRNAs diferentes, por splicing alternativo. Dos de los productos primarios son glicosilados (procesamiento postraduccional) para producir un precursor de 35 kilodalton, sin actividad evidenciable. El precursor es procesado por enzimas para producir la forma biológicamente activa, la cual es un **dímero** de dos cadenas polipeptídicas tipo β idénticas, cada una de 118 aminoácidos y peso molecular de 13,2 kilodalton, con secuencia parecida a la de proinsulina, unidas de forma

no covalente (se pliegan y forman una superficie hidrofóbica que las une). El **NGF** forma un complejo de alto peso molecular con dos subunidades alfa y gamma, que no estimulan el crecimiento neural. Una vez procesado, puede ser secretado de inmediato o almacenado en vesículas, de donde es liberado luego por exocitosis mediante un mecanismo calcio-dependiente, similar a la liberación de neurotransmisores (4).

El NGF está presente en todos los vertebrados excepto elasmobranquios y posee idéntica acción biológica en ratones, bovinos, humanos y pollos. El **sitio activo de unión al receptor está conservado evolutivamente**, así como un 85% de su secuencia. El NGF está presente en muchos tejidos periféricos diferentes, que son blanco de inervación por neuronas sensoriales o simpáticas, en concentración proporcional a su densidad de inervación, y en tejidos mesodérmicos en crecimiento (que atraen inervación); también en plasma sanguíneo de mamíferos, embriones y adultos, y glándulas submaxilares de ratón (adulto macho). En el sistema nervioso central se expresa en neuronas en condiciones fisiológicas, y en presencia de lesión por células gliales. En el sistema nervioso periférico, es producido en células de Schwann y aumenta en procesos de regeneración axonal. El período de sensibilidad (capacidad de respuesta) de las neuronas al NGF corresponde con el período de proliferación de la glía, crecimiento de neuritas y formación de conexiones con los tejidos blanco (4).

Una vez liberado, el NGF se une a receptores específicos en la membrana de la neurona, que lo translocan por **endocitosis** al interior celular. Para ello las neuronas deben poseer receptores de NGF de alta afinidad. Cabe destacar que la inyección intracelular directa de NGF no produce efectos tróficos; es necesario formar complejo con el receptor. No pasa la barrera hematoencefálica, lo que limita su uso terapéutico. Después de su unión al receptor y endocitosis, es transportado por el citoesqueleto (transporte axónico retrógrado) hasta el soma celular. El **receptor de alta afinidad para NGF es TrkA**. Además, NGF se une con baja afinidad al receptor p75NTR (mientras que la forma no procesada, pro-NGF, se une a éste con alta afinidad). Al parecer, la unión a p75NTR está involucrada en procesos de apoptosis, mediante su vínculo con la proteína **sortilina** (35).

Los **efectos biológicos** del NGF pueden agruparse en los de **acción rápida** (segundos a horas) y los de **acción tardía** (horas a días). Los primeros incluyen regulación de la captación de nutrientes y precursores anabólicos, mientras que las acciones tardías comprenden mantenimiento de **la supervivencia neuronal, estimulación del crecimiento de neuritas (dendritas y axón), crecimiento celular, inducción de enzimas necesarias para la síntesis de neurotransmisores, efecto trófico sobre las fibras nerviosas por parte de sus células blanco**, y en algunos tejidos angiogénesis. Sus mecanismos son mediante **control de la expresión génica y síntesis de proteínas**. El NGF induce específicamente la **síntesis de enzimas necesarias para producir neurotransmisores**: tirosin-hidroxilasa y dopamina-beta-hidroxilasa en neuronas adrenérgicas simpáticas, en neuronas sensitivas incrementa la síntesis de neurotransmisores peptídicos como sustancia P y somatostatina y en neuronas colinérgicas en el prosencéfalo basal y el estriado inducen síntesis de colina-

acetiltransferasa. En las neuritas, induce crecimiento y síntesis de microtúbulos. En cultivo, los axones crecen hacia la fuente de NGF, lo que sugiere que puede servir también como guía para la dirección de crecimiento axonal durante el desarrollo embrionario (4). Por sus efectos sobre las neuronas colinérgicas que inervan el hipocampo, se considera que el NGF juega un papel en los procesos de aprendizaje y memoria (35)

Es destacable el hecho de que la inmunosimpatectomía experimental en ratones neonatos por anticuerpos anti-NGF puede ser evitada por agentes que inhiban síntesis de RNA y de proteínas, lo que indica que la muerte neuronal por privación de NFG no es sólo un fenómeno pasivo (ya que requiere síntesis de RNA y proteínas) y se debe probablemente a la **represión de genes** que inducen apoptosis (4).

2.2 Factor neurotrófico derivado del cerebro

El factor neurotrófico derivado del cerebro (**BDNF**) es una proteína básica de 12,3 Kd, relativamente escasa en el SNC donde se encuentra en mayores niveles en el cerebro a nivel de cuerpos mamilares, tracto olfatorio, protuberancia, hipocampo, colículos y corteza frontal. Se encuentra también en corazón, pulmón y músculo. Es producida por las células blanco de las terminaciones nerviosas, lo mismo que NGF (trofismo retrógrado) y tiene efecto en el crecimiento de neuritas (4). El gen del BDNF se localiza en el cromosoma 11 y contiene 11 exones. Una vez empaquetado en vesículas en el retículo endoplásmico, éstas se unen al receptor de carboxipeptidasa C, y el BDNF se libera tanto en las sinapsis como fuera de ellas. Se une al receptor de alta afinidad TrkB, y por su mediación aumenta la fosforilación de las subunidades del receptor NMDA, con lo cual potencia la transmisión sináptica glutamatérgica, despolarizando la célula. Esto se ha evidenciado en el hipocampo, lo que sugiere que esta vía juega un papel importante en los procesos de aprendizaje y memoria. Entre los efectos conocidos del BDNF está la potenciación de la transmisión glutamatérgica con efecto sobre la conectividad y la plasticidad, la supervivencia de neuronas sensoriales y retinales y motoneuronas espinales, así como modulación de la expresión de proteínas quelantes del calcio como la calbindina (35).

2.3 Neurotrofinas 3 y 4/5

La **neurotrofina 3 (NT-3)** está ampliamente distribuida en los tejidos. Su máximo nivel de expresión durante el desarrollo embrionario se alcanza en el cuerpo estriado, donde regula la expresión de proteínas quelantes del calcio, lo mismo que BDNF. Sus niveles bajan en el período posnatal, y se mantienen relativamente constantes a lo largo de la vida, siendo mayores en la sustancia negra (donde incrementa la actividad dopaminérgica) y menores en la corteza. Como las demás neurotrofinas anotadas, participa en procesos de

supervivencia y diferenciación neuronal, principalmente en neuronas simpáticas y sensoriales del SNC y el SNP, motoneuronas, neuronas colinérgicas, noradrenérgicas y cerebelares, así como en el crecimiento de neuritas (35)

La **neurotrofina 4/5 (NT-4/5)** se une al receptor TrkB, y sus efectos son muy similares al de otro ligando de ese mismo receptor, el BDNF. In vitro, aumenta supervivencia de neuronas noradrenérgicas y colinérgicas, promueve proliferación de neuronas dopaminérgicas en cultivo (mas no promueve la recaptación de dopamina) y promueve diferenciación y supervivencia de neuronas gabaérgicas del estriado (35).

2.4 Factor neurotrófico ciliar (CNTF)

Se trata de una proteína ácida con peso molecular aproximado de 24 kd, presente en tejidos nerviosos periféricos, y producido por las células de Schwann y células inervadas por fibras del ganglio ciliar. Su secuencia es completamente diferente al **NGF** y a otros factores neurotróficos (no pertenece a la misma familia). Se ha mostrado que promueve la supervivencia de neuronas simpáticas y parasimpáticas, así como neuronas motoras y sensoriales, durante el desarrollo embrionario y en el adulto, y controla (inhibe) la proliferación y diferenciación neuronal en los ganglios simpáticos. También podría controlar la diferenciación de los astrocitos tipo II. Induce la expresión de péptido intestinal vasoactivo (VIP). **El CNTF**, una vez que se une a su receptor en la membrana de las neuronas, sufre endocitosis, lo mismo que muchas otras moléculas señalizadoras, y es llevada por transporte axonal retrógrado. Al parecer, la liberación de CNTF aumenta notoriamente cuando hay daño celular, por mecanismos de liberación no convencionales (en forma semejante al factor de crecimiento derivado de fibroblastos), y tiene un efecto poderoso en la supervivencia de neuronas lesionadas a nivel del axón periférico (se acumula en el punto de corte del axón) (4).

3. Neurotransmisores

Muchos neurotransmisores y neuromoduladores y sus receptores se expresan en grandes cantidades en el tejido nervioso en desarrollo **durante ciertos períodos de éste**, lo cual indica **“ventanas” de especial sensibilidad** a ellos en los procesos de neurogénesis. En estas ventanas o períodos sensibles es esencial un cierto tipo de estímulo para que el desarrollo siga su proceso “correcto”.

“Los neurotransmisores y neuromoduladores afectan la formación de contactos sinápticos, maduración de las sinapsis y refinamiento estructural de la conectividad mediante regulación de la actividad eléctrica, la excitabilidad y la liberación de neurotrofinas. ... La expresión de subtipos de receptores y transmisores es crítica para la diferenciación neuronal, desarrollo de sinapsis y formación de redes neurales que subyacen al comportamiento en el feto, así como en el infante en crecimiento y el adulto” (17)

Con el nacimiento, se activan cascadas de neurotransmisores y factores de transcripción, responsables de otros momentos “críticos” o sensibles para el desarrollo de procesos neurales, o de conductas (como la impronta).

La señalización por medio de neurotransmisores juega un papel incluso desde etapas muy tempranas, previas a la formación de sinapsis, en las cuales su liberación y acción es atípica, ya que no se liberan mediante vesículas ni originan potenciales de acción o entrada de calcio. (18)

No obstante, la mayor actividad regulatoria de las moléculas neuroactivas se da a nivel de las sinapsis en desarrollo, una vez que los receptores están sobre las membranas celulares. *La liberación vesicular de neurotransmisores es esencial para evitar la apoptosis de las neuronas después de la formación de sinapsis.*

Los neurotransmisores y neuromoduladores parecen surgir primero en las regiones caudales (filogenéticamente más antiguas) del encéfalo, y pueden actuar tanto sobre receptores ionotrópicos como metabotrópicos, estos últimos por lo general alostéricos y asociados a proteína G y de efectos más lentos, con un papel más de moduladores que de transmisores (al menos en el cerebro adulto). Hay mucha mayor diversidad de receptores metabotrópicos, siendo la mayor familia de receptores en el genoma.

Algunos otros agentes neuroactivos no se almacenan en vesículas ni actúan sobre receptores convencionales de membrana, sino que actúan sobre enzimas del citoplasma o receptores nucleares. En esta categoría están algunos gases (NO, CO) y moléculas lipofílicas como los retinoides y la vit. D.

Una célula precursora neural **elige su neurotransmisor dependiendo de señales del entorno** (como se ha demostrado por trasplante cruzado entre células del simpático y del vago), las cuales tienen un papel inductor de diferenciación durante etapas críticas del desarrollo. Los corticosteroides pueden afectar esa elección de neurotransmisor.

Las **catecolaminas** (y la enzima tirosin-hidroxilasa, requerida para su síntesis) están presentes **desde las primeras etapas** del desarrollo embrionario, y se ha demostrado su papel crucial en el desarrollo temprano mediante experimentos con anulación de genes. Las neuronas **noradrenérgicas** aparecen en la semana 5 a 6 en el embrión humano, en su mayoría concentradas en el locus ceruleus (origen de cinco vías principales que se proyectan a prácticamente todas las regiones del cerebro) y en otros centros como el núcleo del tracto solitario y el campo tegmental lateral. Este sistema noradrenérgico **regula el desarrollo de las células de Cajal-Retzius**, primeras neuronas originadas en la corteza y fundamentales en la **migración neuronal y la formación laminar**. Además, se relaciona con la **glía radial**, la cual participa en pasos clave del desarrollo cerebral, migración y corticogénesis, y con la apoptosis normal asociada a la formación de las capas corticales. La depleción perinatal de catecolaminas puede causar cambios a nivel dendrítico y alteraciones en la diferenciación cortical, así como reducción de ciertas habilidades cognitivas y comportamentales. Hay sobreexpresión transitoria de receptores alfa-2 en la sustancia blanca y algunos núcleos del tallo en el período perinatal, sugestivos de una **ventana de sensibilidad** a las catecolaminas crucial para el desarrollo (17).

El **sistema dopaminérgico** es fundamental para la configuración del sistema motor, así como la memoria de trabajo y el comportamiento alimentario. Las neuronas dopaminérgicas se concentran en la sustancia nigra y área tegmental ventral y se proyectan a los ganglios basales, bulbos olfatorios, regiones límbicas, hipocampo y corteza. El receptor de dopamina D1 regula la transcripción de ciertos genes. Las alteraciones del sistema dopaminérgico durante el desarrollo podrían estar relacionadas con los trastornos de hiperactividad y déficit de atención.

La **adrenalina** también se encuentra tempranamente en el tallo cerebral, y contribuye a definir y optimizar el ritmo respiratorio; más adelante participa en el control de la presión arterial y funciones neuroendocrinas.

La **acetilcolina** es uno de los principales neurotransmisores cerebrales, importante para activación cortical, memoria y aprendizaje, recompensa y dolor, así como para el control del tono muscular y el movimiento, en lo cual parece hacer contrapeso a la dopamina. La inervación colinérgica en el córtex aparece posteriormente a la adrenérgica (semana 20 en el feto humano), y sus niveles maduros no se alcanzan hasta después del nacimiento, aunque los receptores sí están presentes antes. Los receptores colinérgicos muscarínicos y nicotínicos pasan por cambios importantes durante el desarrollo, ya que en los receptores fetales se expresan ciertas subunidades y en los posnatales otras. Los receptores nicotínicos son importantes para la proliferación y supervivencia de los neuroblastos, pero su sobreestimulación aumenta la muerte neuronal. La activación de receptores nicotínicos

promueve el contacto sináptico y el “cableado” durante un período crítico del desarrollo posnatal, en el hipocampo y en otras regiones. Su estímulo inadecuado, como en el tabaquismo materno, altera el ritmo respiratorio y el alertamiento, así como la síntesis de catecolaminas, aumentando el riesgo de muerte infantil súbita (17).

Los **aminoácidos** son los neurotransmisores más abundantes en el sistema nervioso central, y están involucrados en muchos procesos como el input sensorial, codificación de recuerdos y movimiento. En el cerebro en desarrollo cumplen un importante papel en la formación de redes neuronales (“cableado”) y la citoarquitectura. Los principales neurotransmisores excitatorios en mamíferos son el **glutamato y el aspartato**. Son los neurotransmisores dominantes en las células piramidales de la corteza, y sus vías de señalización inducen cambios sorprendentes en el desarrollo, especialmente durante períodos críticos, con un pico de sobreproducción posnatal (1 a 2 años en el ser humano), al parecer relacionado con la alta generación de sinapsis. El **glutamato** actúa sobre al menos cinco tipos de receptores, con varios subtipos (ocho de receptores metabotrópicos “lentos”). Los que predominan en el cerebro inmaduro cuando aún la actividad sináptica es débil son los **receptores ionotrópicos NMDA, que permiten la entrada de Ca^{++} y Na^{+}** , y son **cruciales en la potenciación a largo plazo y la plasticidad sináptica** que subyace a los procesos de aprendizaje y memoria a lo largo de toda la vida. Durante los períodos críticos del desarrollo, los NMDA cumplen un papel esencial en la plasticidad dependiente de actividad sináptica y el refinamiento de las sinapsis, tal como ocurre en la vía visual, donde se produce un “switch” en las subunidades del receptor NMDA, esencial para el desarrollo de neurotransmisión rápida. Durante la maduración predominan los receptores AMPA y kainato. Los NMDA son más activos durante las primeras etapas de la vida, y por el aumento de Ca^{++} intracelular que provocan (seguido por apoptosis), **hacen más sensible el cerebro a la excitotoxicidad** causada por asfixia perinatal (17).

El **GABA** es el neurotransmisor dominante en las células no piramidales. En el ser humano la mayoría de las neuronas neocorticales gabaérgicas surgen en la zona ventricular y subventricular. Mientras el GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio en el SN maduro, **durante el desarrollo temprano es excitatorio**, ya que sus receptores ionotrópicos GABA-A abren canales de cloro. En el SN inmaduro el cloro está en mayor concentración dentro de las neuronas (debido a que no se expresa aún el cotransportador K^{+}/Cl^{-} KCC2), por lo tanto, la activación de canales de Cl^{-} causa despolarización (salida de cargas negativas) en vez de hiperpolarización. El cambio a ser inhibitorio sucede en las primeras semanas después del nacimiento, inicialmente en el tallo cerebral, luego en el hipocampo y finalmente en la corteza. En el cerebro inmaduro, los receptores GABA-A cumplen el rol de los receptores AMPA, permitiendo la despolarización, el influjo de calcio y la activación de los receptores NMDA. La entrada de calcio activa una amplia variedad de cascadas intracelulares, y contribuye al crecimiento y diferenciación neuronal. Por lo tanto, la **activación de receptores GABA-A y el influjo de calcio actúan como disparadores de la plasticidad** de las conexiones sinápticas y el establecimiento de patrones en las redes neurales. Además, la estimulación GABAérgica puede regular al alza la expresión del cotrasportador, lo que precipitaría el “switch” de excitatorio a inhibitorio.

Sin embargo, el switch también puede ser modificado por la experiencia sensorial (en la vía visual), lo que implica probablemente la necesidad de ambas señales para que se produzca.

La **glicina** se considera el neurotransmisor inhibitorio más antiguo filogenéticamente, aunque también tiene **dobles papeles excitatorio e inhibitorio**, y un **proceso de switch** similar a los receptores GABA A. Además, la glicina a concentraciones submicromolares actúa como **regulador del receptor NMDA**, aumentando su frecuencia de apertura.

Se han identificado más de 50 **neuropéptidos**, los cuales, a diferencia de otros neurotransmisores, requieren ser empacados en vesículas en el soma neuronal y llevados por transporte axónico hasta las terminales sinápticas. Por ello, actúan más bien como **neuromoduladores**; se almacenan junto con otros neurotransmisores como las monoaminas y parecen tener un papel regulatorio de la sensibilidad a éstas. Los opioides endógenos son un tipo de neuropéptidos. Entre ellos, la **beta-endorfina** en su forma no acetilada está presente en la hipófisis y está involucrada en el crecimiento fetal (17).

La acción de los neurotransmisores a nivel sináptico tiene un claro papel en el refinamiento de los circuitos nerviosos en desarrollo, pero también hay datos que muestran que el GABA, y probablemente otros neurotransmisores, pueden actuar durante el **desarrollo temprano del SN** (y también de tejidos no neurales), antes incluso de que existan estructuras sinápticas. Se ha demostrado activación de receptores GABA-A y receptores NMDA para glutamato en neuronas hipocámpales inmaduras de ratón (que aún no presentan sinapsis) debida a neurotransmisores liberados de forma no vesicular. Su fuente aún no se ha identificado, aunque podría tratarse de células neurales, o incluso gliales, que los sintetizan y los liberan de una forma no cuántica, por medio de un transportador reverso o un sistema intercambiador, o por hemicanales, a nivel de las uniones estrechas. **La forma más probable de liberación parece ser por "filtración"**, como sucede con la acetilcolina en las uniones neuromusculares en reposo (18).

El medio extracelular en el tejido nervioso en formación es altamente favorable a la difusión de moléculas incluso a distancias largas, por lo que podrían servir como señalización en función de un gradiente de concentración. Aún queda por dilucidar si esta señalización es **continua o por pulsos** (más probablemente). Ciertas características de los receptores inmaduros como la cinética más lenta de los receptores ionotrópicos, alta afinidad por el ligando y tasa reducida de desensibilización facilitan la activación no sináptica (18)

Los experimentos en los que se han anulado genes necesarios para la síntesis de GABA no han mostrado anomalías gruesas en el desarrollo neural, aunque éstas podrían ser sutiles, o ser compensadas por otros mecanismos moleculares que actúan en el neurodesarrollo temprano, o bien los receptores podrían ser activados por otras moléculas. Otros neurotransmisores que han mostrado acción en células neurales embrionarias son acetilcolina, glutamato y glicina, y es posible que la activación de sus receptores comparta vías comunes o superpuestas entre sí, para influir en procesos tales como proliferación,

diferenciación y sinaptogénesis. Aunque evidentemente constituyen señalizadores del desarrollo cerebral temprano en los mamíferos, es probable que el papel de los neurotransmisores sea más de moduladores que de “directores” en el desarrollo temprano, y su acción se manifieste en procesos sutiles de maduración de las sinapsis o de remodelación de las neuritas (18).

3.1 Serotonina

Bien conocida y estudiada como neurotransmisor, la serotonina también juega un rol fundamental en muchos aspectos del desarrollo neural, que incluyen migración, crecimiento de neuritas y regulación de la forma y densidad de las espinas dendríticas. Mediante estos procesos la serotonina participa en la configuración de las redes neurales y su funcionamiento, regulando comportamientos y rasgos evidenciables en la vida posnatal. Esto se ve confirmado por la evidencia de que las alteraciones prenatales en la señalización serotoninérgica se asocian con trastornos psiquiátricos y del comportamiento (Lesch y Waider, 2012) (2)

Los receptores de serotonina (5HTR) constituyen un grupo amplio y heterogéneo, clasificado en siete subfamilias, 5HT1 a 5HT7 con base en sus secuencias primarias y propiedades de acoplamiento de proteínas G (casi todos son receptores acoplados a proteína G, excepto los 5HT3, que son ionotrópicos) (90, 2); la mayoría de ellos han sido implicados en diversos eventos de neurodesarrollo, principalmente los **5HTR6** y **5HTR7**, que son los que se expresan más temprano (2). La actividad serotoninérgica **está presente desde las etapas iniciales del desarrollo embrionario**, y está **involucrada en la morfogénesis** del corazón, región craneofacial y otras estructuras. En el SNC, Las neuronas serotoninérgicas del rafe son de las primeras en aparecer (semanas 5 a 12 en humanos), y luego se proyectan difusamente a la corteza y a la médula espinal (17). Existe evidencia del papel morfogenético de 5HT7 en el hipocampo, donde su expresión se restringe a las etapas tempranas de la gestación. Allí el **5HTR7** promueve el **crecimiento de neuritas, la formación de espinas dendríticas y el aumento de la transmisión sináptica excitatoria**, así como reducción de la entrada de calcio y de la potenciación a largo plazo. En la corteza y el cuerpo estriado la expresión de 5HTR7 permanece durante la vida posnatal, teniendo un papel en la plasticidad sináptica (2).

Las neuronas **serotoninérgicas** se localizan en varios puntos del mesencéfalo y se proyectan ampliamente, haciendo posible la coordinación de patrones complejos sensoriales y motores (17). La actividad serotoninérgica se asocia con el estado de alerta, ya que la serotonina aumenta la excitabilidad de las neuronas motoras (17).

La **serotonina afecta la proliferación, migración y diferenciación neural y la sinaptogénesis**, y tanto el exceso como el déficit parecen tener efectos adversos; los **niveles maternos de serotonina parecen ser fundamentales en la morfogénesis fetal**,

y su déficit se ha asociado con autismo, mientras la activación excesiva de sus receptores parece estar involucrada en conexiones erróneas y en la génesis de trastornos de ansiedad y adicción. Asimismo, las alteraciones del desarrollo del sistema serotoninérgico se han asociado con el síndrome de muerte súbita infantil, por una falla en la respuesta a cambios del ambiente y disregulación autonómica. La serotonina también está involucrada en la regulación fina de la formación de mapas sensoriales corticales a partir de las proyecciones talámicas. El pico de densidad de receptores de serotonina **5HT1A** en el cerebro humano fetal se da en las semanas 16 a 22, especialmente en la **corteza y en el hipocampo**, en donde su **activación se relaciona con aumento de la neurogénesis, diferenciación neural y maduración dendrítica**, aunque no es claro si su efecto es directo, o indirecto a través de la glía, mediante el factor de crecimiento derivado de astrogliá S-100B (17)

El **receptor 7 de serotonina (5HT7)** presenta una distribución en ciertas regiones cerebrales que revela su papel crítico para el control de funciones tales como los ritmos circadianos, ciclo sueño – vigilia, termorregulación, nocicepción, aprendizaje y memoria. Adicionalmente, las alteraciones en la señalización por 5HT7 se correlacionan con procesos neuropatológicos tales como ansiedad, esquizofrenia, epilepsia, depresión y dolor neuropático (33).

En cultivos celulares primarios de neuronas embrionarias de hipocampo, de corteza y de cuerpo estriado se ha demostrado que la **estimulación farmacológica de 5HTR7 mejora el crecimiento de neuritas** (33). El bloqueo farmacológico de 5HTR7 por el contrario disminuye la formación de espinas en las neuronas en cultivo. Este proceso se da mediante activación de vías de transducción de señalización que involucran **la kinasa 5 dependiente de ciclina** y la **GTPasa CDC42**, y convergen en la reorganización de las proteínas del citoesqueleto. Estudios previos apoyan un **papel morfogénico** de la serotonina en el hipocampo. Asimismo, estos hallazgos muestran que los receptores 5HT7 están implicados en remodelación sináptica y cambios de plasticidad neuronal a lo largo de la vida posnatal, que son la base de la adaptabilidad del cerebro en respuesta a los estímulos conductuales (33).

3.2 Endocannabinoides

Los endocannabinoides son un conjunto de lípidos bioactivos que actúan sobre los receptores de cannabinoides, y comprenden amidas, ésteres y éteres de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. Los mejor estudiados son la anandamida (N-araquidonoil-etanolamina) y el 2-AG (2-araquidonoil-glicerol). Los endocannabinoides y sus receptores, así como sus transportadores y las enzimas involucradas en su síntesis y degradación han sido detectados desde las más tempranas etapas del desarrollo embrionario, lo que sugiere un papel en el desarrollo neural temprano (también en las enfermedades neurodegenerativas). Los efectos de ligandos sobre los receptores de cannabinoides tanto endógenos como exógenos son mediados por (hasta donde se conoce) dos receptores acoplados a proteínas G inhibitorias: CB1 y CB2 (24).

4. Moléculas de adhesión y otras asociadas a la matriz extracelular

Se estima que 4 a 5% del genoma humano está dedicado a moléculas relacionadas con la adhesión celular. Entre las moléculas de adhesión se encuentra un gran grupo perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas (865 miembros identificados) que incluye las CAM (N-CAM, SynCam y otras), así como cadherinas clásicas, integrinas, CD44 y efrinas, las cuales interactúan con dominios PDZ, cateninas, α -actinina, talina, vinculina, ezrina y otros, que las vinculan a una variedad de cascadas intracelulares. **La adhesión celular es fundamental durante el desarrollo** y está ligada a una compleja red de vías de señalización que regulan la **multiplicación celular, la migración, la diferenciación y la apoptosis** (8). En experimentos en los que se han suprimido moléculas tales como Cadherina-E o β 1-integrina se han evidenciado anomalías significativas del desarrollo, ya que las moléculas de adhesión controlan en buena parte la formación de límites entre tejidos y la morfogénesis. Se ha documentado implicación de la L-selectina en la implantación del cigoto y el papel de las cadherinas en epitelización, división celular asimétrica, morfogénesis de somitas, corazón y tubo neural, vasculogénesis, y otros, además de su implicación en varias etapas del desarrollo neural. En éste último, una misma molécula puede actuar en distintos momentos de formas diferentes en procesos morfogenéticos o de diferenciación, por ejemplo, la N-cadherina participa en generación de asimetría, somitogénesis y sinaptogénesis. Otras participan en la migración neuronal, permitiendo alcanzar la correcta localización. Además, **las moléculas de adhesión interactúan en estos procesos con otras familias de receptores y sus ligandos afines**, tales como **efrinas, semaforinas y netrinas**. Las moléculas de adhesión hacen parte de grandes complejos en la superficie celular y el citoplasma, y sus cascadas asociadas presentan **alto grado de señalización cruzada** (8).

4.1 Cadherinas

Las **Cadherinas**, glucoproteínas transmembrana responsables de las uniones célula-célula para mantener la integridad de los tejidos, se han visto implicadas en varios pasos dentro del desarrollo neural, incluyendo formación del tubo neural, migración, alargamiento axonal y sinaptogénesis (7).

El patrón de expresión localizada de algunos subconjuntos de las cadherinas clásicas tipo 1 y tipo 2 en el sistema nervioso central en formación permite inferir su papel en la formación y mantenimiento de compartimentos dentro del SNC. Cada grupo de neuronas motoras se caracteriza por un subtipo particular de cadherinas, que incluyen MN (motor neuron), 6b, 7 y 8, las cuales controlan su migración (8).

En muchos casos, incluyendo la morfogénesis del sistema visual en *Drosophila*, la Cadherina-DE forma un complejo en la superficie celular con el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), el cual permite control de la actividad adhesiva posiblemente mediante fosforilación de tirosina de la β -catenina, o mediante ubiquitinación y degradación de la Cadherina-DE. Además, las cadherinas clásicas contribuyen a la ontogenia de las redes neurales clasificando los fascículos, proceso demostrado en la conectividad de los fotorreceptores en *Drosophila* (8).

La función de las cadherinas en el hipocampo es crucial para la forma y desarrollo de las espinas dendríticas, de tal manera que ofrezcan una amplia superficie de contacto receptor-ligando para la maduración sináptica y la potenciación a largo plazo. Entre los receptores implicados está la β 3-integrina, requerida para la maduración de las sinapsis excitatorias hipocampales y el cambio en la composición de los receptores NMDA. SynCAM, otro miembro de la superfamilia de las Igs, media el contacto a través de la hendidura sináptica a través de sus conexiones con proteínas citoplasmáticas que contienen dominios PDZ. Se ha observado que SynCAM es capaz de inducir sinapsis en cultivo celular (8).

Las **N-cadherinas** son propias del tejido neural, y se ha documentado su presencia en el prosencéfalo y en hipocampo adulto. Se ha demostrado la presencia de **CDH2** en sitios sinápticos. Estudios recientes del desarrollo han demostrado la participación directa de las cadherinas en el crecimiento de neuritas y la formación y/o mantenimiento de las sinapsis, **no sólo en el cerebro inmaduro, sino adulto, con lo cual juegan un papel en la plasticidad sináptica. Las Cadherinas promueven diferenciación pre- y post-sináptica por interacción con proteínas organizadoras sinápticas (NLGL1, LRRtm2, Cadm1 / SynCAM y Neurexina β).** (7). Dadas las dificultades para su estudio in vivo, se han realizado estudios en células heterólogas que expresaban cadherinas y proteínas organizadoras sinápticas cultivadas con neuronas corticales e hipocampales (7). Con células que expresaban NLGL, las neuritas que las contactaban formaban grupos de vesículas sinápticas y liberaban neurotransmisores al ser estimuladas, lo que no sucedió con neuritas en contacto con células que expresaban NRXN. En estudios de células renales humanas editadas genéticamente por CRISPR para carecer de CDH2 cocultivadas con neuronas corticales e hipocampales de roedor, “se demostró que **CDH2** promueve la **ramificación de neuritas** y que se requiere para **tres organizadores sinápticos, neurologina1 (NLGL1), proteína transmembrana repetida rica en leucina 2 (LRRtm2) y Molécula de adhesión celular 1 (Cadm1 / SynCAM)** para estimular la **diferenciación presináptica**” (7). Asimismo, se requiere **CDH2 (o CDH4, o CDH 6)** para una molécula organizadora presináptica, **Neurexin1 β** , para promover la **diferenciación postsináptica** en las dendritas (7).

Un aspecto en que está bien documentado el papel de la señalización mediante cadherinas es en las vías serotoninérgicas cerebrales (6), las cuales inician su formación tempranamente en la vida embrionaria, con migración de neuronas serotoninérgicas guiadas físicamente por células de la glía radial para formar nueve grupos que darán origen a los **núcleos del rafe** (ver 4.8.2) En este proceso se ha mostrado que **juega un papel la cadherina-13 (CHD13)**, en especial en la configuración estructural de los núcleos serotoninérgicos del rafe dorsal. En estudios en ratones (6) se documentó la presencia de CHD13 tanto en las neuronas serotoninérgicas migrantes del rafe dorsal (en el soma y en las neuritas, en los puntos de contacto con la glía) como en las células de la glía radial asociadas a ellas (donde se asocia a la proteína de filamentos intermedios **nestina**), lo cual no se observó en el rafe medio. Los hallazgos apoyan un **papel de la CDH13 en la locomoción** de las células por interacción con células de la glía radial, con las cuales se entrelazan. Además, la deficiencia de CDH13 causó aumento de la densidad de neuronas serotoninérgicas en el rafe dorsal en ratones, con afectación de sus proyecciones a la corteza prefrontal, y los ratones mostraron conductas autistas. Esto se correlaciona con estudios clínicos que han demostrado anomalías de la CDH13 en pacientes con trastorno por déficit de atención y otros trastornos del neurodesarrollo (6), y la alteración de vías serotoninérgicas en pacientes con autismo, así como la relación entre autismo y bajos niveles maternos de serotonina durante la gestación (17).

4.2 Proteoglicanos y matriz extracelular en la unión neuromuscular

Los componentes de la matriz extracelular son secretados por las células inmersas en ella, formando a su alrededor una **lámina basal**, que juega un papel importante en las sinapsis, tanto para su desarrollo como para su función una vez formadas (papel que se comenzó a comprender a partir de los estudios sobre regeneración axonal y muscular después de lesión). En este aspecto, el tipo de sinapsis mejor estudiado, tanto por su accesibilidad, simplicidad relativa y gran tamaño, es la unión neuromuscular (NMJ). En ella, tanto la fibra muscular como el axón secretan componentes de matriz extracelular para formar la **lámina basal sináptica**, que ocupa la hendidura sináptica y posee **componentes capaces de inducir y mantener la diferenciación** tanto en la célula presináptica como postsináptica. Estos componentes en su mayoría son proteínas de gran tamaño, que llevan a cabo interacciones complejas con sus receptores en las membranas celulares y están involucrados en casi todos los aspectos del desarrollo de las sinapsis: iniciación, ultraestructura, topografía, maduración, estabilidad, transmisión sináptica. Las proteínas de la matriz extracelular están además reguladas por metaloproteinasas y sus inhibidores. Los estudios sobre regeneración post-denervación han mostrado que la lámina basal sináptica puede dar soporte trófico a mediano plazo que posibilita la supervivencia de los

componentes de la sinapsis, aún sin su pareja, y genera la localización y la diferenciación sináptica (44).

La NMJ es una sinapsis muy estable y robusta, de alta eficiencia, donde la transmisión del impulso por una sola célula (la neurona motora) es suficiente para inducir un potencial de acción en la fibra muscular, sin necesidad de integración de varios impulsos. En esto difiere considerablemente de las sinapsis entre neuronas en el SNC, las cuales, además, no tienen lámina basal (aunque sí matriz extracelular). Durante la formación de la NMJ, los receptores de acetilcolina se agrupan en altísimas densidades en la membrana postsináptica gracias a una combinación de mecanismos. Los receptores a su vez cambian su composición de canales pentaméricos del período embrionario al período posnatal, modificando la cinética de apertura y de entrada de calcio. La NMJ tiene un proceso complejo de maduración que comprende varias etapas, en cada una de las cuales se dan cambios en la forma de la placa motora, su topografía y su composición. En la NMJ madura, el espacio de 50 nm entre las membranas posee una lámina basal con una estructura ordenada compuesta por **laminina**, **colágeno IV**, **glucosaminoglucanos (GAG) de heparán-sulfato** (incluyendo agrina y perlecán) y otras proteínas tales como **fibronectina**, **nidogen**, **tenascina** y **trombospondina**. Algunas de ellas pueden, por su gran tamaño, estar unidas a las dos membranas. Además, el espacio sináptico está cubierto por una célula de Schwann sináptica no mielinizante, que lo aísla del resto del espacio extracelular (44).

4.2.1 Lamininas

Son quizás las proteínas de matriz extracelular mejor estudiadas, compuestas por tres subunidades (cadenas α , β y γ), cada una de las cuales tiene varias isoformas. Durante la embriogénesis temprana se expresa inicialmente laminina 111, la cual cambia en la edad adulta por laminina 211, 411 y 511 en localización extrasináptica y 221, 421 y 521 en la NMJ exclusivamente. Los receptores para lamininas en la fibra muscular esquelética son los distroglicanos y la integrina $\alpha 7\beta 1$. El distroglicano α está presente en fibras musculares maduras tanto en las sinapsis como fuera de ellas, y su ausencia es causa de distrofia muscular, así como la carencia de proteínas que se unen a él (distrofina, plectina1). La molécula está sujeta a complejas modificaciones postraduccionales, especialmente glicosilación con cadenas de manosa. Las integrinas tienen variaciones de su empalme en el dominio intracelular, con predominio de algunas formas en las sinapsis y otras fuera de ellas (44). La laminina 211, que predomina fuera de las sinapsis, y sus proteínas asociadas en la membrana son indispensables en el mantenimiento de la integridad de la membrana de la fibra muscular esquelética. La ausencia de laminina 211 causa también distrofia muscular, aunque puede ser compensada por sobreexpresión de otras lamininas, agrina, integrina $\alpha 7\beta 1$ y algunas enzimas. La subunidad $\alpha 2$ de la laminina tiene como receptor en la membrana presináptica a los canales de calcio voltaje – dependientes tipos N y P/Q.

4.3 Agrina

La agrina es una molécula de gran tamaño (400 Kd) de la familia de los proteoglicanos, compuesta por dominios de laminina de varias clases y moléculas similares (folistatina) con cadenas laterales de glucosaminoglucanos de heparán-sulfato que representan aproximadamente la mitad de su peso. Su configuración tridimensional es semejante a una varilla de unos 95 nm de longitud (44). Diversos tipos de células la secretan, en distintas isoformas; algunas isoformas se sitúan en espacios extracelulares, tales como láminas basales de músculo esquelético, vasos sanguíneos y glomérulo renal. También se expresa en alta concentración en el cerebro en desarrollo, principalmente durante el período de mayor sinaptogénesis, pero también de manera persistente en el cerebro adulto en regiones con alta plasticidad sináptica. En las neuronas cerebrales, la agrina pasa por una transcripción alternativa que modifica su dominio N-terminal, convirtiéndose en un proteoglicano transmembrana tipo II (27). Diversos estudios han establecido que la agrina cumple una variedad de funciones durante el desarrollo de sinapsis, el mantenimiento de las mismas y la plasticidad, y la señalización cerebral: regula la formación y estabilización de una clase de sinapsis excitatorias, regula la actividad sináptica excitadora y la plasticidad sináptica en varias regiones, incluyendo hipocampo y corteza (en ratones y ratas). La agrina transmembrana puede actuar como ligando, y también como receptor o co-receptor, gracias a su capacidad de unirse mediante sus cadenas laterales GAG (aunque no se han identificado ligandos para los cuales sea receptor) (27).

4.3.1 Organización sináptica en la unión neuromuscular

La agrina es fundamental para la agregación de receptores de acetilcolina en la placa motora (44). Las neuronas motoras secretan agrina en el proceso de formación de las uniones neuromusculares, en las cuales induce la estabilización de agregados de receptores de acetilcolina en la membrana de la fibra muscular, para inducir y mantener la diferenciación postsináptica. Este proceso está mediado por el receptor tirosinkinasa “específico de músculo” MuSK, y es fundamental para la formación apropiada de las uniones neuromusculares. La agrina se une a la proteína 4 relacionada con el receptor de LDL (Lrp4), lo cual causa la activación de MuSK, la cual activa la vía de la MAP kinasa, mediante la cual se controla la agrupación de receptores de Ach y la expresión génica específica de la unión neuromuscular (27)

4.3.2 Modulación de la señalización excitatoria en la corteza

En el cerebro se ha demostrado la presencia de agrina en sinapsis interneuronales. En rata y ratón, la isoformas de agrina cerebrales contienen los sitios Z necesarios para su

acción en la unión neuromuscular. Esto sugiere que la agrina podría actuar en el cerebro también como organizadora de sinapsis, tal como en la unión neuromuscular. Esta hipótesis se ve reforzada por la expresión de MuSK en neuronas del cerebro en ratas, en particular en hipocampo, corteza cerebral y cerebelo, a nivel de sinapsis excitatorias donde también se encuentra agrina. Además, se demostró que la inhibición de MuSK interfería con la consolidación de memoria en entrenamiento de evitación inhibitoria en ratas. Sin embargo, no se ha demostrado específicamente que la vía de activación de MuSK sea mediante la agrina, ni que la acción de MuSK en las sinapsis cerebrales sea la de estabilizar los grupos de receptores colinérgicos como en las NMJ. (27)

El único receptor funcional de agrina demostrado en neuronas es la subunidad $\alpha 3$ de la Sodio-Potasio-ATPasa ($\alpha 3$ NKA). Por medio de su interacción con ésta, la agrina inhibe parcialmente la actividad de la NKA, con lo cual disminuye el potencial de reposo y aumenta la frecuencia de potenciales de acción, lo que conlleva a una mejoría en la señalización sináptica excitatoria. Otra vía por la cual parece mejorar la señalización excitatoria es por la activación (posiblemente a través de Lpr4) de MuSK, que fosforila el factor de transcripción llamado “proteína de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico” (CREB), el cual a su vez parece incidir en la expresión de la proteína de unión al potenciador del factor de transcripción CCAAT β (C/EBP β). Tanto MuSK como CREB y C/EBP β se han implicado en los procesos de plasticidad sináptica asociada a los procesos de aprendizaje y memoria en ratas (aunque MuSK podría ser activado por otras vías distintas a la agrina y Lpr4) (27).

4.3.3 Modulación de la sinaptogénesis a través de filopodios

La agrina transmembrana aumenta la formación y la estabilidad de filopodios (precursores de espinas) en neuronas cultivadas, tanto en axones como en dendritas, lo cual conlleva a aumento definido en la formación de sinapsis. Una proteasa neuronal, la neurotripsina, se libera en los botones sinápticos de manera dependiente de la actividad y escinde la agrina en dos fragmentos, uno de 90 kilodalton y otro de 22 kilodalton (que consiste en el dominio G de la laminina C-terminal), proceso necesario para la producción de filopodios dendríticos en la potenciación a largo plazo y la plasticidad sináptica. Además, las cadenas laterales de glucosaminoglucanos (GAG) de la agrina juegan un papel importante en la inducción de filopodios, en un proceso que incluye la activación de Rac1 y Cdc42, moléculas de la familia de las GTPasas involucradas en la modulación del citoesqueleto de actina para formar filopodios. Por lo tanto, hay al menos dos vías por las cuales la agrina induce filopodios: una dependiente de la neurotripsina y otra de los GAG y las GTPasas tipo Rac (27).

*Aquí se evidencia un proceso de **divergencia** en las vías de señalización mediadas por agrina para la generación de filopodios, y también una **convergencia** de diversas moléculas señalizadoras sobre las GTPasas tipo Rac para controlar el citoesqueleto,*

efector final de la producción de botones sinápticos y espinas dendríticas, y por lo tanto de la sinaptogénesis.

*También cabe resaltar la **diversidad de funciones de la agrina, tanto espacial como temporalmente**: en las sinapsis excitatorias entre neuronas cerebrales y en la unión neuromuscular; en el período de formación de las NMJ y en la plasticidad sináptica asociada a procesos de aprendizaje.*

4.4 Semaforinas

La señalización por **semaforinas (Sema)** se ha estudiado ampliamente en los procesos de búsqueda de su blanco por parte los axones, evidenciando que actúan como señales que repelen el axón. Además, las semaforinas también se han visto implicadas en la **sinaptogénesis y otras funciones**. El receptor de semaforinas, **Nrp**, puede formar complejos con otras moléculas como plexinas (**Plxn**) y moléculas de adhesión celular de la superfamilia de las inmunglobulinas, que actúan como co-receptores. En estudios realizados en el oído del pollo en desarrollo (29) se analizó la expresión de **Sema3D**, su receptor **Nrp2** y **PlxnA1**, en respuesta al aumento de **Wnt9A**, una molécula de señalización corriente arriba. Los resultados mostraron que Sema3D está presente alrededor del tejido sensorial en los órganos vestibulares del pollo y puede **repeler las neuritas** del ganglio vestibular que expresan Nrp2 y PlxnA1 para que se alejen del epitelio no sensorial y se canalicen hacia las regiones sensoriales. Además, el patrón de expresión de los genes apuntados parece indicar que **Sema está implicada en la migración de células endoteliales al oído interno, la señalización de la sinaptogénesis entre las células ciliadas mecanorreceptoras y las neuronas aferentes**, y en la **formación de límites** entre dominios adyacentes en el sistema cócleo - vestibular del pollo (29).

5. Otras moléculas de señalización

5.1 Netrina -1

Antes de realizar sinaptogénesis propiamente dicha, el axón debe alcanzar su célula blanco, lo cual implica un proceso complejo de “encontrar su camino” a través de un medio extracelular, creciendo a lo largo de distancias considerables, y cruzando la línea media, para alcanzar conexiones apropiadas que forman circuitos altamente estereotipados para cada especie, aunque con variaciones interindividuales. Algunos de estos patrones de conectividad son altamente dependientes de estímulos del medio ambiente (p. ej vía visual).

El cono de crecimiento, mediante receptores transmembrana, detecta y responde a diversas señales externas desencadenando respuestas que incluyen endo y exocitosis, reorganización del citoesqueleto y cambios en la expresión y degradación de proteínas, además del direccionamiento hacia la señal (atracción) o en sentido contrario a ella (repulsión). Esto se logra tanto a través de cascadas químicas como de procesos de mecanotransducción que generan fuerzas de tracción sobre el cono de crecimiento.

Una de las moléculas señalizadoras que guían el crecimiento axonal es la **netrina-1**, la cual actúa **como atrayente y también como repelente** de los brotes axonales, en un proceso de regulación multifactorial y complejo. También participa en procesos como la ramificación axonal, migración celular, sinaptogénesis, supervivencia celular y regeneración axonal. Puede actuar en forma soluble (gradiente quimiotáctico) o unida a otras moléculas del medio extracelular (gradiente haptotáctico o adhesivo) (16).

La relación atracción – repulsión inducida por la netrina-1 funciona como un interruptor que puede ser activado de **cuatro formas distintas**, no excluyentes entre sí: La primera está dada por los **niveles de expresión de sus receptores** trans membrana (DCC, neogenina, UNC5, DSCAM) así como su internalización después de unirse a la netrina-1 y la activación de vías celulares que involucran proteinkinasa (PKA, PKC, PI3K). La netrina-1 induce dimerización de sus receptores; la formación de homodímeros tiene un efecto de atracción, mientras que la de heterodímeros favorece la repulsión.

La segunda manera es mediante **segundos mensajeros: AMPc** (relacionado con la **PKA**) y **calcio**, el cual es en parte proveniente del exterior y en parte liberado del retículo endoplásmico, en un mecanismo dependiente del GMPc; una relación AMPc/GMPc alta, así como el influjo de calcio, promueve atracción y una relación baja o la depleción de calcio promueve repulsión.

La tercera forma es el **gradiente de concentración de netrina-1** disuelta, la cual genera una respuesta bimodal, donde altas concentraciones promueven repulsión y bajas concentraciones promueven atracción, lo cual puede deberse a una afinidad diferencial de la netrina-1 por sus hemirreceptores, que los hace homo o hetero dimerizarse en función de las concentraciones de ellos y de la propia netrina-1.

La cuarta forma de activar el interruptor atracción – repulsión axonal depende del **medio extracelular**, específicamente de otros componentes presentes en él, tales, como **draxina, glucosaminoglucanos (GAGs)** (componentes importantes de la matriz extracelular) y **laminina** (ligando de la familia de las integrinas). Ésta última activa el interruptor de atracción a repulsión mediante entrada de calcio, en una vía que involucra **CaM kinasa II, calcineurina y protein-fosfata 1**. Dado que la netrina-1 se une a los GAGs, y que la laminina debe estar adherida al sustrato para producir el efecto de repulsión, esta vía de señalización podría darse probablemente por **mecanotransducción**. La netrina-1 adherida al sustrato al parecer es necesaria en un punto crucial del desarrollo axonal, que es el cruce de la comisura espinal, e involucra también a la miosina no muscular (MyoII) y a una kinasa de adhesión focal.

No es claro aún qué tan importantes son los mecanismos haptotáticos que involucran la netrina – 1 adherida versus los quimiotáticos (gradiente de concentración de netrina-1 soluble), pero ambos toman parte fundamental en el proceso de guía de los conos axónicos hacia sus blancos sinápticos.

Los receptores de netrina-1 tienen dominios extracelulares que se unen a ella para formar homodímeros, heterodímeros, e incluso multímeros o clusters, y dominios intracelulares que interactúan con proteínas efectoras a través de una gran variedad de cascadas de señalización.

5.2 Efrinas

Las efrinas son un **conjunto de ligandos** presentes desde los invertebrados (C. elegans, D. melanogaster) hasta los vertebrados, en los cuales forman un sistema de al menos 9 ligandos (6 clase A y 3 clase B) y al menos 15 receptores de efrinas (RE o Eph) que son proteínas transmembrana **miembros de la familia de receptores tirosinkinasa**. Las efrinas presentan una afinidad no específica por sus receptores, donde las efrinas-A interactúan con casi todos los receptores tipo EphA, las efrinas-B con los receptores tipo EphB y uno de tipo A, y sólo hay especificidad entre la efrina- A1 y su receptor EphA1. No son funcionales en forma soluble, sino incluidas en las membranas celulares, generando **interacciones ligando - receptor por el contacto célula a célula**, en una forma tal que **requieren formar multímeros o clusters** para efectuar su señalización. Esto da lugar a **sitios de señalización puntuales**, en zonas de contacto directo entre células o entre éstas

y axones. Aunque presentes en gran número de phyla, la homología de sus secuencias no está bien conservada (22).

La interacción de las efrinas con sus receptores Eph comprende **tres pasos**: inicialmente, la **unión ligando – receptor** (situados en membranas celulares adyacentes); en segundo lugar, la formación de **heterodímeros** y, por último, las interacciones complementarias para formar **multímeros**, que dan lugar a complejos funcionales de receptores y ligandos con **capacidad de señalización bidireccional**, lo que da lugar a **tres tipos de señalización (22)**:

Señalización hacia adelante, en la cual receptores Eph, que son receptores tirosinkinasa, se autofosforilan e interactúan con GTPasas de la familia Rho y con la vía de la MAPkinasa, promoviendo reorganización del citoesqueleto que resulta en colapso del cono de crecimiento y retracción de neuritas (**señales inhibitorias o de repulsión**).

Señalización reversa, en la cual las efrinas se fosforilan al unirse a sus receptores (al parecer por acción de receptores tirosinkinasa, como los del Factor de Crecimiento Fibroblástico o del Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas) y generan también cambios citoesqueléticos que promueven la **adhesión celular**, en parte mediante mecanismos que involucran la integrina $\beta 1$.

Señalización cruzada, dada por la interacción de los complejos efrina – receptor con otras proteínas de la superficie celular, dando lugar a un espectro funcional ampliado, que incluye **modificaciones de la actina del citoesqueleto**, **agrupación de los receptores NMDA** (relacionada con sinaptogénesis), e interacción con neurotrofinas para procesos de **crecimiento axonal, sinaptogénesis y plasticidad**.

Las efrinas y sus receptores están claramente implicados en los procesos del desarrollo neural, en el que **determinan patrones de organización celular y axonal** y **preservan estos patrones**, mediante un proceso de señalización complejo que incluye adhesión y repulsión. Se ha documentado su **participación en diferentes etapas del desarrollo del sistema nervioso**:

En la **estabilización de patrones tisulares**, manteniendo separadas poblaciones celulares adyacentes pero distintas mediante expresión complementaria de ligandos y receptores, y **generando límites** por repulsión o desadhesión, gracias a su interacción bidireccional.

En la **migración celular** durante el desarrollo embrionario temprano, tal como la migración de células de la **cresta neural** a sus destinos específicos en la mitad posterior de los somitas (ratón y pollo) o a sus destinos en los arcos branquiales (Xenopus).

En la **adhesión celular** mediada por integrinas, que coadyuva en procesos tales como angiogénesis, cierre del tubo neural y posicionamiento de neuroblastos de *C. elegans*.

En la **guía axonal**, ya que son uno de los principales grupos de moléculas que median la repulsión por contacto, dirigiendo el crecimiento de axones por rutas específicas (por ejemplo, el cruce de la línea media en axones comisurales, o el no cruce en vías ipsilaterales). Lo hacen mediante fenómenos **tanto de repulsión como de adhesión**.

En la **remodelación axonal**, una vez que ya los conos han alcanzado sus blancos, aseguran la precisión de la ramificación y la eliminación de segmentos axonales inapropiados. Esto se ha observado en las proyecciones retinotectales, la ramificación y poda de axones hipocampales, y también a nivel de la corteza y axones talamocorticales.

En la **formación de mapas topográficos**, en lo cual el sistema de las efrinas y sus receptores tiene un papel clave debido a su **expresión en gradientes**, provocando repulsión gradual. Este proceso se ha estudiado en la vía visual, de tálamo a corteza, de motoneuronas a músculos y en el sistema olfativo, entre otros, mostrando que es un **mecanismo ampliamente difundido de ordenación topográfica en el sistema nervioso**, con modelos complicados debido a gradientes de expresión superpuestos de ligandos y receptores, y a interacciones cruzadas entre ellos, que dan lugar a mecanismos tanto de atracción como de repulsión, que se suman entre sí dando como resultado un efecto final.

En la **sinaptogénesis**, como se ha documentado en las uniones neuromusculares y sinapsis centrales. El sistema de efrinas y sus receptores puede regular las propiedades estructurales y funcionales de las sinapsis mediante **morfología de las espinas dendríticas** y probablemente también puede modular la sinaptogénesis mediante señalización post-sináptica mediante **señales transmitidas al citoesqueleto por GTPasas de la familia Rho** y por **modulación de la entrada del calcio mediado por receptores NMDA**.

En la **plasticidad sináptica** y la **regulación de la maduración de sinapsis**, también gracias a su **interacción con el citoesqueleto**, que puede modificar factores como el transporte y agrupamiento de vesículas y agrupamiento de receptores para neurotransmisores, y modulación de los receptores NMDA. La regulación de éstos, probablemente mediante fosforilación, sensibiliza las neuronas al glutamato y promueve la entrada de calcio, que activa la fosforilación de factores de transcripción como CREB, que aumentan la expresión de proteínas implicadas en las sinapsis, generando un **efecto a largo plazo** que puede mediar procesos de memoria y aprendizaje.

De esta forma, el sistema de efrinas y sus receptores parece estar implicado en cada uno de los procesos del desarrollo neural, no sólo en la etapa embrio-fetal, sino en la plasticidad sináptica del adulto.

5.3 Citoquinas

El sistema hemolinfopoyético y el sistema nervioso tienen similitud en los mecanismos que regulan su desarrollo: Ambos se originan a partir de la proliferación de células madre pluripotentes, y la diferenciación se va dando por restricción del linaje gobernada por señales del microambiente celular. El papel de las citoquinas en el sistema inmune y hemolinfopoyético está ampliamente estudiado, así como su papel inmunomodulador en las respuestas inflamatorias a nivel del sistema nervioso central. Pero adicional a ello, las citoquinas también participan en la regulación de la morfogénesis y la maduración de sistema nervioso tanto central como periférico, así como algunos miembros de la superfamilia del factor de crecimiento transformante β (β TGF) (14).

5.3.1 Determinación de linaje, proliferación y supervivencia

La proliferación inicial de las células madre derivadas del tubo neural (NTSC) consiste en divisiones simétricas para aumentar su número, y posterior supervivencia y restricción de linaje inducidas por mitógenos como el factor de crecimiento epidérmico (**EGF**) y **β FGF**. Cuando ya hay células comprometidas hacia el linaje astrogliar, intervienen las citoquinas neuropoyéticas **CNTF** (factor neurotrófico ciliar), **LIF** (factor inhibitorio de leucemia) y **OM** (oncostatina M) potenciando el compromiso de estas células y promoviendo la formación de la glía radial a partir de progenitores multipotentes en la zona subventricular. En la diferenciación oligodendroglial se observa un patrón de progresión caudal – rostral, mediado por **PDGF**, **NT-3** (neurotrofina 3) e **IFG-1** (factor de crecimiento semejante a insulina tipo 1). La supervivencia de los progenitores oligodendrogliales requiere, además de los anteriores, la acción de **CNTF** e **IL-4** y citoquinas neuropoyéticas, lo cual indica un tema recurrente en el desarrollo del SN que es la interacción combinada de varias moléculas, algunas promotoras y otras inhibitoras. La diferenciación neuronal temprana es promovida por **IL-2** e **IL-4** y regulada negativamente por los factores de la **superfamilia β TGF** (en ratas). Las interleucinas **IL-5**, **7**, **9** y **11** promueven la diferenciación de neuroblastos con características como expresión de neurofilamentos, canales de sodio y potenciales de acción (14).

5.3.2 Supervivencia y proliferación de neuroblastos

Los neuroblastos nacientes sufren apoptosis en gran proporción (4). Para potenciar su supervivencia requieren de ciertas citoquinas específicas: **IL-3**, **4**, **5**, **7**, **8**, **10**, **GM-CSF**, **CSF1**, **SCF** y **FLT3L**, cuyo efecto de supervivencia es dependiente de la dosis y mediado bien sea por acciones directas, acciones paracrina o ambas, que en algunos casos se potencian entre sí. Además, algunas como **IL-8** y **10** estimulan el crecimiento axodendrítico (14).

5.3.3 Diferenciación neuronal

Para la diferenciación y maduración fenotípica se requiere la expresión y modulación de enzimas, neurotransmisores y neuromoduladores en cada subpoblación neuronal regional. En este proceso se ha documentado la participación de **CNTF** (expresión de tirosin – hidroxilasa en neuronas estriadas), **CNTF** y/o **LIF** (expresión de colinacetil-transferasa en neuronas de médula espinal, en conjunto con neurotrofina y efecto trófico y de supervivencia), **IL-3** y **GM-CSF**, **EPO** y **CSF-1** (expresión de descarboxilasa de ácido glutámico en neuronas septales de ratón). **TGF- β 2** y **β 3** potencian supervivencia de neuronas dopaminérgicas en cultivo, en sinergia con otras citoquinas, y modulan homeostasis del calcio.

Otro aspecto del crecimiento y diferenciación de los neuroblastos es la expresión de proteínas de neurofilamentos y el surgimiento de procesos axodendríticos. En esta etapa se ha visto participación de las citoquinas IL-6 y 11, G-CSF, CNT, LIF y OM, que inducen mayor formación de neuritas, y de otras que promueven los efectos de maduración. En estas acciones se observó dependencia de la dosis, selectividad por región y patrones característicos de la elaboración del proceso axodendrítico. Ciertas citoquinas promueven la supervivencia celular continua: CNTF, CT-SNC el IL-6.

Las etapas finales de la diferenciación neuronal comprenden la sinaptogénesis y la regulación de la excitabilidad eléctrica. CNTF regula la liberación de neurotransmisores en neuronas de *Xenopus* in vitro. Otras citoquinas promueven la expresión de potenciales de acción neuronales maduros mediados por canales de sodio, y otras causan inhibición de la potenciación a largo plazo en neuronas de hipocampo. Las células de la cresta neural pasan por una diferenciación de linaje controlado por las neurregulinas: factor de crecimiento glial (GGF) y moléculas del tipo de TGF- β (14).

Puede observarse que muchas citoquinas hemolinfopoyéticas e inflamatorias están también involucradas en las diversas etapas del desarrollo neural, desde la formación del tubo neural y la regionalización anteroposterior hasta la sinaptogénesis. La mayoría de los receptores activados por ellas no son receptores tirosin-quinasa, a diferencia de los receptores de neurotrofinas y factores de crecimiento clásicos. Hay considerable superposición de las acciones de las distintas citoquinas en el desarrollo neuronal, lo que sugiere que sus mecanismos de acción presentan un grado elevado de redundancia (14).

5.4 Factor de crecimiento semejante a insulina

El factor de crecimiento semejante a insulina tipo I (IGF-I) es fundamental en muchos órganos y tejidos, para el normal crecimiento y desarrollo. Tiene un papel importante en el desarrollo temprano del sistema nervioso, principalmente de forma **autocrina y paracrina, mediado por el receptor IGF1R**, según lo muestran múltiples estudios en ratones, y uno pocos en humanos. **“La señalización de IGF-I estimula la proliferación, supervivencia y diferenciación de cada uno de los principales linajes neurales: neuronas, oligodendrocitos y astrocitos”** (28). También influye posiblemente en las células madre neurales. Su papel **no parece ser el de determinante primario de la diferenciación y supervivencia, sino el de facilitador** de procesos determinados por otras señales, pero aun así es necesario para el normal desarrollo cerebral (la ausencia de su acción causa microcefalia). Su acción **varía según los mecanismos de señalización intracelular** en cada tipo de célula blanco, y en momentos precisos del desarrollo. La expresión de IGF-I en el SNC tiene picos temporales y espaciales relacionados con los procesos de neurodesarrollo, mientras que su receptor, IGF1R, se expresa en todas las células neurales. También se expresan de manera variable, en momentos y sitios específicos, una serie de proteínas de unión a IGF (IGFBP). Los experimentos han mostrado que la **acción del IGF-I en el aumento global de masa del cerebro** es proporcional a la duración y magnitud de su expresión, y parece estar mediado por moléculas reguladoras como la nestina y la metalotioneína-I. (28)

“El IGF- influye en todos los pasos de la neurogénesis, desde la proliferación de progenitores neurales, extendiéndose a través del crecimiento neurítico, la sinaptogénesis y la eliminación de neuronas por apoptosis” (28). El IGF-I estimula la **proliferación de las células madre neurales pluripotentes** de la zona ventricular y subventricular acortando la fase G1 del ciclo celular y aumentando el número de células que entran en el ciclo. También tiene **acción antiapoptótica** que promueve la supervivencia de neuronas. Estos efectos parecen ser ejercidos de modo diferencial en distintas regiones del cerebro (más prominentes en la corteza motora que en la sensorial), al parecer en relación con la capacidad de respuesta de cada región. El IGF-I estimula la **diferenciación neuronal**, con aumento del tamaño del soma, del número de dendritas y del ensamblaje de conos axonales de crecimiento, así como **aumento del número de sinapsis**. El IGF-I también es necesario (aunque al parecer no indispensable) para el **desarrollo glial normal y la mielinización**, ya que promueve la diferenciación y la supervivencia de oligodendrocitos por inhibición de apoptosis, mayor expresión de genes de proteínas asociadas a mielina, con extensión de mielinización a axones más delgados y mayor número de capas de mielina. También se ha demostrado participación del IGF-I en la **proliferación y diferenciación de astrocitos**, con mediación de la proteína ácida fibrilar glial.

Aquí se puede observar un ejemplo importante de divergencia. En primero lugar, el IGF-I actúa en muchos tejidos diversos, con efectos de conjunto similares, pero manifestados de

modo diferente en cada órgano. Dentro del desarrollo del sistema nervioso, actúa sobre varios tipos de células; en la mayoría de estas acciones su señal está mediada por el receptor IGF1R (en algunos casos IGF2R), y sin embargo su efecto sobre las células es distinto, por lo que la diversidad de cascadas de señalización intracelular entre los diferentes tipos de células, o en un mismo tipo en diferentes momentos del desarrollo, es determinante para el resultado final sobre el fenotipo celular.

6. El citoesqueleto como efector

En el proceso de desarrollo de redes neurales se produce el **crecimiento axonal** a través de largas distancias bajo la guía de señales complejas, el **reconocimiento de su blanco apropiado** entre muchos posibles y la **formación y estabilización de sinapsis**. El **citoesqueleto** se ha evidenciado como uno de los **efectores más importantes** de distintas vías de señalización en el desarrollo neural, y se han identificado numerosas proteínas asociadas a su función y regulación. El citoesqueleto de actina fibrilar (actina-F) y los microtúbulos (MT) son **esenciales para la formación de axones y dendritas**, la **búsqueda** del blanco sináptico apropiado por los axones y la **sinaptogénesis** (23).

“El **citoesqueleto de actina desempeña un papel fundamental en la formación, eliminación, motilidad y estabilidad de las espinas dendríticas, así como en la regulación de su tamaño y forma**. La modulación de la dinámica de la actina impulsa los cambios morfológicos en las espinas dendríticas que están asociadas con la alteración de la fuerza sináptica.” (7).

Las redes de actina y microtúbulos son **estructuras altamente dinámicas**, que continuamente pasan por fases de ensamblaje y desensamblaje. Cada microtúbulo consta de 13 protofilamentos, los cuales se componen de dímeros de tubulina α y β polimerizados, que se van agregando (o desagregando) en el extremo “positivo” del polímero, en un proceso aleatorio de “inestabilidad dinámica” en el que los MT crecen y decrecen. Este proceso está influenciado por las **Proteínas Asociadas a Microtúbulos (MAP)**, las cuales modifican la frecuencia y la velocidad de desagregación y agregación (“catástrofe” y “rescate”) y modulan así la estabilidad de los MT. Se conocen tres tipos de MAP, todos los cuales se han visto implicados en la sinaptogénesis: **MAP motoras**, como **dineína** y **kinesina**, que transportan moléculas hacia y desde el soma celular; **MAP estructurales (MAP1B, Tau)**, que estabilizan los MT en “paquetes”; y **MAP de interacción**, que actúan en el extremo “positivo” para regular el ensamblaje y desensamblaje y unir los MT a otras estructuras, incluyendo la actina (23).

Los monómeros de **actina globular** (actina-G) se ensamblan en polímeros helicoidales largos polarizados para constituir los filamentos de **actina fibrilar** (actina-F). Los nuevos monómeros se agregan principalmente en el extremo “positivo”, con púas, en un proceso dependiente de ATP. Muchas **proteínas asociadas a la actina** regulan el ensamblaje, la ramificación y la formación de nuevos filamentos. Otras proteínas, denominadas **proteínas de reticulación de actina**, organizan los filamentos en haces. Y otro grupo más de proteínas, del cual se conocen cada vez más ejemplos, une los filamentos a otras estructuras como los MT y la membrana celular. “**Todos estos grupos están implicados en la sinaptogénesis, desde la formación de filopodios hasta la estabilización de las sinapsis y la plasticidad dependiente de actividad**” (23). Entre las moléculas que

regulan la polimerización y estabilización de la actina también se incluyen **miembros de la familia Rho de pequeñas GTPasas**, que a su vez modulan la fosforilación de la proteína **cofilina** que se une a la actina, influyendo en la estructura y dinámica de las espinas dendríticas (7).

Varios estudios sobre el tema han sido realizados en **uniones neuromusculares de Drosophila en estado embrionario**, modelo en el cual se facilita el uso de técnicas de genética molecular para determinar el papel de proteínas individuales, y los hallazgos son, al menos en parte, extrapolables, ya que **la sinaptogénesis de vertebrados e invertebrados comparte componentes y vías de señalización comunes**.

En el proceso de búsqueda de su blanco el cono de crecimiento axonal emite **filopodios ricos en actina** hacia su medio extracelular, los cuales detectan señales y las transducen a modificaciones en la actividad intracelular. En la punta de los filopodios se localizan receptores y moléculas de adhesión tales como Ena/VASP, integrinas y forminas. La interacción de los filopodios con moléculas de la matriz extracelular puede servir como **anclaje**, generando una **tensión mecánica** del citoesqueleto, que genere desplazamiento del cono. Los microtúbulos proporcionan una **estructura axonal** estable, y también pueden transportar componentes de señalización hacia y desde la membrana, participando así en la **transducción de señales**.

La célula postsináptica (miocitos en los estudios en *Drosophila*) también extiende filopodios muy dinámicos basados en actina, llamados **miopodios**, que inicialmente se extienden al azar y luego se circunscriben al sitio de contacto con la motoneurona, entrando en contacto con los filopodios del cono de crecimiento. Al igual que éstos, los miopodios también presentan receptores y tienen la capacidad de reconocer señales y diferenciar su blanco, y al encontrarse unos con otros se estabilizan en una alta proporción. El crecimiento del cono axónico se detiene y el cono se expande en varicosidades **mediante remodelación del citoesqueleto** subyacente.

Una vez que se ha dado el reconocimiento entre el axón y la célula blanco, tanto la célula presináptica como la postsináptica realizan modificaciones de membrana que requieren generación y transporte de materiales: en la primera aparecen las **zonas activas**, y en la segunda las **densidades postsinápticas** y un **retículo subsináptico**, haciendo que “la liberación del neurotransmisor y la localización del receptor se produzcan dentro de varios minutos después del contacto inicial entre una neurona y su objetivo” (23). Se ha demostrado que la actina y los microtúbulos están implicados en las modificaciones que aparecen tanto en la célula presináptica como en la postsináptica, y que diversas vías de señalización actúan como reguladoras de este proceso en el marco espacial y temporal. **“Las redes de actina son críticas para la formación adecuada de terminales presinápticas, así como para el ensamblaje de la maquinaria necesaria para la neurotransmisión” (23).**

En la terminal **presináptica**, la actina se puede asociar con filamentos de **sinapsina**, actuando como parte del sistema que permite la agrupación y liberación adecuada de las vesículas sinápticas. En la contraparte **postsináptica**, la actina fibrilar rodea las densidades postsinápticas e interactúa con proteínas de la familia de la **espectrina** para el agrupamiento de receptores.

“Durante la sinaptogénesis, los microtúbulos son visibles como un paquete que se extiende a lo largo del eje sináptico de la unión neuromuscular y forman un bucle en los botones terminales” (23)

Las señales de crecimiento son transmitidas en buena parte por **endocitosis de los receptores activados**, proceso que también involucra el citoesqueleto.

Los estudios de la unión neuromuscular en *Drosophila* ha mostrado una **señalización bidireccional** entre la neurona y la célula muscular blanco, en la cual ambas vías son fundamentales para regular el establecimiento de la sinapsis, su crecimiento y maduración. La señalización **anterógrada se da mediante la vía de Wnt** y su receptor Frizzled2 (Fz2), la cual incide en varias cascadas intracelulares que controlan los elementos del citoesqueleto, microtúbulos y filamentos de actina. La señalización **retrógrada está mediada por Gbb (homólogo de BMP)**, cuyos receptores al ser activados pasan por un proceso de endocitosis y controla procesos de expresión génica que afectan proteínas reguladoras del citoesqueleto. La liberación de Gbb en la célula postsináptica a su vez está regulada por el citoesqueleto de actina.

La proteína **MAP1B**, cuyo homólogo en *Drosophila* es **Futsch**, es uno de los principales efectores citoesqueléticos ya que regula la dinámica de los microtúbulos, y constituye un punto importante de convergencia de las cascadas de señalización hacia la remodelación del citoesqueleto, como se puede observar en las gráficas siguientes:

Otro efector es la proteína **Nwk**, que regula la polimerización de la actina y la estabilización de microfilamentos, en asociación con otras proteínas como dinamina, Dap 160 y y CDC42 de este modo controla procesos como la endocitosis de receptores activados.

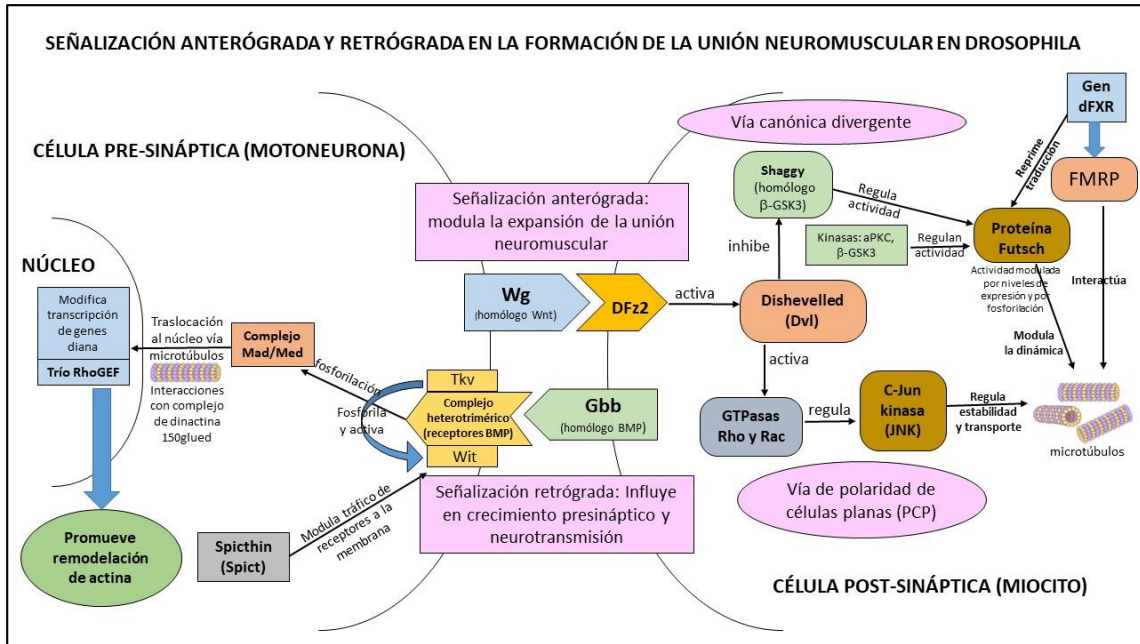


Figura 5: Diseño original de la autora.

Se observa un proceso de **convergencia** de diversas vías de señalización sobre un efector común a todos los pasos clave de la sinaptogénesis, que es el citoesqueleto. Además, la bidireccionalidad de la señalización, que es clave para la regulación recíproca entre la célula presináptica y postsináptica.

7. Papel de la neuroglía

Es bien conocido que la glía, que constituye el 50 a 90% de las células en el SNC, lejos de ser simplemente un “pegamento” cumple importantes funciones en el sistema nervioso, indispensables para la normal actividad neuronal. Entre las acciones demostradas de las células gliales está la eliminación de neurotransmisores liberados durante la transmisión sináptica, la regulación de los iones en el líquido extracelular que baña las membranas pre y postsináptica, la eliminación de desechos celulares, la formación de la barrera hematoencefálica, la mielinización y su papel como células madre neurales (glía radial) en las etapas iniciales del desarrollo del SNC.(13)

Los astrocitos controlan los niveles de glutamato por eliminación rápida después de su liberación, evitando la excito-toxicidad.

A estas funciones, se agrega además la **liberación de neuromoduladores y factores de crecimiento neural que regulan la sinaptogénesis y la plasticidad sináptica**. La formación de las primeras sinapsis corticales coincide en el tiempo con la aparición de astrocitos. Éstos secretan factores difusibles que actúan en la creación, mantenimiento y reconstitución de las sinapsis, entre ellos **colesterol** en complejo con **apolipoproteína E**. También secretan **trombospondinas 1 y 2**, proteínas de la matriz extracelular que promueven la sinaptogénesis tanto in vitro como in vivo, y otras moléculas.

En los mamíferos, toda la corteza cerebral se origina en las **células progenitoras neurales** que forman una capa en la zona ventricular (VZ), proliferan y dan origen en forma secuencial a **neuronas, astrocitos y oligodendrocitos**. La **glía radial**, población de **células madre neurales embrionarias**, forma una especie de andamiaje desde la VZ hasta la superficie del cerebro, que guía las neuronas en desarrollo en su migración a su destino cortical. En el cerebro adulto permanecen algunas células madre que mantiene potencial neurogénico, al parecer derivadas de la glía radial. Además, las células endodiales que expresan CD133, que tapizan los ventrículos laterales, pueden ser células madre multipotentes quiescentes, capaces de diferenciarse a astrocitos SVZ de división activa precursores de múltiples tipos celulares (13).



Figura 6: Diseño original de la autora.

La neurogénesis antecede a la gliogénesis. En los períodos tempranos de proliferación de las células de la VZ la transcripción de STAT1/3 (necesaria para la astrogliogénesis) está suprimida por factores epigenéticos tales como metilación del DNA, neurogenina 1 y 2 (factores de transcripción hélice-asa-hélice). Además, se mantiene el complejo CBP/p300 – Smad1 lejos de las STAT, lo que impide la activación de la diferenciación glial. Las regiones promotoras de muchos genes específicos gliales, como Gfap, son metiladas durante el período neurogénico temprano, con lo cual se evita la acción de factores de transcripción como los STAT, y luego son desmetiladas al iniciarse la gliogénesis. La diferenciación glial precoz también es evitada por las DNA metiltransferasas Dnmt1 y Dnmt3a; mientras que la Dnmt1 mantiene el patrón de metilación de todo el genoma, la Dnmt3a junto con la histona H3-lisina-9-dimetilasa (G9a) se dirigen principalmente a los genes de diferenciación gliales, reprimiendo sus promotores mediante hipermetilación y modificación de las histonas. Para la diferenciación astrogliogénica, es clave la vía de señalización JAK-STAT, inducida por LIF (factor inhibidor de la leucemia) y sus receptores LIFRb y gp130, así como la molécula de señalización intracelular STAT3. La señalización por Notch requiere activación previa de la vía JAK-STAT.(13)

La diferenciación de oligodendrocitos (paso previo a la mielinización) comienza después de que la mayoría de las neuronas corticales han migrado a sus posiciones, están rodeadas de astrocitos y han desarrollado sinapsis funcionales. Los **factores Bhlh Olig1 y Olig2** son necesarios y suficientes para esta diferenciación, aunque también se expresa el **PDGFR α** (receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas). Corriente abajo de Olig1 y 2 la señal es mediada por la secreción local del morfógeno **Shh** (erizo sónico). Las primeras células precursoras neurales que coexpresan **Olig2** y **NGN2** se convierten en neuronas motoras, mientras que los que coexpresan **Olig2** y **NKX2.2** adoptan fenotipo de oligodendrocitos. Olig2 funciona como represor de transcripción que inhibe la transformación hacia astrocito. La señalización por Shh se equilibra por señales inhibitorias de las BMP para promover la astrogliogénesis (13)

8. Micro RNAs: la epigenética.

Los micro RNAs (miRNAs) son transcritos de segmentos de DNA no codificantes (intrones), de 20 a 25 nucleótidos de longitud, presentes al parecer exclusivamente en metazoos, en número que aumenta al crecer la complejidad de los organismos, y hacen parte de los complejos mecanismos que regulan la expresión de los genes. Muchos miRNAs están significativamente **conservados a lo largo de la evolución**, o al menos la complementariedad entre los miRNAs y mRNA blanco. Su papel hasta ahora conocido es el de **reguladores post-traduccionales de la expresión génica** que pasan al citoplasma y se unen a RNAs mensajeros específicos, por complementariedad de secuencia, inactivándolos. Con frecuencia, sus mRNA blanco son factores de transcripción, por lo cual generan, además de una modulación de la expresión génica, efectos de retroalimentación positiva o negativa (aumento o inhibición) sobre la transcripción del propio miRNA. Otro posible blanco son los mRNAs que codifican enzimas, que pueden ser reguladas a la baja de este modo, de una forma no lineal, sino en una curva sigmoidea. Los mRNA blanco de los miRNAs no son únicos, sino constituyen **redes** que complejizan la regulación de la expresión de los genes en patrones espaciales y temporales, en especial durante los procesos de la ontogénesis. Los miRNAs han mostrado ser un **punto clave de modulación de la diversidad filogenética**, ya que con un genoma dado relativamente limitado las variantes de expresión pueden dar lugar a una amplia gama de fenotipos. (15).

Los miRNAs son abundantes en el sistema nervioso, y **controlan casi cada faceta de su desarrollo**, pudiendo servir incluso como marcadores de algunas etapas. Se ha observado su papel en la formación del eje anteroposterior de las estructuras del tubo neural mediante su regulación de los genes Homebox, en la diferenciación de las neuronas gustatorias de *Caenorhabditis elegans*. También, fuera del SN, en procesos de represión de la pluripotencialidad en células madre humanas y en inducción de la meiosis en oocitos de *Xenopus*. En estos casos, los miRNAs parecen generar un sistema de doble retroalimentación que lleva a un equilibrio con dos posibles estados estables, sin opciones intermedias, **mecanismo que asegura que las células mantengan un estado de diferenciación definido**. Se ha evidenciado la función de los miRNAs en la **definición de la identidad neuronal** mediante la supresión de la traducción de proteínas no neurales, y en la **regulación de las sinapsis** mediante control traduccional local.

Tres miRNAs (miR-134, miR-138 y miR-132) se han identificado como elementos de control en la sinapsis, y todos tienen sitios de unión altamente conservados para sus mRNA blancos.(15). Sus vías de regulación se resumen en el siguiente gráfico:

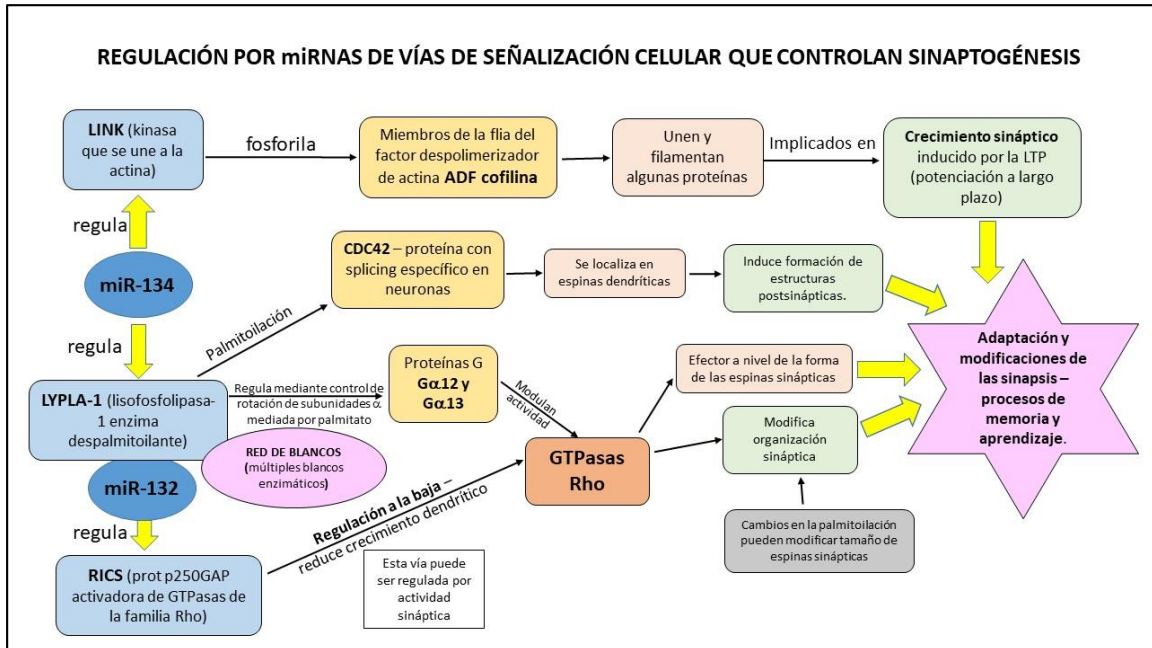


Figura 7: Diseño original de la autora.

En conjunto, estos ARNm, cuando se liberan de su estado silenciado, generan una respuesta regulada de manera coordinada a la estimulación sináptica. La dinámica del control es muy diferente cuando el blanco es una enzima (casos descritos) que cuando es un factor de transcripción, ya que hay una red de enzimas blanco, y pequeños cambios en una secuencia o nivel de miARN pueden modificar toda la red de sustratos enzimáticos. (15)

*Se evidencia convergencia de las vías de señalización sobre ciertas enzimas clave que controlan el aparato efector de la modificación de las espinas, que es el citoesqueleto. En el desarrollo del sistema nervioso se evidencia la capacidad regulatoria de los miRNAs para generar **divergencia fenotípica** a partir de un genoma base limitado, lo cual constituye una de las bases de la plasticidad sináptica.*

9. Modelos de neuroplasticidad

El concepto de neuroplasticidad es fundamental en la comprensión moderna del sistema nervioso, su complejidad y sus propiedades. En esencia, la plasticidad es la cualidad del sistema nervioso de ser siempre inacabado, siempre perfectible y siempre adaptable a las circunstancias cambiantes tanto del organismo como del medio externo. Esta adaptabilidad y posibilidad de cambio varían con la edad, y a lo largo del desarrollo presentan épocas de mayor cambio, que son los denominados períodos críticos, o períodos sensibles. La plasticidad neuronal está en gran medida modulada y condicionada por la glía, gracias a su papel de inductora y mantenedora de la diferenciación neuronal. La plasticidad sináptica hace referencia a la capacidad de las neuronas para establecer incesantemente nuevas conexiones y circuitos, no sólo en la formación de sinapsis, sino también en su desaparición o poda, y principalmente en la variación del tráfico sináptico relativo, que va creando “camino preferenciales” de conducción de impulsos. No todas las sinapsis tienen la misma importancia en el estado eléctrico general de una neurona, por lo que se ha desarrollado el concepto de “peso sináptico”, el cual varía en el tiempo y modifica la interconexión entre las neuronas, aún si no se toma en cuenta la formación de nuevas sinapsis o su desaparición (11).

9.1 Plasticidad computacional

El psicólogo norteamericano William James, en 1890, propuso un concepto de **plasticidad** basado en el surgimiento de “rutas” a través del cerebro por repetición de hábitos (sin conocer las sinapsis, ya que creía en la teoría de Golgi de la continuidad estructural entre las neuronas). Pero el concepto de las neuronas como entidades dinámicas se remonta a Ramón y Cajal (1894), quien consideraba que los contactos entre los axones terminales y el soma y las dendritas podía perderse por retracción protoplasmática, y las neuronas se expandirían y retraerían de forma activa. Esta hipótesis la comprobó parcialmente en estudios con lagartos, en los cuales demostró que la exposición de varias horas a bajas temperaturas producía disminución en la longitud de las dendritas. De manera consiguiente, especuló que actividad de la mente se basaba en expansión de las conexiones existentes entre neuronas y la formación de nuevas conexiones y la pérdida de otras. Puede decirse que Cajal veía en las neuronas y sus conexiones, elementos fluidos que realizaban intercambios químicos y morfológicos, siendo así precursor del concepto moderno de neuroplasticidad (30).

Desde los trabajos de investigadores como Hodgkin y Huxley (modelo matemático del potencial de acción), Hubel y Wiessel (columnas corticales de la corteza visual), Marr (modelo computacional de la actividad neuronal), y otros se han venido proponiendo

modelos cada vez más complejos de las interacciones entre neuronas, de cómo éstas configuran redes y almacenan, procesan y transmiten información, para llegar a modelos computacionales y multicompartimentales biológicamente realistas. A partir de 1985 se introdujo el término **neurociencia computacional** (atribuido a Eric L. Schwartz) para designar una rama interdisciplinar del conocimiento que conjuga neurociencias, ciencias de la cognición, matemáticas, biofísica, ingeniería, teoría de sistemas y computación. Con este término se tituló, además, el libro que recoge las actas de la conferencia en que se definió (System Development Foundation, California, MIT press, 1990). El modelo de la neurociencia computacional se basa en las características biológicas del sistema nervioso desde propiedades eléctricas de las membranas celulares e interacciones bioquímicas de proteínas, pasando por la arquitectura topográfica de las columnas y los fenómenos de conectividad de redes y oscilación de las mismas, para llegar a proponer hipótesis fundamentadas sobre procesos neurales como aprendizaje y memoria. La neurociencia computacional puede servir como fuente de hipótesis que se puedan comprobar experimentalmente, o bien como medio de comprobación (por medio de modelos computacionales) de otras hipótesis (43).

El desarrollo de modelos biológicamente plausibles tiene en cuenta desde las propiedades de las neuronas individuales, que son considerablemente complejas desde el punto de vista biofísico. Desde el modelo original de Hodgkin y Huxley que relacionaba sólo dos corrientes iónicas de canales voltaje-dependientes (sodio y potasio), se ha avanzado mucho en el estudio de los canales iónicos y sus corrientes, los cuales comprenden una amplia gama, permitiendo configurar modelos capaces de predecir, además de las características cualitativas del potencial de acción y el ritmo de actividad eléctrica, otras características como la adaptación y la derivación que dependen de la modulación de las corrientes. Las propiedades geométricas de las neuronas, en términos de la distribución y tamaño de las dendritas y espinas también se estudian como un factor modulador de la actividad neural. La migración neuronal, el desarrollo de los axones y dendritas, la orientación axonal hacia su destino para lograr las conexiones adecuadas y la formación de sinapsis son objeto de estudio con el fin de perfeccionar el modelo. En este campo, se ha formulado la **hipótesis del cableado mínimo**, que postula que en la formación de las ramificaciones y conexiones axodendríticas se sigue la pauta del mayor almacenamiento de información con el mínimo consumo de recursos. Con base en esta hipótesis se han propuesto **modelos de procesamiento sensorial** basados en la codificación eficiente. Hay dos tipos de modelos sensoriales: los **modelos teóricos de la percepción como función** y los modelos biofísicos de subsistemas e **integración de la información sensorial** mediante inferencia bayesiana para generar una percepción del mundo físico (43).

Mientras una aproximación tradicional a la comprensión de los procesos de memoria y aprendizaje se basa en los mecanismos de fijación de contenidos, se han propuesto otros **modelos funcionales**, tales como la red de Hopfield, para comprender las propiedades asociativas de la memoria en sistemas biológicos **con base en la teoría de oscilaciones en redes y la actividad persistente**, que captan algunas características de la actividad

de la corteza prefrontal en el contexto del aprendizaje y la memoria. En cuanto al problema de cómo se mantiene y cambia la memoria biológica a través de escalas temporales múltiples, se ha formulado una hipótesis en términos computacionales sobre “cascadas de plasticidad”, basados en modelos estereoquímicos de los receptores de acetilcolina y las sinapsis. La estabilidad de las sinapsis determina en parte la consolidación de la memoria. Los modelos de redes neurales artificiales tienen conexiones escasas y específicas, que contrastan con la complejidad de la conectividad neural biológica. Por lo tanto, no es claro si estos modelos reflejen realmente el flujo de información en las redes neuronales vivas, y si los patrones de conectividad específica pueden ser tratados como funciones computacionales (43).

9.2 Sistemas disipativos y autoorganizados

Un sistema vivo es abierto, lo cual significa que intercambia materia y energía con el medio que lo rodea, y este flujo constante es el que mantiene el cambio, y paradójicamente, la estabilidad, la cual **no es lo mismo que equilibrio**. Una característica de los sistemas vivos es la integración entre estabilidad y cambio, dos propiedades que a primera vista parecen opuestas. El concepto de **estructura disipativa**, desarrollado por Ilya Prigogine, según lo expuesto por Capra, expresa esta dualidad de tendencias con el respaldo de modelos matemáticos, y revoluciona la noción tradicional de que una estructura estable es estática. Las leyes clásicas de la termodinámica y la mecánica newtoniana no son suficientes para comprender los sistemas vivos, que muestran una estabilidad alejada del equilibrio, por lo cual en tiempos recientes Prigogine y otros autores han desarrollado modelos matemáticos de complejidad basados en ecuaciones no lineales que describen mejor los procesos vitales (40).

Un sistema alejado del equilibrio puede variar su comportamiento en formas y direcciones no predecibles y no determinadas, a partir de los llamados “puntos de bifurcación”. El aumento de la entropía predicho por la termodinámica no necesariamente significa aumento del desorden. De hecho, los seres vivos mantienen un alto grado de orden interno (menor entropía) en su estado estable alejado del equilibrio. En ellos, el equilibrio significa aumento de entropía y cesación de los procesos vitales (40).

Capra propone que los sistemas vivos se pueden entender dentro de un marco de **tres elementos: patrón, estructura y proceso**, que son interdependientes entre sí. El patrón es la **autopoiesis o autoconstrucción** (según la teoría de Maturana y Varela), la estructura es una **estructura disipativa** y el proceso que los relaciona es la **cognición**. Según esta teoría, el concepto de cognición va mucho más allá del significado que habitualmente se le da al término, puesto que no requiere de cerebro, ni siquiera de sistema nervioso, y todos los procesos vitales son en esencia procesos de cognición.

El patrón de autopoiesis, según Maturana citado por Capra, es el de una red en que la función de cada componente es participar en la producción y/o transformación de otros componentes de la red, la cual es producida por sus componentes y a la vez los produce (40). Los seres vivos, desde la célula más simple en adelante, pueden ser definidos como sistemas autopoieticos de complejidad creciente.

10. Conclusiones

10.1 Plurifuncionalidad evolutiva de las moléculas de señalización.

Las moléculas señalizadoras desempeñan diversos papeles en las distintas etapas del desarrollo neural, generando una **divergencia funcional** muy importante, en la cual un número relativamente escaso de moléculas regula un conjunto muy diverso de procesos. Moléculas muy antiguas filogenéticamente encuentran nuevos usos y funciones a medida de la complejidad del sistema nervioso crece. De esta forma, partiendo de una cantidad limitada de genes se logra una amplia variedad de efectos funcionales, para dar lugar la regla que se observa en el sistema nervioso central a través del espectro filogenético: **conservación genética** (conjunto básico de genes asociados a estructura y actividad de las neuronas, incluyendo los que codifican proteínas sinápticas) **y diversidad morfológica**.

Si se analiza el neurodesarrollo como un proceso dado por etapas, casi todas las moléculas de señalización van a influir en varias de esas etapas, a través de las mismas o distintas vías, pero con resultados distintos según la etapa, debido a otros factores de regulación.

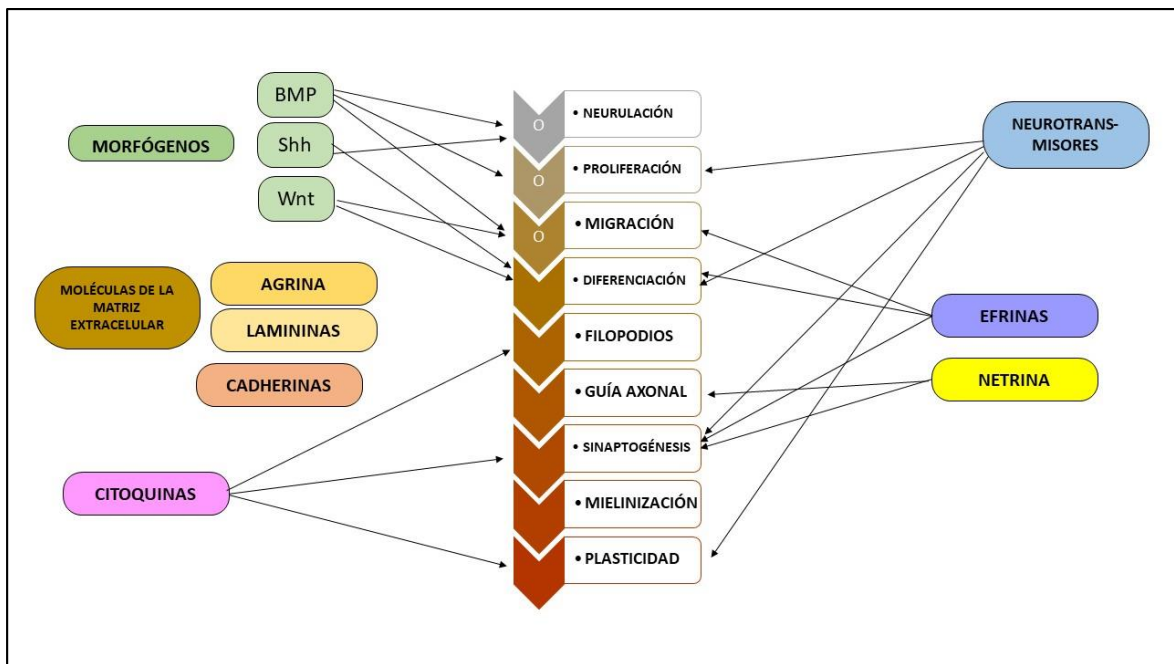


Figura 8: Diseño original de la autora.

10.2 Señalización multidireccional

Las sinapsis son vías de comunicación **multidireccionales** cuyo papel va mucho más allá de transmitir la señal neuronal de un potencial de acción. En ellas, la secreción de neurotransmisores y neuromoduladores por parte de la célula presináptica cumple labores de modulación a nivel de la célula postsináptica, mientras que también se da un proceso de señalización retrógrada que retroalimenta la sinapsis, modulando la formación y mantenimiento de los botones. Además, están implicadas también las células gliales adyacentes, mediante la secreción de neuromoduladores que modifican las propiedades de la sinapsis, entre otras funciones. **Esta comunicación multidireccional no sólo se da en las sinapsis desarrolladas, sino de manera muy significativa durante la sinaptogénesis.** La interacción recíproca entre axón y célula postsináptica (ya sea fibra muscular en el caso de las uniones neuromusculares, o espinas dendríticas de otra neurona) es fundamental para el establecimiento y maduración de la sinapsis. Casi podría decirse que hay un “diálogo” entre células, que incluye no sólo las neuronas sino también las células gliales, las cuales mantienen el medio extracelular adecuado en el espacio sináptico y mantienen la diferenciación, trofismo y supervivencia de las neuronas.

Asimismo, esta señalización de “doble vía” se extiende a un nivel supracelular, de tal manera que las regiones del encéfalo interconectadas entre sí interdependen mutuamente para su desarrollo y funcionalidad.

10.3 El citoesqueleto, efector clave del neurodesarrollo.

El análisis de las vías de señalización estudiadas muestra una **convergencia global** hacia las proteínas que modifican la polimerización y despolimerización de la actina y aquellas que regulan la formación y estabilización de los microtúbulos, tanto para las modificaciones en las células presinápticas como postsinápticas. **El citoesqueleto es un efector primordial** en cada una de las etapas del neurodesarrollo, desde la migración de los precursores neurogliales a partir de la zona ventricular, pasando por el crecimiento dirigido axonal, la formación de las estructuras subcelulares pre y post sinápticas tales como los botones y las espinas, el posicionamiento de los diversos tipos de receptores sobre la membrana, la liberación de vesículas y la consolidación de las sinapsis, así como las modificaciones de las sinapsis asociadas con la potenciación a largo plazo.

Esto no es un hecho excepcional, teniendo en cuenta el papel preeminente del citoesqueleto en diversos tipos celulares y sus procesos fisiológicos, tales como la emisión

de pseudópodos que permite el movimiento ameboide en leucocitos y macrófagos y la circulación intracitoplasmática en muchos tipos de células. Sin embargo, la comprensión profunda del papel del citoesqueleto en los procesos del neurodesarrollo podría llegar a ser fuente de nuevas aproximaciones terapéuticas para condiciones en las cuales los procesos del desarrollo se ven interrumpidos o alterados.

10.4 Regulación multidimensional

Las interacciones ligando – receptor que gobiernan los cambios celulares en el desarrollo neural se dan de manera exquisitamente regulada, tanto en el espacio como en el tiempo. En términos de la **dimensión espacial**, se observan señales específicas que modifican el desarrollo de poblaciones determinadas de células en regiones precisas del sistema nervioso. En la **dimensión temporal**, se pueden evidenciar diferentes resultados de la acción de cada vía de señalización en cada etapa del desarrollo, y ventanas de sensibilidad para determinados efectos. La regulación de estas interacciones es **multidimensional** en varios sentidos.

En primer lugar, hay **regulación de la expresión génica** tanto de las moléculas señalizadoras como de sus receptores, y de las enzimas de las vías de señalización, así como las enzimas efectoras de acciones concretas sobre el citoesqueleto y la membrana. Además, hay **regulación postransduccional**, tal como la ejercida por miRNAs, y **regulación por parte de correceptores y cofactores** que deben estar presentes para que la interacción tenga efecto. Los procesos de regulación están a su vez sujetos parcialmente a **bucles de retroalimentación**, bien sea positivos o negativos, de sus productos finales y de los productos de otras vías de señalización, lo que lleva a una amplísima variedad de posibilidades de graduación y modulación de los efectos.

A manera de ejemplo, si se toma una sola molécula señalizadora en una célula específica, su producción, transporte, almacenamiento y liberación pueden ser regulados para determinar **un patrón final de liberación** que puede variar ampliamente. Una vez liberado el ligando, su **interacción con el receptor** está condicionado a la presencia y concentración de éste en la membrana y su agregación con correceptores, lo que da lugar a una variación aún mayor de la señal. Y la unión del ligando al receptor puede poner en marcha varias **cascadas intracelulares**, que a veces compiten entre sí o tienen efectos contrarios, o bien amplían el abanico de acciones, estando a su vez cada elemento de cada cascada sujeto a regulación. De esta manera se logra, partiendo de una sola molécula, un espectro amplísimo de resultados finales en las células sobre las cuales actúa, en un proceso de **divergencia funcional**. Asimismo, las interacciones cruzadas entre cascadas complejizan aún más la regulación, aportando mayor variedad a los resultados finales.

Es destacable que, en general, hay un **alto grado de redundancia** entre las acciones de diversos señalizadores y de varias vías intracelulares; esto garantiza dentro de ciertos límites que los procesos básicos de la neurogénesis y la sinaptogénesis no se vean radicalmente truncados por el daño de un gen o la falta de una enzima. De hecho, para muchas de las moléculas de señalización estudiadas, los experimentos de modificación genética en animales no evidencian alteraciones estructurales macroscópicas por la ausencia de la molécula, aunque hay excepciones notables. **La interacción entre los distintos señalizadores da como resultado una regulación fina**, en la cual si hay déficit o exceso de uno de los elementos reguladores la alteración final es sutil, pero se puede hacer evidente en los procesos complejos como la atención o la capacidad de aprendizaje, incidiendo en condiciones patológicas como trastornos del aprendizaje, trastornos emocionales o incluso esquizofrenia y otras enfermedades mentales.

En una dimensión espacial, los procesos que regulan el neurodesarrollo y la plasticidad se dan en un escenario que **involucra tres actores principales: las neuronas, las células gliales y la matriz extracelular**, cada uno de los cuales es fundamental para que se lleve a cabo satisfactoriamente la proliferación, migración, diferenciación, etc. En particular, la matriz extracelular cumple un papel regulador clave en la guía axonal necesaria para establecer conexiones y redes neurales del modo apropiado.

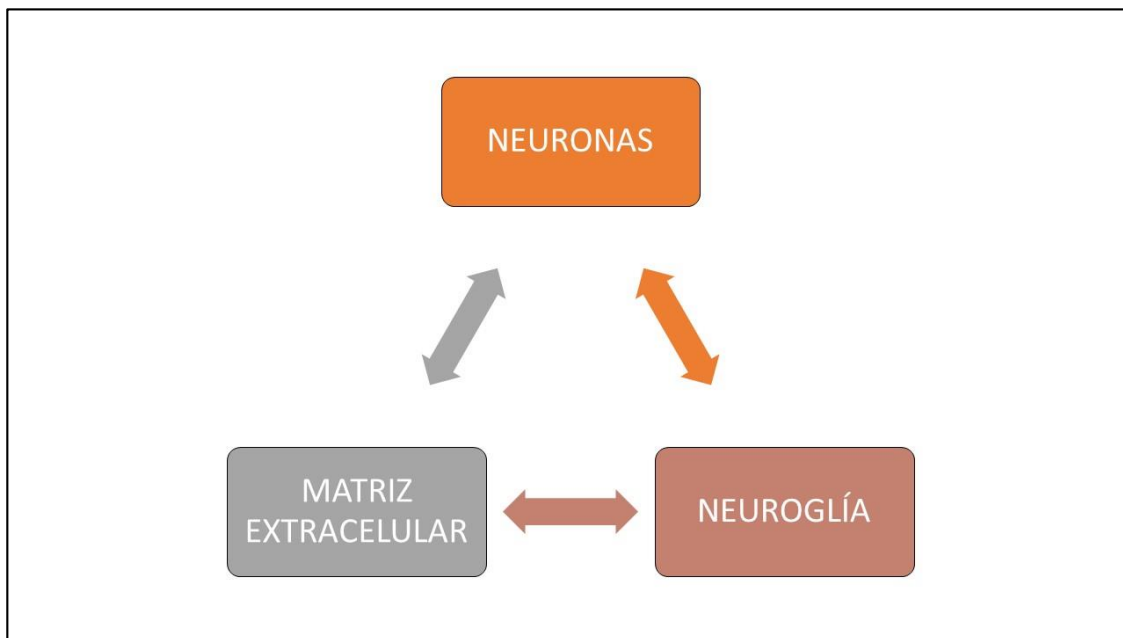


Figura 9: Diseño original de la autora.

10.5 Propiedades emergentes del SNC: autopoiesis y autoorganización.

De acuerdo con los planteamientos de Maturana y Varela (enunciados por F. Capra) sobre la autopoiesis como propiedad de los seres vivos, se puede observar que el sistema nervioso (aunque no es un ser vivo “completo”) cumple con los criterios de autocreación y autoorganización, en el cual la estructura (axones, dendritas, sinapsis, vías) es la expresión de un patrón de interacciones entre sus componentes (redes nerviosas).

El desarrollo neural no queda definido describiendo sólo sus componentes y las relaciones entre ellos, es necesario entenderlo desde el punto de vista de las relaciones entre sus procesos, como sistema complejo que es.

Entre las propiedades emergentes del sistema nervioso la más sorprendente es la conciencia, que a pesar de ser un hecho cotidiano de los seres humanos no tiene una definición satisfactoria, o mejor, aunque tiene múltiples definiciones y aproximaciones desde diversos conceptos, su comprensión sigue siendo más intuitiva que formal.

Según Maturana (retomado por F. Capra) la conciencia es una propiedad emergente, no sólo del sistema nervioso, sino de la vida misma. Más aún, viene a ser aquello que define la vida y el ser vivo. Este concepto es en gran medida revolucionario, y puede ser discutido o controvertido, pero sin lugar a dudas arroja una luz a la comprensión de la vida en sí misma como un fenómeno que va mucho más allá de la física y la química.

Volviendo a sistema nervioso como ejemplo de autopoiesis, si la conciencia y sus fenómenos asociados (pensamiento, memoria, lenguaje, creación, inteligencia, etc.) son propiedades emergentes del sistema nervioso, toda creación humana es en cierta medida proyección del sistema nervioso y sus propiedades.

Bibliografía

1. Silbergreis, J et al. The cellular and molecular landscapes of developing human CNS. *Neuron* 89, Jan 20 2016. Elsevier.
2. Marin P, Dityatev A. 5-HT7 receptor shapes spinogenesis in cortical and striatal neurons: An editorial highlight for 'Serotonin 5-HT7 receptor increases the density of dendritic spines and facilitates synaptogenesis in forebrain neurons'. *J Neurochem.* 2017;141(5):644–6.
3. Santos AF, Caroni P. Assembly, plasticity and selective vulnerability to disease of mouse neuromuscular junctions. *J Neurocytol.* 2003;32(5–8):849–62.
4. Jacobson, Marcus Factores neurotróficos y muerte celular en el desarrollo del sistema nervioso. *DEVELOPMENTAL NEUROLOGY CAP. 8 Tercera edición - 1991.*
5. Salie R, Niederkofler V, Arber S. Patterning molecules; multitasking in the nervous system. *Neuron.* enero de 2005;45(2):189–92.
6. Forero A, Rivero O, Wäldchen S, Ku H-P, Kiser DP, Gärtner Y, et al. Cadherin-13 Deficiency Increases Dorsal Raphe 5-HT Neuron Density and Prefrontal Cortex Innervation in the Mouse Brain. *Front Cell Neurosci.* 2017;11(September):1–16.
7. Yamagata M, Duan X, Sanes JR. Cadherins Interact With Synaptic Organizers to Promote Synaptic Differentiation. *Front Mol Neurosci.* 2018;11(April):1–15.
8. Thiery JP. Cell adhesion in development: a complex signaling network. *Curr Opin Genet Dev.* agosto de 2003;13(4):365–71.
9. Gerrow K, El-Husseini A. Cell adhesion molecules at the synapse. *Front Biosci.* septiembre de 2006;11:2400–19.
10. Guillemot F, Zimmer C. From cradle to grave: the multiple roles of fibroblast growth factors in neural development. *Neuron.* agosto de 2011;71(4):574–88.
11. Zuluaga, Jairo Alberto. *Neurodesarrollo y estimulación. Edición original 2001. Editorial Médica Panamericana.*
12. Jiang X, Nardelli J. Cellular and molecular introduction to brain development. *Neurobiol Dis.* 2015;92(Part A):3–17.
13. He F, Sun YE. Glial cells more than support cells? *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(4):661–5.
14. Mehler MF, Kessler JA. Hematolymphopoietic and inflammatory cytokines in neural development. *Trends Neurosci.* (1997) 20, 357–365
15. Kenneth S. Kossik. Micro-RNAs tell an evo-devo story. *Nature.* October 2009. Vol 10 p.754 – 759. www.nature.com/reviews/neuro. 2009 McMillan Publishers Limited.
16. Boyer, Nicholas, Gupton Stephenie. Revisiting Netrin-1: One who guides (Axons). *Frontiers in Cellular Neuroscience.* Jul. 31 2018. Vol 12. Art. 221 doi10.3389/fncel.2018.00221
17. Herlenius, Eric, Langerkrantz, Hugo. *Neurotransmitters and Neuromodulators. The Newborn brain: Neuroscience and Clinical Applications Cap. 7 Second Edition. Cambridge University Press 2010*

18. Owens DF, Kriegstein AR. Developmental neurotransmitters? *Neuron*. diciembre de 2002;36(6):989–91.
19. Reis RAM, Ventura ALM, Kubrusly RCC, de Mello MCF, de Mello FG. Dopaminergic signaling in the developing retina. *Brain Res Rev*. abril de 2007;54(1):181–8.
20. Shigeoka T, Jung H, Jung J, Turner-Bridger B, Ohk J, Lin JQ, et al. Dynamic Axonal Translation in Developing and Mature Visual Circuits. *Cell*. 2016;166(1):181–92.
21. Upadhyay A, Joshi V, Amanullah A, Mishra R, Arora N, Prasad A, et al. E3 ubiquitin ligases neurobiological mechanisms: Development to degeneration. *Front Mol Neurosci*. 2017;10.
22. Martínez A, Otal R, Soriano García E. Efrinas, desarrollo neuronal y plasticidad. *Neurol*. 2019;38(07):647.
23. Long JB, Van Vactor D. Embryonic and larval neural connectivity: progressive changes in synapse form and function at the neuromuscular junction mediated by cytoskeletal regulation. *Wiley Interdiscip Rev Dev+ Biol*. 2013;2(6):747–65.
24. Basavarajappa BS, Nixon RA, Arancio O. Endocannabinoid system: Emerging role from neurodevelopment to neurodegeneration. *Mini-Reviews Med Chem*. 2009;9(4):448–62.
25. Galve-Roperh I, Aguado T, Rueda D, Velasco G, Guzman M. Endocannabinoids: a new family of lipid mediators involved in the regulation of neural cell development. *Curr Pharm Des*. 2006;12(18):2319–25.
26. Yamaguchi Y, Pasquale EB. Eph receptors in the adult brain. *Neurobiol*. 2004;14(3):288–96.
27. Daniels MP. The role of agrin in synaptic development, plasticity and signaling in the central nervous system. *Neurochem Int*. noviembre de 2012;61(6):848–53.
28. Joseph D'Ercole A, Ye P. Expanding the mind: insulin-like growth factor I and brain development. *Endocrinology*. diciembre de 2008;149(12):5958–62.
29. Scott MK, Yue J, Biesemeier DJ, Lee JW, Fekete DM. Expression of class III Semaphorins and their receptors in the developing chicken (*Gallus gallus*) inner ear. *J Comp Neurol*. 2019;527(7):1196–209.
30. Azmitia, E.C., Serotonin and brain: evolution, neuroplasticity, and homeostasis. *Int. Rev Neurobiol*. 2007;77:31-56.
31. Grantyn R, Henneberge C, Jüttner R, Meier JC, Kirischuk S. Functional hallmarks of GABAergic synapse maturation and the diverse roles of neurotrophins. *Front Cell Neurosci*. 2011;(JULY).
32. Allen NJ, Lyons DA. Glia as architects of central nervous system formation and function. *Science*. el 12 de octubre de 2018;362(6411):181–5.
33. Speranza L, Labus J, Volpicelli F, Guseva D, Lacivita E, Leopoldo M, et al. Serotonin 5-HT7 receptor increases the density of dendritic spines and facilitates synaptogenesis in forebrain neurons. *J Neurochem*. 2017;141(5):647–61.
34. Luján R, Shigemoto R, López-Bendito G. Glutamate and GABA receptor signalling in the developing brain. *Neuroscience*. 2005;130(3):567–80.
35. Sarmiento Benito María Isabel. RECEPTOR DE NEUROTROFINAS p75; PAPEL EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER. UNA OPORTUNIDAD TERAPÉUTICA. Facultad de Medicina / Universidad de Zaragoza 201695.

36. Urte Neniskyte – Cornelis T. Gross. Errant Gardeners: glial cell dependent synaptic pruning and neurodevelopmental disorders. *Nature Nov.* 2017. Vol 18 p. 658 - 670
37. Lobato, R.D., Historical vignette of Cajal's work "Degeneration and regeneration of the nervous system" with a reflection of the author. *Neurocirugía* 2008;19;456-68.
38. Nieto-Estévez V, Defterali Ç, Vicario-Abejón C. IGF-I: A key growth factor that regulates neurogenesis and synaptogenesis from embryonic to adult stages of the brain. *Front Neurosci.* 2016;10(FEB).
39. <http://www.opentor.com/fisica-2-vallejo-zambrano/sistemas-conservativos-y-no-conservativos.html>
40. Capra, Fridtjof. *La trama de la vida*. Edición original 1996. Anagrama, Barcelona.
41. Tapias A, Wang ZQ. Lysine Acetylation and Deacetylation in Brain Development and Neuropathies. *Genomics, Proteomics Bioinforma.* 2017;15(1):19–36.
42. Frost JL, Schafer DP. Microglia: Architects of the Developing Nervous System. *Trends Cell Biol.* 2016;26(8):587–97.
43. <https://www.investigacionyciencia.es/blogs/psicologia-y-neurociencia/100/posts/origen-y-desarrollo-de-la-nocin-de-neuroplasticidad-1-15679>
44. Singhal N, Martin PT. Role of extracellular matrix proteins and their receptors in the development of the vertebrate neuromuscular junction. *Dev Neurobiol.* noviembre de 2011;71(11):982–1005.
45. Margeta MA, Shen K. Molecular mechanisms of synaptic specificity. *Mol Cell Neurosci.* marzo de 2010;43(3):261–7.
46. Wu H, Xiong WC, Mei L. To build a synapse: signaling pathways in neuromuscular junction assembly. *Development.* abril de 2010;137(7):1017–33.
47. Bercury, K, Macklin,W. Dynamics and Mechanisms of CNS myelination. *Developmental Cell* 32, Feb. 23 2015. Elsevier.
48. Dorsky RI. Neural patterning and CNS functions of Wnt in zebrafish. E. V, editor. Vol. 469, *Methods in Molecular Biology*. Department of Neurobiology and Anatomy, University of Utah, Salt Lake City, UT, United States; 2008. p. 301–15.
49. O'Kusky J, Ye P. Neurodevelopmental effects of insulin-like growth factor signaling. *Front Neuroendocrinol.* agosto de 2012;33(3):230–51.
50. Spencer GE, Klumperman J, Syed NI. Neurotransmitters and neurodevelopment: Role of dopamine in neurite outgrowth, target selection and specific synapse formation. *Perspect Dev Neurobiol.* 1998;5(4):451–67.
51. Song Y, Balice-Gordon R. New dogs in the dogma: Lrp4 and Tid1 in neuromuscular synapse formation. *Neuron.* noviembre de 2008;60(4):526–8.
52. Urte Neniskyte – Cornelis T. Gross. Errant Gardeners: glial cell dependent synaptic pruning and neurodevelopmental disorders. *Nature Nov.* 2017. Vol 18 p. 658 - 670
53. Farias GG, Godoy JA, Cerpa W, Varela-Nallar L, Inestrosa NC, Farías GG, et al. Wnt signaling modulates pre- and postsynaptic maturation: Therapeutic considerations. *Dev Dyn.* enero de 2010;239(1):94–101.