

NEUROGÉNESIS ADULTA:

LA CAPACIDAD DE GENERAR NUEVAS NEURONAS

Nuestro sistema nervioso central no es estático, sino que goza de una enorme plasticidad. El mayor grado de plasticidad descrito en organismos adultos es la generación de nuevas neuronas, proceso conocido como neurogénesis adulta.

Lucas A Mongiat, María S Ausas y Laura Mazzitelli Fuentes

Los seres vivos debemos adaptarnos continuamente a los constantes cambios con los que nuestro entorno nos desafía. Para esto usamos nuestro cerebro, un potente procesador de datos compuesto por más de 80 mil millones de neuronas. Estas células especializadas se conectan unas con otras para procesar y transmitir información. Se estima que el cerebro humano posee de 100 a 1.000 billones de contactos neuronales o sinapsis. De esta manera las neuronas de nuestro sistema nervioso central son responsables de recibir la información del medio-ambiente que nos rodea, procesarla, almacenarla y evocarla, con el fin de que logremos aprender de los éxitos o fracasos que vivimos, y desencadenar señales que nos llevan a actuar en función de la información recibida. La disciplina abocada a estudiar cómo funcionan los cerebros es la neurociencia.

Durante décadas, uno de los principales dogmas de la neurociencia establecía que las neuronas, los principales componentes celulares del sistema nervioso, perdían la capacidad de regenerarse luego del desarrollo temprano. Es decir, mientras que el resto de las células del cuerpo pueden dividirse y regenerarse ante un daño, se pensaba que el único destino posible de las neuronas era la muerte. Ya hace unas pocas décadas que este dogma comenzó a verse desafiado, y hoy en día sabemos que en el cerebro de los vertebrados adultos existen progenitores neuronales capaces de dar lugar a nuevas neuronas mediante un proceso conocido como neurogénesis adulta.

Un poco de historia

Las primeras evidencias de la existencia de neurogénesis adulta fueron aportadas por los investigadores del Massachusetts Institute of Technology, Joseph Altman y Gopal Das, en el año 1962. Estos investigadores hipotetizaron que generando una lesión mecánica en el cerebro de ratas adultas inducirían una proliferación de neuronas nuevas en el cerebro de estos roedores. Como estrategia para identificar células en división, Altman y Gopal suministraron timidina-³H. La timidina es uno de los componentes estructurales del ADN. Esta base nitrogenada ha sido sutilmente modificada en su estructura para poder identificarla (medirla) mediante el reemplazo de átomos de hidrógeno (¹H) por tritio (³H), un isótopo radioactivo. El raciocinio de su experimento fue el siguiente:

Si realizamos una lesión experimental en el cerebro, esto inducirá proliferación celular. Al dividirse, las células progenitoras neuronales duplican su ADN para formar dos células hijas. Durante la duplicación del ADN las nuevas neuronas incorporarán la base marcada radioactiva (timidina-³H). Las neuronas nuevas conteniendo marca radioactiva en su ADN, podrán ser identificadas al exponer una rebanada de cerebro a una placa radiográfica.

De esta manera combinando las placas radiográficas con estudios histológicos, estos investigadores pudieron observar que luego de un mes de induci-

Palabras clave: Neurona, Cerebro, Plasticidad, Regeneración.

Lucas A Mongiat ⁽¹⁾

Dr. en Ciencias Biológicas
lmongiat@comahue-conicet.gob.ar

María S Ausas ⁽¹⁾

Lic. en Ciencias Biológicas
msausas@gmail.com

Laura Mazzitelli Fuentes ⁽²⁾

Estudiante de grado
laumazzitellifuentes@gmail.com

⁽¹⁾ Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) (CONICET-UNCo), Argentina

⁽²⁾ Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad Nacional del Comahue, Argentina

Recibido: 01/03/2015. Aceptado: 01/06/2015.

do el tratamiento (lesión y marcado), el cerebro de las ratas presentaba un importante número de células marcadas con ^3H que tenían morfología neuronal, sugiriendo la posibilidad de regeneración neuronal en el cerebro adulto.

Si bien estos experimentos fueron repetidos en otros modelos experimentales y por otros autores, estos datos no resultaron lo suficientemente robustos, ya que no quedaba en claro si esas células marcadas eran realmente neuronas. Y si así era, menos en claro estaba si estas neuronas lograban insertarse en los circuitos cerebrales y procesar información, o sea si eran neuronas funcionales. Como estas preguntas aún no habían sido esclarecidas, continuó vigente el paradigma del Sistema Nervioso Central como un ente carente de la capacidad de generar nuevas neuronas.

Tuvieron que transcurrir casi dos décadas hasta que Fernando Nottebohm, un investigador nacido en Argentina que estaba desarrollando sus estudios en la Rockefeller University, aportó evidencias contundentes demostrando que el cerebro de vertebrados adultos es capaz de generar nuevas neuronas funcionales. Nottebohm estudiaba de qué manera el cerebro de canarios procesaba el canto. Los canarios, especialmente los machos, utilizan su repertorio de cantos como elemento de atracción sexual. Las combinaciones de sonidos que emiten varían año a año. Durante su estudio, No-

ttebohm descubrió que el aprendizaje del canto implicaba un aumento, de casi el doble, en el tamaño de un núcleo cerebral asociado con el procesamiento del canto: el hiperestriado ventral (HVC). La administración de andrógenos (hormona sexual masculina) a canarios hembra, induce el desarrollo del canto de manera similar a lo que ocurre normalmente en los machos. Esta inducción farmacológica del canto, también se ve acompañada del aumento de tamaño del HVC en las hembras.

Este resultado sorprendió a Nottebohm, quien decidió investigar la causa de dicho incremento, y valiéndose de los antecedentes sentados por Altman, administró timidina- ^3H a los canarios durante el aprendizaje del canto. Los resultados indicaron que el incremento de tamaño del HVC se debía a un aumento en la proliferación celular en esta región del cerebro. Pero.... estas células marcadas eran realmente neuronas? Valiéndose de los recursos técnicos de la época, los investigadores debieron demostrar que las células que incorporaron timidina- ^3H durante la división celular (mitosis) daban lugar a neuronas y, que estas neuronas nuevas eran funcionales en el cerebro adulto. Con mucho trabajo, y de manera elegante, Nottebohm y sus colaboradores lograron determinar que el cerebro de los canarios adultos generaba nuevas neuronas. Para demostrar que las células marcadas con ^3H -timidina

CUADRO 1: El hipocampo

Evolutivamente el hipocampo es la región más primitiva de la corteza cerebral. En la Figura 1 se describe la anatomía de esta estructura.

Numerosos estudios se abocaron a comprender la función del hipocampo. Hoy en día se ha consensuado que la función del hipocampo resulta crucial para que el cerebro pueda realizar determinados procesamiento como ser: representar el espacio que nos rodea (hacer mapas espaciales) y para establecer memorias episódicas, o sea recordar una persona/objeto, en un lugar determinado, en un tiempo determinado (Ej. el cumpleaños número 15 de Juan).

Las primeras evidencias de que el hipocampo provee un mapa de referencia espacial provino de los experimentos del actual premio Nobel John O'Keefe en los años 70. Utilizando multi-electrodos implantados en el hipocampo de ratas, describieron neuronas que se activan cuando el animal ocupa una determinada posición del espacio (place cell).

La capacidad de representar en el cerebro un mapa espacial, podría facilitar la formación de memoria episódica, los eventos que ocurrieron en determinado tiempo y lugar. De hecho, se demostró que el hipocampo es crítico en éste procesamiento. El caso clínico más famoso, fue el del paciente H. M., quien después de la remoción bilateral de gran parte del hipocampo se olvidaba de todos los eventos de su vida diaria luego de pocos minutos. La consistencia con diversos pacientes con el mismo tipo de cirugía puso en evidencia el rol del hipocampo en el procesamiento de memorias recientes.

También se demostró que ratas con el hipocampo lesionado no pueden discriminar el orden temporal de una secuencia de 4 eventos (olores asociados a un lugar) mientras que las ratas control, sin lesión, no muestran inconvenientes. Por ello se postula que el hipocampo podría ser un organizador de representaciones temporales que luego serían almacenadas a largo plazo en otros centros corticales, probablemente aquellos con los que el hipocampo se interrelacionó durante la consolidación de dichas memorias.

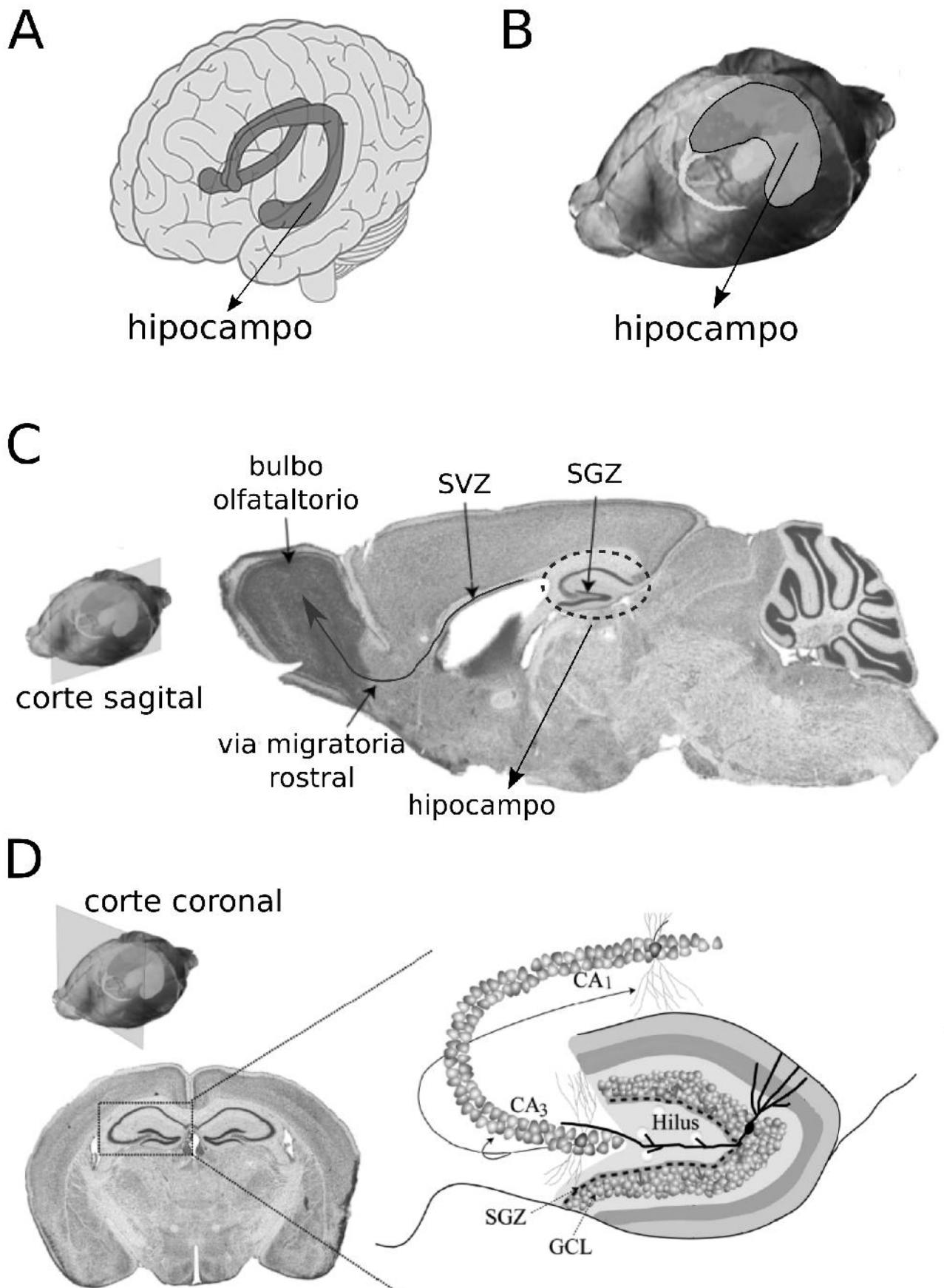


Figura 1. A) Esquema de la anatomía del hipocampo en el cerebro humano. Se representa el hipocampo en gris oscuro dentro del cerebro de un individuo adulto. B) Esquema de la anatomía del hipocampo en el cerebro de ratón. Se representa el hipocampo en color gris claro dentro del cerebro de un ratón adulto. C) Regiones neurogénicas en el cerebro adulto. A la izquierda, se muestra el eje de corte sagital (corte vertical en plano antero-posterior) en el cerebro de ratón. A la derecha, una imagen de un corte histológico sagital, indicando las zonas neurogénicas: SGZ, la zona subgranular en el hipocampo; SVZ, la zona subventricular donde se produce la proliferación de las neuronas que se insertarán en el bulbo olfatorio. La flecha indica la migración de neuronas nuevas hacia el bulbo olfatorio (vía migratoria rostral). D) Organización anatómica del hipocampo. A la izquierda superior, se muestra el eje de corte coronal (corte vertical en el plano que va de derecha a izquierda) en el cerebro de ratón. A la izquierda inferior, se muestra la imagen de un corte coronal de un hipocampo de ratón. El mismo se esquematiza a la derecha. Las neuronas granulares se ubican en la capa granular (GCL) del giro dentado. Se representa una neurona granular en color negro. Estas neuronas integran la información que reciben de axones de la corteza entorrinal, de interneuronas locales y de otras regiones del cerebro y en consecuencia evocan o no una respuesta, o sea transmiten información. Esta información, transmitida por los axones de las células granulares, impacta en interneuronas locales (región del Hilus) y a las células piramidales de la región CA3 del hipocampo. En línea punteada se señala la zona neurogénica (SGZ) y con flechas la integración de las neuronas nuevas en la capa granular (GCL). Adaptado del trabajo de Tesis Doctoral de Verónica Piatti.

eran realmente neuronas, realizaron secciones cerebrales de un micrómetro de espesor (la milésima parte de un milímetro, y una fracción del tamaño neuronal) y observaron (mediante técnicas de inmunodetección) que las células marcadas con ^3H también eran positivas para la marcación contra proteínas neuronales. Una vez demostrado esto, había que verificar si estas células nuevas que expresan marcadores neuronales se comportaban como neuronas. Para esto decidieron realizar registros eléctricos *in vivo* de la actividad neuronal en canarios previamente (semanas antes) inyectados con ^3H -timidina, empleando micro-electrodos conteniendo un colorante. La idea de este complejo y laborioso experimento era registrar *in vivo* y a ciegas la actividad eléctrica de neuronas, luego sacrificar al canario y verificar si la neurona registrada, teñida con colorante, también había incorporado la marca previa de ^3H -timidina, o sea ver si la célula con actividad neuronal se había dividido al momento de la inyección de ^3H -timidina. Con estos experimentos, lograron determinar que el cerebro de canarios adultos era capaz de generar nuevas neuronas y que éstas resultaban funcionales en los circuitos cerebrales. Estos investigadores continuaron su investigación y determinaron que estas nuevas neuronas recibían contactos sinápticos de neuronas localizadas en el núcleo X, una región cerebral que proyecta axones hacia el HVC. Esta suma de ensayos experimentales liderados por Nottebohm, constituyó la primera evidencia directa de que el cerebro de los vertebrados posee neurogénesis adulta, es decir que es capaz de generar neuronas que se integran (reciben y transmiten información) en los circuitos neuronales pre-existentes.

Años más tarde, un nuevo desarrollo tecnológico permitiría el redescubrimiento de la neurogénesis en mamíferos. El compuesto 5-Bromo-deoxyuridina (BrdU) es un análogo sintético de la timidina y fue desarrollado con el fin de evaluar la proliferación de

células tumorales en biopsias. La revolucionaria técnica permitió la identificación de células en división mediante la incorporación de BrdU, que se incorpora en la fase S del ciclo celular (momento en el cual se duplica el ADN) y es heredado por las células hijas. La ventaja particular de este método es que la marcación con BrdU puede ser detectada mediante inmunohistoquímica permitiendo la identificación del tipo celular por la co-expresión de otros marcadores celulares. El investigador del Salk Institute (USA), Fred Gage y sus colaboradores fueron los primeros en confirmar mediante esta técnica la generación de neuronas nuevas en el cerebro de ratas y ratones adultos. Específicamente, encontraron neurogénesis adulta en el giro dentado del hipocampo (ver Cuadro 1 y Figura 1), una estructura asociada a la representación del espacio que nos rodea y a la formación de la memoria de episodios. Posteriormente, la existencia de neurogénesis en el giro dentado de primates adultos también fue reafirmada por otros grupos de investigación. El revolucionario hallazgo de neuronas nuevas en el giro dentado de muestras humanas sentó las bases para la aceptación general de la existencia e importancia de la neurogénesis adulta. Hoy en día sabemos que la neurogénesis adulta es un fenómeno conservado a lo largo de la evolución. Ha sido descrito y estudiado en numerosas especies, que abarcan desde invertebrados hasta mamíferos, incluyendo el ser humano.

Las herramientas biológicas siguieron desarrollándose, y entrado el nuevo milenio comenzó a establecerse el empleo de retrovirus modificados, como herramienta biológica para marcar de manera indeleble a las nuevas neuronas. Los retrovirus constituyen una familia dentro de los virus, cuya particularidad es que pueden infectar a todas las células del cuerpo pero sólo logran insertar su genoma en aquellas células que se encuentran en división mitótica, momento en el cual la membrana nuclear se desarma y la cromatina se

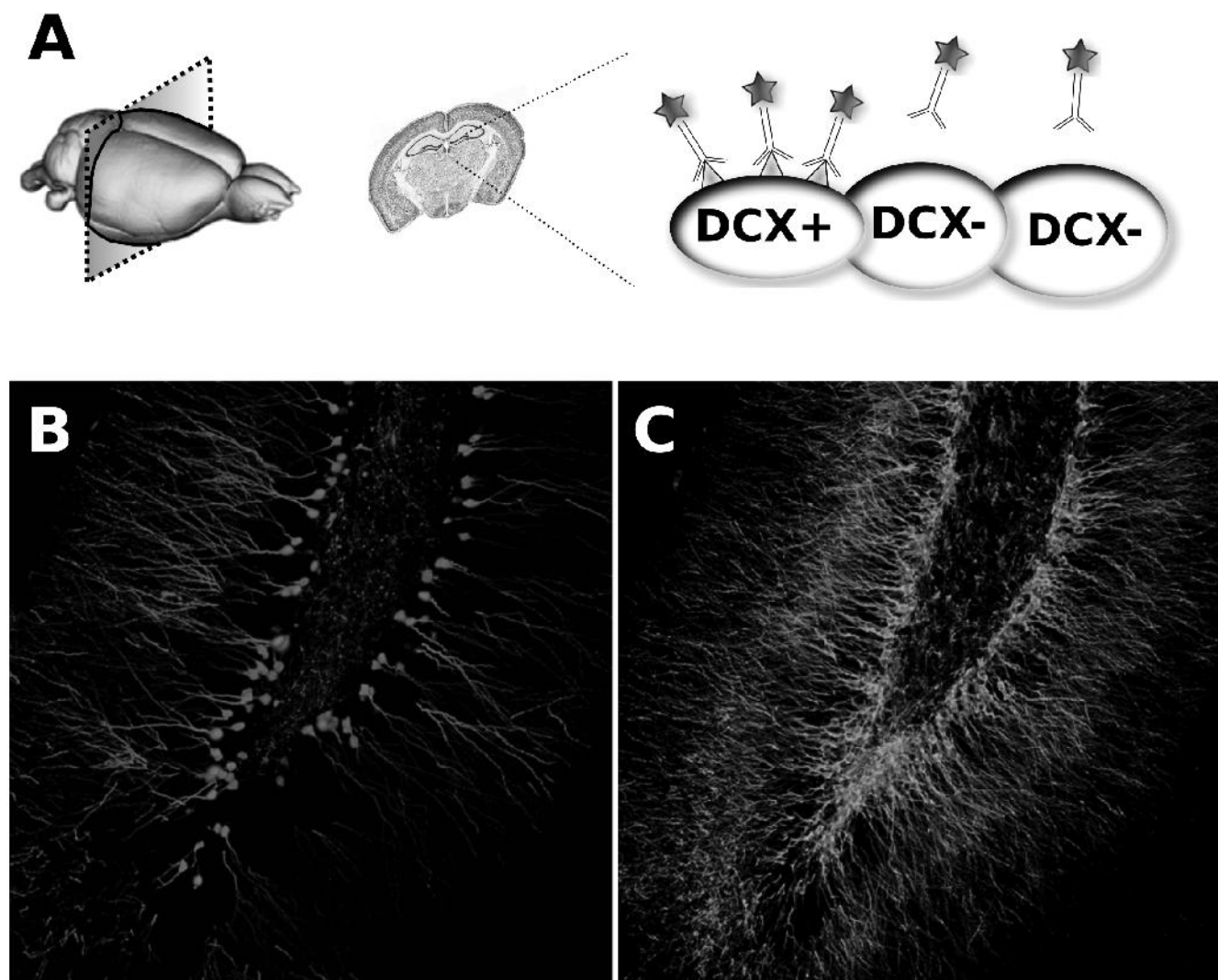


Figura 2. Neuronas nuevas en el giro dentado del hipocampo.

La figura muestra el proceso mediante el cual podemos identificar y estudiar neuronas nuevas en cerebro de ratón adulto. Tres semanas antes de realizar el corte histológico el ratón fue sujeto a una inyección intra-cerebral de partículas retrovirales. De esta manera logramos identificar a los progenitores neuronales en división mediante marcación retroviral, que insertará en el genoma de la célula infectada el gen de la proteína verde fluorescente (GFP), generando una marca indeleble. Además de visualizar la marcación mediante GFP, también se realizaron en la misma sección inmuno-detecciones para la proteína neuronal Doublecortin (DCX) que solo se sintetiza en neuronas inmaduras (marcadores).

A) A la izquierda, se muestra un esquema de un cerebro de ratón, indicando el plano de corte coronal que se emplea para preparar secciones. En el centro del panel se muestra una sección de cerebro de ratón conteniendo al hipocampo. A la derecha del panel se esquematizan tres neuronas granulares, una de ellas sintetiza una proteína característica de neuronas inmaduras (doublecortin, DCX). Esta neurona inmadura, puede ser identificada por medio de anticuerpos específicos para DCX, marcados con un fluoróforo. A este proceso se lo denomina inmuno-detección. B) Se muestran neuronas granulares de tres semanas de edad marcadas por infección retroviral (canal verde del microscopio). En la GCL se ubican los somas de las neuronas nuevas que extienden sus dendritas hacia la capa Mol y sus axones en sentido contrario hacia el Hilus. Nótese la cantidad de neuronas marcadas que se observan (con una simple inyección retroviral). Fotografía Dra M. Georgina Davis. C) Se muestra en la misma sección que en B), una inmuno-detección de DCX (canal rojo del microscopio). Dado que es un cerebro de ratón adulto, solo se observa marca de DCX en el giro dentado del hipocampo. Nótese que las neuronas nuevas de 3 semanas de edad (mostradas en panel B) se posicionan en la región donde abunda la marca de neuronas inmaduras (DCX).

descondensa haciendo posible la inserción de los genes virales. El marcado de células en división mediante infección retroviral emplea retrovirus modificados genéticamente, su genoma codifica para una proteína fluorescente. Para el marcado de células, el retrovirus se administra localmente en el área de estudio mediante una inyección intra-cerebral. El retrovirus infecta a todas las neuronas en la región, pero sólo logra insertar el gen de la proteína fluorescente en aquellas células que se encuentran en división (los progenitores neuronales). Esta resulta ser una poderosa herramienta, dado que la marcación de las nuevas neuronas es indeleble, se realiza *in vivo*, las neuronas maduran en su entorno natural y pueden visualizarse mediante microscopía de fluorescencia tanto en tejido vivo como en tejido fijado. Las grandes ventajas de este desarrollo son dos: a) la morfología y el marcado fluorescente permiten estudiar en detalle toda la anatomía neuronal, soma, dendritas y axones (a diferencia de los análogos de timidina que sólo marcan el núcleo), y b) permite el estudio de la fisiología neuronal, las neuronas marcadas expresan la proteína fluorescente, permitiendo su identificación sin más requerimiento que un microscopio. Esto permite visualizar a las neuronas marcadas en tejido vivo y realizar estudios anatómicos y fisiológicos: propiedades de la neurona, su conectividad y participación en el procesamiento de la información. En la Figura 2 puede observarse una sección de cerebro de ratón adulto conteniendo neuronas de sólo tres semanas de edad marcadas con la proteína verde fluorescente mediante el empleo de retrovirus (Figura 2B). También puede observarse, en color rojo, la detección de marcadores neuronales de estadios inmaduros (DCX, Figura 2A), como así también, en color azul, la detección de un marcador de neuronas maduras (NeuN, Figura 2C). En esta figura se muestra cómo la marcación retroviral y la detección de proteínas asociadas a la maduración pueden emplearse para estudiar el desarrollo de las neuronas nuevas. A continuación se resumen algunos de los conocimientos acerca de la neurogénesis adulta obtenidos mediante las técnicas descriptas en esta sección.

Nichos neurogénicos

La generación de neuronas en organismos adultos no es un fenómeno general que ocurre en todas las regiones del cerebro. Por ejemplo, en humanos adultos sólo se generan nuevas neuronas en el giro dentado, una región dentro de una estructura cerebral denominada hipocampo (Figura 1B). Se ha estimado que un ser humano adulto produce unas 1.500 neuronas granulares nuevas que se añaden diariamente al giro dentado del hipocampo.

En roedores, que son los modelos experimentales más empleados en el estudio de la neurogénesis adulta, la generación de nuevas neuronas ocurre en dos

regiones del cerebro: a) La zona sub-ventricular (SVZ, Figura 1C) de los ventrículos laterales, donde los progenitores neuronales se dividen dando lugar a neuronas inmaduras que migran hacia el bulbo olfatorio; y b) La zona sub-granular del giro dentado hipocampal (SGZ, Figura 1A,C), donde los progenitores neuronales se dividen, migran una muy corta distancia y se desarrollan dando lugar a nuevas neuronas granulares que se insertan en el mismo giro dentado (Figura 1D).

Está demostrado que a lo largo del sistema nervioso central de los roedores pueden encontrarse, de manera dispersa, células progenitoras neuronales. Sin embargo, estas células progenitoras no logran generar neuronas sino más bien células gliales. Entonces, ¿por qué sólo ocurre neurogénesis adulta en estas dos regiones acotadas?

Tanto la zona sub-ventricular como la sub-granular poseen condiciones que resultan únicas en el sistema nervioso de los roedores: la combinación de una gran densidad de células progenitoras neuronales y un micro-ambiente propicio para que la progenie de estas células pueda diferenciarse a neuronas. Tal es así que, en el giro dentado, entre un 80 a 90% de la progenie de estas células madre logra adoptar identidad neuronal (vs. glial) en un lapso menor a una semana luego de la división. Sin embargo no todas las neuronas nuevas logran sobrevivir e integrarse en los circuitos cerebrales.

Debido a la neurogénesis adulta, el giro dentado resulta una estructura heterogénea donde conviven neuronas de diferentes edades y por ende, distintos estadios de maduración. Una fracción importante (25 al 50 %) de las neuronas que se generan en el hipocampo adulto se integra en forma permanente a los circuitos preexistentes. Aquellas neuronas que logran establecer conexiones sinápticas funcionales, sobreviven y permanecen estables por largos períodos, mientras que las neuronas que no logran conectarse desencadenan un programa de muerte celular programada conocido como apoptosis. Interesantemente, el porcentaje de las neuronas nuevas que logra conectarse y sobrevivir no es un número fijo, sino que puede ser regulado de acuerdo con la actividad circuital que ocurre al momento que la nueva neurona está conectándose.

Diferentes situaciones fisiológicas o patológicas tienen influencia sobre la generación e integración y supervivencia de las nuevas neuronas. Se ha demostrado que tanto ciertos tipos de aprendizaje, la realización de ejercicio físico y mantener a los roedores en un ambiente enriquecido favorecen la adición de neuronas al circuito. Contrariamente, situaciones como el estrés y el envejecimiento llevan a una disminución en la producción de neuronas nuevas. Se piensa que en ambas situaciones los glucocorticoides actuarían como un regulador negativo ya que la administración de corticosterona, hormona liberada en situaciones de estrés,

inhibe la proliferación de los progenitores neuronales. Además, se ha demostrado experimentalmente que la disminución de corticosterona aumenta la proliferación en el hipocampo, tanto en ratas adultas como en ratas envejecidas. Por otro lado, situaciones patológicas como la epilepsia, donde la actividad global del circuito hipocampal se encuentra aumentada tiene como consecuencia un incremento en el número de neuronas granulares generadas y alteraciones en la forma en que estas migran y se integran. Por último el envejecimiento resulta un importante regulador negativo de la neurogénesis. Con el transcurso del tiempo, a medida que envejecemos, disminuye la proliferación y generación de nuevas neuronas, probablemente debido a un agotamiento del reservorio de progenitores neuronales y/o a cambios en los niveles de actividad en el hipocampo.

Qué sabemos de las neuronas nuevas?

La función básica de una neurona es el procesamiento de información, o sea, recibir información tanto de otras neuronas como del medio interno, integrarla y generar una respuesta que será transmitida a otras neuronas o a otras células del cuerpo. Entonces, para ser funcionales, estas nuevas neuronas deben establecer de manera precisa y adecuada sus conexiones sinápticas, tanto con sus aferentes presinápticos (las células que les transmiten información) como con sus eferentes postsinápticos (las células que reciben la información). Esta tarea es realmente compleja si tenemos en cuenta que, las neuronas nuevas deben elegir correctamente con qué neuronas presinápticas deben conectarse para recibir información y a qué neuronas postsinápticas deben enviar información. Para tener una idea en números, en el giro dentado hay empaquetadas aproximadamente un millón de neuronas granulares que recibe información de unas 300.000 neuronas de una región de la corteza cerebral (corteza entorrinal). Las neuronas granulares procesan la información y la envían hacia neuronas piramidales (aproximadamente 200.000 neuronas) en la región CA3 del hipocampo (ver Figura 1D), y hacia miles de interneuronas localizadas en el propio giro dentado. Para complejizar más el panorama, cada neurona es capaz de establecer miles de sinapsis (tanto aferentes como eferentes). Entonces, ¿de qué manera logra una neurona generada en el cerebro adulto conectarse de manera precisa con sus neuronas pre- y post-sinápticas? Esto se logra mediante una polarización de los procesos neuronales, es decir la neurona inmadura comienza a extender sus dendritas hacia la región donde residen los terminales axonales que provienen de las neuronas de la corteza entorrinal. Al mismo tiempo las nuevas neuronas comienzan a extender sus axones hacia la región del hipocampo donde se encuentran las neuronas piramidales. Estos procesos de

guiado axonal y dendrítico no son aleatorios, sino que están finamente guiados por gradientes de señales moleculares responsables de posicionar adecuadamente los terminales neuronales en las regiones donde deben establecerse las sinapsis. Mediante estudios de microscopía electrónica se demostró que las neuronas nuevas de alguna manera compiten por sus pares sinápticos con las neuronas previamente generadas, es decir desplazan las sinapsis preexistentes.

El programa de maduración que atraviesa una neurona nueva en el giro dentado de un ratón adulto ha sido estudiado con gran detalle. Inicialmente, una nueva neurona migra unos pocos micrómetros para posicionarse en la capa de neuronas granulares. Durante la primer semana de desarrollo las nuevas neuronas comienzan la polarización de sus procesos (dendritas y axón), incorporan canales iónicos en su membrana (responsables de mantener el potencial de reposo y de generar el disparo de potenciales de acción). Estas neuronas inmaduras, poseen una membrana altamente excitable, es decir que una pequeña corriente desencadena una elevada despolarización de membrana, y aunque carecen de conexiones sinápticas con otras neuronas, responden a niveles ambientales (extra-sinápticos) de neurotransmisores. Durante el transcurso de la segunda semana de edad, los procesos dendríticos ya se encuentran algo más desarrollados y aunque su arborización es muy precaria, comienzan a establecerse los contactos sinápticos con axones tanto excitatorios como inhibitorios en sus dendritas. La densidad de canales iónicos continúa madurando lentamente. Este momento del desarrollo de las nuevas neuronas resulta crítico, aquellas neuronas que no logren recibir información sináptica (es decir que no establezcan una sinapsis funcional) desencadenarán una secuencia de señales moleculares que conducirán a la eliminación de dicha neurona. Aquellas neuronas que sobreviven este período continúan su desarrollo, aumentando la aferencia de contactos sinápticos y disminuyendo la excitabilidad de su membrana. Las sinapsis eferentes comienzan a establecerse entre los axones de las neuronas nuevas y las dendritas de neuronas piramidales en la región CA3 del hipocampo (ver Figura 1D).

El programa de desarrollo de las neuronas nuevas se completa al cabo de unas seis a ocho semanas luego de su división. Llegado ese momento, las nuevas neuronas granulares han alcanzado su pico de maduración y se tornan funcionalmente equivalentes al resto de las neuronas del giro dentado generadas previamente.

Sin embargo, durante su desarrollo las nuevas neuronas transitan por estadios donde la excitabilidad de la membrana y las conexiones sinápticas que reciben cambian constantemente. Las neuronas nuevas atraviesan una etapa clave donde converge una combinación crítica de factores: alta excitabilidad de membra-

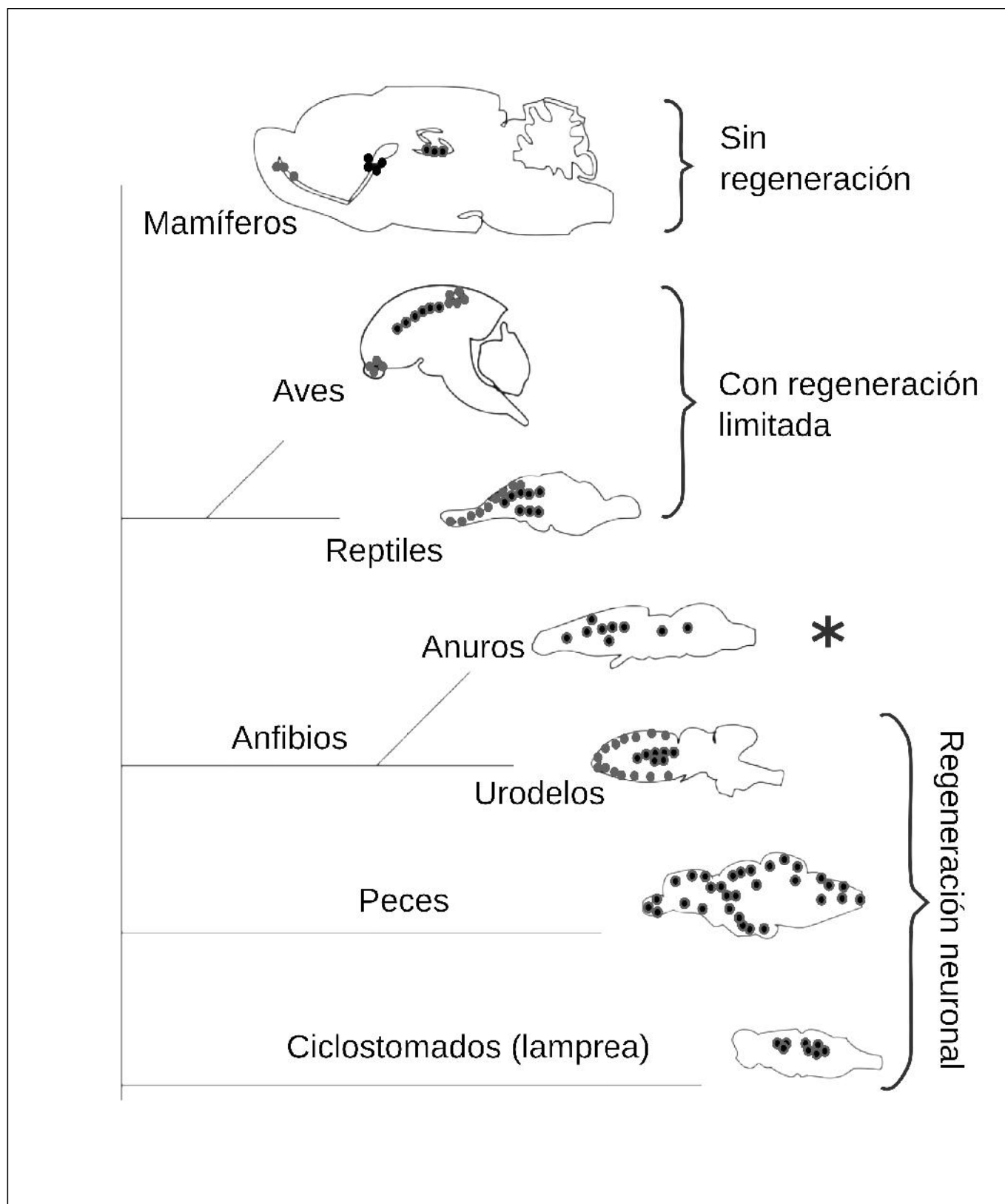
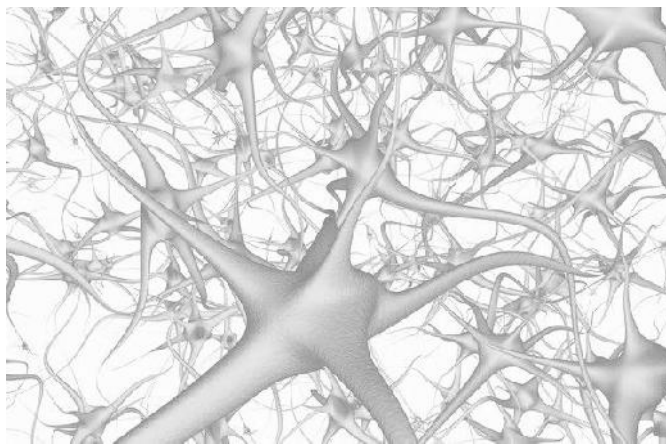


Figura 3. Esquema representado a nivel comparado la neurogénesis adulta en los vertebrados. Los puntos negro representan los sitios de proliferación, los grises los sitios donde se insertan las neuronas nuevas que proliferaron en otras regiones y los puntos negro y gris representan regiones donde se produce tanto proliferación de progenitores como neurogénesis. En el esquema se indica en qué clases se describieron procesos de regeneración neuronal espontánea. El asterisco en los anuros indica que en esa clase no se observó regeneración neuronal. En general, se observa cómo el potencial neurogénico y regenerativo disminuye conforme avanza la escala evolutiva. Se requerirá un análisis detallado de la neurogénesis en diferentes especies para proporcionar una imagen completa y precisa. Tenga en cuenta que los dibujos no están realizados a escala. Adaptado de Ferreti P, 2011. *European Journal of Neurosciences*; Vol. 34, pp. 951–962., bajo consenso de la editorial John Wiley.



na, y baja aferencia sináptica inhibitoria. Durante esta etapa, que transcurre en la cuarta semana de vida, estas neuronas inmaduras constituyen una población transitoria de neuronas nuevas capaces de procesar información aferente de manera diferencial al resto de las neuronas. Son activadas con menor número de axones y son mejores integradoras de información, mientras que el resto de las neuronas maduras del giro dentado es muy selectivo y en consecuencia escasamente activado.

De esta manera, la neurogénesis adulta resulta una propiedad emergente que provee a la función del hipocampo un grupo transitorio y renovable de neuronas capaces de procesar información de manera diferencial al resto de las neuronas. Diferentes trabajos científicos demuestran que las nuevas neuronas granulares participan en el procesamiento de información. Estas nuevas neuronas son necesarias para realizar determinados aprendizajes, como por ejemplo, reconocer dos situaciones similares como diferentes, generar y utilizar memoria espacial o de contexto. Es decir, son necesarias para aprender.

Neurogénesis adulta y regeneración neuronal

Como mencionamos anteriormente, la generación de nuevas neuronas en organismos adultos es un proceso conservado evolutivamente en los vertebrados. La Figura 3, muestra cortes de cerebro de distintos vertebrados. En esta figura, puede observarse que a medida que avanzamos en la escala evolutiva, el número de nichos neurogénicos disminuye. Por ejemplo, los humanos solo poseemos neurogénesis adulta en el hipocampo mientras que los peces teleósteos poseen decenas de nichos neurogénicos a lo largo de su sistema nervioso central. Comparativamente, el telencéfalo, es la única región del sistema nervioso central que conserva neurogénesis adulta, tanto en peces, como reptiles, aves, anfibios y hasta mamíferos, incluyendo humanos (Figura 3).

La capacidad fisiológica de generar nuevas neuronas que se insertan de manera funcional en los cir-

cuitos neuronales preexistentes, abre la posibilidad de manipular tanto progenitores neurales (o células madre) como el medio ambiente (nicho neurogénico) con fines terapéuticos para tratar patologías neurodegenerativas. Sin embargo esta atractiva posibilidad terapéutica se enfrenta con varios factores limitantes, entre ellos: a) en humanos solo existe un único nicho neurogénico, el giro dentado del hipocampo; b) los progenitores neurales del giro dentado solo dan lugar a un único tipo neuronal: células granulares; c) la capacidad neurogénica en humanos decae sustancialmente con el envejecimiento; d) no se conoce la identidad de los factores tróficos brindados por el nicho neurogénico que son necesarios para la formación de neuronas; e) no se conoce cómo se afecta el nicho neurogénico ante injuria o patología.

Debido a la extremadamente baja capacidad de regeneración de tejido neural en humanos, el deterioro de tejido neuronal resultante por injuria o isquemia es una de las principales causas de muerte o incapacidad. El daño tisular no sólo es producto de la lesión inicial, sino que también resulta de un proceso secundario y endógeno de injuria (liberación masiva de glutamato, aumento de niveles intracelulares de Ca^{2+} , formación de radicales libres e inflamación tisular) que puede prolongarse durante días.

En contraste con los mamíferos, los peces teleósteos son capaces de regenerar tejido neuronal en respuesta a un daño o noxa (Figura 3). La capacidad regenerativa del cerebro adulto de peces es posible debido a una serie de procesos celulares que ocurren de manera coordinada: existencia de nichos neurogénicos y proliferación de progenitores neuronales, migración a los sitios dañados y diferenciación e integración de las nuevas neuronas en los circuitos existentes. La regeneración neuronal y el gran número de focos neurogénicos hace a los peces teleósteos un modelo de gran interés para estudiar la reparación de tejido neuronal en respuesta al daño.

Tanto el sistema nervioso central, la médula espinal y la retina de los peces teleósteos poseen una gran capacidad regenerativa. En diferentes especies de peces los procesos regenerativos han sido estudiados experimentalmente luego de realizar lesiones cerebrales. En una interesante serie de experimentos realizados en el pez lebistes (*Poecilia reticulata*) tanto en estadios juveniles como adultos se analizó la restauración morfológica del telencéfalo dorsal luego de infligir una lesión punzante. En peces juveniles se observó una proliferación reactiva en la zona ventricular dorsal en respuesta a la lesión y en consecuencia una elevada migración de células hacia el parénquima interno durante el curso de la regeneración. Luego de seis meses no quedaron rastros de la lesión y se recuperó la arquitectura tisular. Los autores reportan un proceso similar en peces adultos. Otro pez modelo utilizado para el estudio de

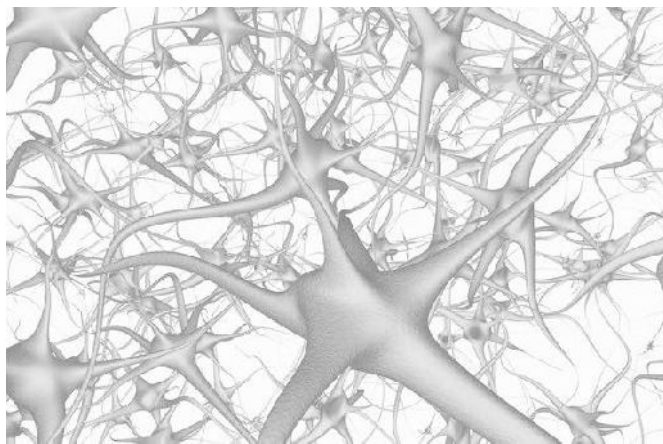
la regeneración neuronal en respuesta a injurias por lesión punzante es el pez cuchillo marrón (*Apteronotus leptorhynchus*). En este modelo se observó que luego de la injuria, se dispara una cascada de eventos fisiológicos que involucran respuesta apoptótica, remoción de las células muertas y formación de nuevas neuronas. De estos trabajos se puede concluir que: a) los procesos regenerativos del Sistema Nervioso Central (SNC) ocurren a lo largo de todo el eje rostro-caudal del cerebro, y b) que la regeneración neuronal es un mecanismo común en los peces teleósteos en general.

Uno de los peces más empleados en investigación es el pez cebra (*Danio rerio*). En este modelo, se estudiaron procesos de regeneración neuronal mediante un protocolo de injuria por objeto punzante en el telencéfalo de los peces. Luego del daño, se observó un incremento en la proliferación de precursores neuronales en la zona ventricular del telencéfalo dañado respecto del hemisferio contralateral (control). Los eventos proliferativos comienzan el día 3 y tienen un pico al día 7 luego de la injuria. A los 35 días luego del daño, la zona afectada se encuentra repoblada de neuronas nuevas que provienen de la zona ventricular mediante procesos de migración tangencial y radial.

A diferencia de lo que ocurre en los mamíferos, el proceso inflamatorio en el SNC de peces es un regulador positivo de la regeneración neuronal. El grupo de investigación liderado por el Dr. Michael Brand del Grupo de Terapias Regenerativas de Dresden, Alemania estudió cómo el proceso inflamatorio impacta en la regeneración de tejido nervioso en peces. Para esto, realizaron lesiones experimentales en el telencéfalo de peces y los trataron mediante inyección cerebro-ventricular de partículas inmunogénicas, y mediante ensayos de inmunosupresión. Demostraron que el proceso inflamatorio es requerido y es suficiente para estimular la proliferación de progenitores neuronales y la subsecuente neurogénesis. De esta manera establecieron que la inflamación, producto de una injuria cerebral, activa programas moleculares capaces de llevar a cabo la regeneración de tejido neural.

El daño en el tejido cerebral dispara una cascada de eventos y señales que conducen a la proliferación y reparación del tejido. Una serie de estudios realizados en teleósteos, han identificado un conjunto de moléculas relacionadas con la función regenerativa del SNC. Entre estas moléculas se encuentran el estradiol (sintetizado por progenitores neurales), ciertos quimiotractivos como Cxcr-4, Cxcr-5 y Cxcl-12 (también producidos por progenitores neurales), y el neuropéptido somatostatina cuya expresión se encontró incrementada de manera específica en las regiones cerebrales lesionadas y regeneradas.

El empleo de peces teleósteos como modelo para el estudio de regeneración neuronal y reparación del SNC ante daño se ha incrementado en los últimos



años, aumentando la cantidad y calidad técnica de los trabajos publicados. Sin embargo, aún estamos lejos de comprender los mecanismos involucrados en gatillar la proliferación de precursores, la determinación del fenotipo celular producido, la migración y desarrollo de las nuevas neuronas, y la integración funcional de las mismas en los circuitos neuronales del cerebro de organismos adultos. Actualmente, nuestro grupo de investigación en el Instituto de Investigación en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) está desarrollando una línea de investigación en neurogénesis adulta y regeneración neuronal, empleando como modelo de estudio a la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). En particular, estamos interesados en estudiar si la neurogénesis adulta en el telencéfalo de la trucha es capaz de generar todos los tipos neuronales necesarios para la correcta función de esta región cerebral, y si este proceso resulta ser la base mecánica de la regeneración neuronal disparada en respuesta al daño. El objetivo final de nuestro trabajo apuntará al entendimiento de los mecanismos endógenos capaces de estimular o gatillar un sistema autónomo de reparación de tejido neural ante condiciones patológicas con el fin de generar nuevas neuronas para reemplazar las dañadas.

GLOSARIO

Neurona: célula del sistema nervioso especializada en recibir, procesar y transmitir información. La neurona está compuesta por un cuerpo celular o soma y por proyecciones de membrana denominadas dendritas y axón. La principal característica de la neurona es la excitabilidad eléctrica de su membrana plasmática, la cual, mediante la recepción de estímulos sinápticos excitatorios puede activarse y generar el disparo de potenciales de acción.

Sinapsis: Conexión que establecen las neuronas entre sí. Canónicamente, una sinapsis está compuesta por el axón de la neurona pre-sináptica y por la dendrita de la neurona post-sináptica. La sinapsis puede ser excitatoria o inhibitoria, dependiendo del neurotransmisor liberado por el axón pre-sináptico y del tipo de receptor presente en la membrana post-sináptica.

Neurona aferente: neurona de la cuál proviene la información.

Neurona eferente: neurona de la cuál surge la información a ser transmitida.

Neurotransmisor: compuesto químico de pequeño tamaño que se produce en los axones y almacena en pequeñas vesículas sinápticas en los terminales del axón. Cuando la neurona se activa, es decir dispara un potencial de acción, las vesículas del terminal axonal liberan el neurotransmisor al espacio intersináptico. El neurotransmisor se une a una proteína de membrana (receptor) y desencadena una respuesta post-sináptica.

Glutamato: principal neurotransmisor excitatorio. Su liberación ocasiona la despolarización de la neurona post-sináptica permitiendo la activación neuronal (disparo de potencial de acción).

GABA: Ácido gama-amino-butírico, es el principal neurotransmisor inhibitorio. Su liberación ocasiona la hiperpolarización de la neurona post-sináptica impidiendo la activación neuronal.

Glía: Células del sistema nervioso que cumple una función de soporte y guía para el crecimiento y migración neuronal. Intervienen en la recuperación de metabolitos descartados por las neuronas, regulan el medio químico que las rodea, proporcionan una protección física y aceleran velocidad de conducción.

ADN: Ácido desoxirribonucleico, molécula encargada de codificar la información genética de los organismos. En los organismos eucariontes se almacena en el núcleo de todas las células. La molécula de ADN está conformada por 4 nucleótidos (bases nitrogenadas): adenina (A), timidina (T), guanina (G) y citosina (C). El orden secuencial de estas cuatro bases

determina la información almacenada en los genes.

Cromatina: Complejo de ADN y proteínas que conforma los cromosomas.

Ciclo celular: Conjunto de etapas que atraviesa una célula al completar una división celular o mitosis.

Mitosis: proceso por el cuál una célula se divide dando lugar a dos células hijas con la misma información genética.

Fase S del ciclo celular: Etapa del ciclo celular en la cuál el material genético (ADN) de una célula progenitora se duplica. Se denomina fase S por ser la etapa en la cual se sintetiza el ADN.

Célula madre: Célula pluripotencial con capacidad de dar origen a cualquier tipo celular del organismo.

Progenitor neural: Célula con potencial para originar una célula del sistema nervioso (neurona o glía).

Hipocampo: ver cuadro 1.

Giro dentado: Región del hipocampo que constituye la principal vía de entrada de la información a este área. Está compuesto por una densa capa de neuronas granulares y es la única región de nuestro cerebro donde la generación de nuevas neuronas persiste durante la vida adulta.

Corteza entorrinal: Área de la corteza cerebral que interviene en la generación de memorias autobiográficas, declarativas, episódicas y espaciales. Esta región conforma la principal aferencia de información al hipocampo.

Telencéfalo: En el cerebro de los vertebrados, región cerebral que principalmente interviene en el control de movimientos voluntarios, la recepción e integración de estímulos (tacto, presión, dolor, temperatura, gusto).

Corticosterona: principal glucocorticoide, involucrándose en la regulación del metabolismo, las reacciones inmunológicas y las respuestas de estrés. Es producida por la corteza suprarrenal y liberada al torrente sanguíneo en situaciones de estrés.

Marcador neuronal: Moléculas proteicas sintetizadas exclusivamente por neuronas. La identificación de dichas moléculas en una determinada célula permite distinguir distintos tipos neuronales, estadios de maduración, y función neuronal.

Análogo sintético: Compuesto químico sintetizado artificialmente que es similar en cuanto a forma y función a un determinado compuesto biológico.

Inmunohistoquímica: Técnica histológica que permite identificar moléculas de interés, utilizando reacciones antígeno-anticuerpo. Un anticuerpo específico de origen comercial se emplea para detectar de manera específica la presencia de una molécula

de interés.

Expresión génica: Todas nuestras células contienen la misma información genética. Sin embargo, diferentes células tienen diferente morfología y función. Esto se debe a que las células solo emplean una fracción de los genes que poseen. Las señales del entorno en el cual está esa célula, dictan que genes expresar (prender) y cuáles no (apagar). En realidad, cuando decimos que un gen se expresa, significa que la célula está sintetizando la proteína codificada por ese gen.

Ambiente enriquecido: Se refiere a un ambiente de cría y/o mantención de animales experimentales, donde a diferencia de una jaula estándar, los sujetos son mantenidos en ambientes de gran tamaño conteniendo túneles, diversos objetos y ruedas para realizar actividad locomotora. Este ambiente constituye *per se* un estímulo para los animales.

Isquemia: Término médico que se refiere a una condición en la cual la vasculatura no logra mantener el suministro de sangre (oxígeno y nutrientes) a los tejidos y órganos. Este proceso patológico conlleva la muerte celular.

Apoptosis: Mecanismo celular que desencadena una respuesta de muerte celular programada o suicidio celular. Es un proceso de muerte fisiológica y no patológica. La apoptosis tiene una función muy importante en los organismos, pues hace posible la remoción de células dañadas o que no son funcionales, es un proceso que ocurre naturalmente en los organismos.

Ensayo de inmunosupresión: Ensayo experimental donde se inhibe o debilita el sistema inmunológico con el fin de evitar respuesta del sistema inmune.

Teleósteos: Peces caracterizados por tener esqueleto óseo (de hueso, en contraste de los peces cartilagineos como los tiburones).

Quimiotractante: Molécula capaz de direccionar el movimiento o migración de una célula o parte de ella hacia un determinado lugar. En general estas moléculas actúan mediante gradientes de concentración, dirigiendo o repeliendo la estructura en función de la concentración del quimiotractante. En el sistema nervioso, los quimiotractantes establecen gradientes para la polarización neuronal, es decir, establecen la dirección hacia la cual los procesos neuronales (axón o dendrita) se extienden. También resultan críticos para determinar la migración neuronal hacia su posición final durante el desarrollo.

Neuropéptido: Molécula proteica pequeña, formada por unos pocos aminoácidos. Cumplen funciones de señalización y de modulación sináptica en el

sistema nervioso central.

Fenotipo celular: Constituye el conjunto de características estructurales y funcionales que son específicas de cada tipo celular. Por ejemplo una célula progenitora puede adoptar un fenotipo neuronal o un fenotipo glial. A su vez una neurona puede adoptar un fenotipo de neurona excitatoria vs. Inhibitoria. El fenotipo de una célula está determinado por el medioambiente (medio extracelular) donde está inmersa y por las señales que la misma recibe del torrente sanguíneo.

Lecturas sugeridas

Piatti, VC. (2009). *Maduración neuronal en el giro dentado del hipocampo adulto*. Trabajo de Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina. En URL: http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_4568_Piatti.pdf

Motgenstern, NA. (2011). *Efectos del envejecimiento y la neurodegeneración sobre la plasticidad neuronal en el hipocampo*. Trabajo de Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina. En URL: http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_4899_Morgenstern.pdf

Kempermann, G. (2006). *Adult Neurogenesis: Stem Cells and Neuronal Development in the Adult Brain*. Oxford University Press, Reino Unido. En URL: http://books.google.com.ar/books/about/Adult_Neurogenesis.html?id=jBObhe4bASMC&redir_esc=y

Ming, GL y Song H. (2011). Adult Neurogenesis in the Mammalian Brain: Significant Answers and Significant Questions. *Neuron*, 70, pp. 687-702. En URL: http://ac.els-cdn.com/S0896627311003485/1-s2.0-S0896627311003485-main.pdf?tid=b9c-2c6ce-c056-11e4-8a01-00000aab0f27&acd-nat=1425244124_640b5eef9c37c1d983b-b264061e6677f