

2. Alteraciones moleculares del desarrollo cerebral

JOSÉ MARÍA MEDINA

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular.
Universidad de Salamanca

RESUMEN

En este trabajo se resumen los principales acontecimientos moleculares que tienen lugar en el desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC), con objeto de entender la etiología molecular de las principales encefalopatías, especialmente aquéllas que afectan al desarrollo del córtex. El desarrollo del SNC comienza en la blástula, en la que un grupo de células denominado organizador de Spemann o nódulo de Hensen induce una zona del ectodermo a convertirse en neuroepitelio, el futuro tejido nervioso. Después de la invaginación (gastrulación), la zona rostral del mesodermo promueve el mesodermo precordial, un organizador del telencéfalo que genera la línea media de la placa tectal para dar lugar a los hemisferios. El mesodermo precordial segrega SHH, un morfógeno esencial en las primeras etapas del desarrollo del córtex. Las mutaciones del gen de la *SHH* y de los componentes de su cascada de señalización produce holoprosencefalia, la más común de las encefalopatías congénitas. Las capas del córtex se forman gracias a la migración de los neuroblastos que se dividen en la zona ventricular y que viajan hasta encontrar su estrato en el córtex. Mutaciones de los genes *LIS1*, *DCX*, *RELN*, *ARX*, *TUBA1A* o *POMT1*, involucrados en la migración neuronal, causan lisencefalias, unas enfermedades caracterizadas por la escasez de circunvoluciones cerebrales. Las mutaciones de los genes *ARFGEF2*, *EMX2* o *GPR56* causa heterotopia, esquizoencefalia o polimicrogiria, respectivamente. Además, la mutación del gen *ASPM*, que codifica una proteína asociada a los microtúbulos, interfiere en la correcta proliferación de los neuroblastos, de tal manera que impide el correcto desarrollo del córtex, lo que da lugar a la microcefalia, una enfermedad caracterizada

por la presencia de una estructura anormal del córtex, que se acompaña de un retraso mental moderado. Finalmente, los pacientes con Síndrome de Down muestran bajas concentraciones de albúmina sérica en comparación con los individuos sanos de la misma edad, lo que se acompaña de menores concentraciones de ácido oleico en los fosfolípidos cerebrales. Estas alteraciones pueden estar relacionadas con la disminución de las interconexiones neuronales observada en estos pacientes, lo que sugiere que la disminución de las concentraciones de albúmina en sangre puede ser la responsable del déficit de ácido oleico, lo que resultaría en la disminución de las interconexiones neuronales y, finalmente, en el retraso mental.

SUMMARY

The aim of this work is to summarize the available clues of the development of the Central Nervous System (CNS) in a view to gaining insight into the molecular etiology of the most common encephalopathies, in particular those affecting the building of the cerebral cortex. The development of CNS begins in the blastula in which a group of caudal mesoderm cells called Spemann's organizer drives one zone of the ectoderm to become neuroepithelium, the presumptive nervous tissue. After invagination (gastrulation) the rostral zone of organizer promotes prechordal mesoderm, an organizer of telencephalon that generates the mid-line of the roof plate and subsequent hemispheres formation. The prechordal mesoderm secretes SHH a developmental signal that directs the firsts steps of cortex development. Mutations in *SHH* gene or their transducing signals cause holoprosencephaly the most common congenital defect in brain development. Cerebral cortical layers are formed by migration of neuroblasts these dividing in the ventricular zone to reach their final strata. Mutations in *LIS1*, *DCX*, *RELN*, *ARX*, *TUBA1A* or *POMT1* genes cause lissencephaly, a disease characterized by the presence of scarce cerebral giri, since these signals are involved in neuron migration in the cortex. Mutations in other related genes such as *ARFGEF2*, *EMX2* or *GPR56* causes heterotopia, schizencephaly or polymicrogyria, respectively. In addition, mutation of the *ASPM* gene which encodes a microtubule-associated protein interferes in neuroblast proliferation in such a way that it prevent cortical growth resulting in microcephaly, a disease featuring abnormal development of the cortex and associated with a moderate degree of mental retardation. Finally, Down's syndrome patients show lower blood albumin concentrations than their healthy counterparts which is accompanied by decreased levels of oleic acid in brain phospholipids. These biochemical alterations may be associated with the decrease in neuronal interconnection frequency observed in such patients. Whether the deficit in blood albumin observed in Down's patients during brain development is responsible

for the decrease in oleic acid concentrations in the brain, resulting in the plunge in intelligence quotient observed in these patients after birth, remains to be elucidated.

INTRODUCCIÓN

A diferencia del resto de los primates, el desarrollo del cerebro humano tiene lugar en dos etapas bien diferenciadas. La primera coincide en el tiempo con la mayoría de los mamíferos y tiene lugar durante la etapa embrionaria. La segunda, sin embargo, tiene lugar durante el periodo perinatal y es la responsable de la adquisición de la complejidad de las estructuras cerebrales observada en nuestra especie. En este sentido, la denominada «neurogénesis secundaria» coincide con el periodo postnatal temprano y parece destinada al desarrollo de nuestro córtex más allá de los límites alcanzados en otros primates. En este trabajo revisaremos el desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC) para centrarnos en la etiología molecular de las principales enfermedades congénitas que cursan como resultado de mutaciones genéticas que afectan al desarrollo del SNC.

1. DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

El desarrollo del SNC comienza en los primeros estadios de desarrollo del embrión, puesto que su comienzo tiene lugar cuando el embrión es sólo blástula, coincidiendo con las primeras diferenciaciones de las células totipotenciales del óvulo. En una primera fase se forma el tubo neural, una estructura cerrada que se desarrolla gracias a los organizadores, es decir grupos de células que segregan factores morfogénicos que segmentan el tubo hasta elaborar un esquema de lo que luego será el SNC. Posteriormente, la pared de este tubo se diferencia en su extremo rostral para dar origen al telencéfalo. Dentro de éste se desarrollará el córtex, cuyas células, procedentes de la zona subventricular, migrarán hasta situarse en niveles discretos, conformando la estructura más importante de nuestro SNC. En la especie humana, el córtex sufre un segundo perfilado durante la etapa perinatal, que le da la complejidad final observada en el adulto y que constituye el substrato de la inteligencia.

1.1. Formación del tubo neural

Cuando la gastrulación del embrión se completa, el endodermo y el mesodermo han invaginado dejando al ectodermo cubriendo la superficie. En este estado, conocido como blástula, una parte del mesodermo dorsal, denominado «organizador de Spemann» (también llamado nódulo de Hensen), induce una parte

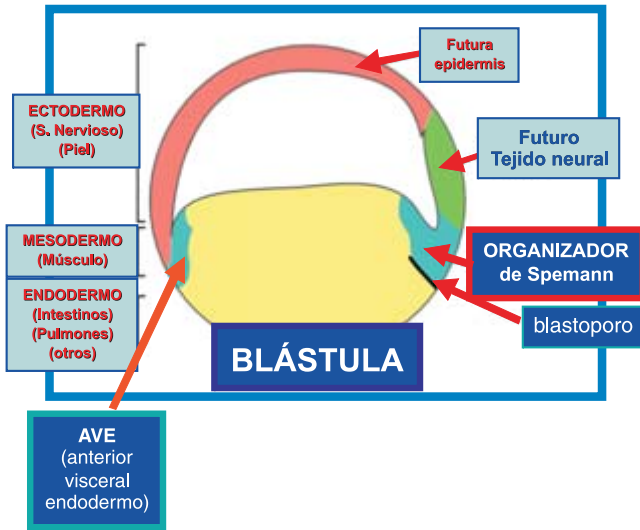


FIGURA 1. *El desarrollo del SN comienza en el estadio blástula, cuando una parte del endodermo caudal denominado organizador de Spemann o nódulo de Hensen induce al ectodermo proximal a desarrollarse en neuroepitelio. El AVE («anterior visceral endodermo»), otro organizador, segrega cerberus y dickkopf, dos morfógenos que impiden que el futuro telencéfalo entre en el programa general del desarrollo del tubo neural*

del endodermo a convertirse en neuroepitelio, el cual dará, posteriormente, origen al tubo neural y, finalmente, al Sistema Nervioso (Fig. 1). La formación del neuroepitelio comienza con la activación del mesodermo para convertirse en ectodermo, proceso que se induce por la activina, un factor de crecimiento de la familia de los PGFs («polypeptide-growth factors»), los cuales están emparentados con el más conocido TGF-beta («transforming growth factor beta»). El nuevo ectodermo se transformaría directamente en neuroepitelio si no fuera porque las propias células ectodérmicas producen, a su vez, unos factores de crecimiento de la propia familia PGF, denominados BMP-2 y BMP-4 («bone morphogenic factors»), que inducen la transformación del ectodermo en epidermis (1).

Sin embargo, la zona mesodérmica denominada organizador de Spemann segrega folistatina, noggina y cordina, que contrarrestan específicamente los efectos de los BMP-2 y BMP-4, permitiendo que la zona ectodérmica cercana al organizador no origine epidermis sino neuroepitelio. El papel de estos inhibidores no parece ser tan simple, porque su efecto inhibitor es redundante, lo que indica que tienen funciones adicionales en el desarrollo del neuroepitelio. Es posible que, como veremos más tarde, jueguen un papel importante en la zonación del

Destino del mesodermo

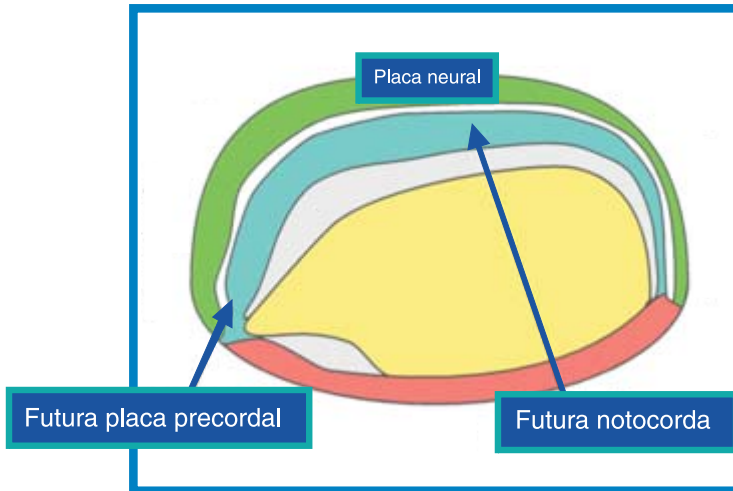


FIGURA 2. Las células del organizador de Spemann migran rostralmente formando el mesodermo cordal que subyace la zona del ectodermo que va a constituir la placa neural. El mesodermo cordal dará origen en su zona caudal a la notocorda, que dirigirá el desarrollo del romboencéfalo y de la espina dorsal. Sin embargo, en la zona rostral el mesodermo cordal da origen al mesodermo precordial o placa precordial, que dirige el desarrollo del telencéfalo mediante la secreción de nodal, *SHH* («sonic hedgehog») y *BMPs* («bone morphogenic proteins»)

neuroepitelio. Por otro lado, en la zona rostral de la blástula se distingue un nuevo organizador, el denominado AVE («anterior ventral endoderm») que segrega *cerberus* y *dickkopf*, dos morfógenos que inhiben las señales neurogénicas para reservar la zona rostral de la placa neural para el telencéfalo (Fig. 1).

En el estado de blástula el mesodermo sufre una invaginación a partir del labio del blastoporo, de manera que el organizador se coloca debajo del ectodermo proximal, es decir, aquél que se va a convertir en neuroepitelio (Fig. 2). La proa de esta invaginación se conoce como mesodermo precordial y, como tal «organizador», inducirá al ectodermo yuxtapuesto a convertirse en telencéfalo, mientras que el mesodermo posterior, denominado mesodermo cordal, va a inducir la conversión del ectodermo yuxtapuesto en mesencéfalo, romboencéfalo y espina dorsal, respectivamente, dependiendo de su distancia a la proa del mesodermo o mesodermo precordial. De esta manera, el mesodermo establece so-

bre el ectodermo una zonación que dará origen a las diferentes partes del sistema nervioso, tanto central como periférico.

De hecho, el neuroepitelio, formado por una sola fila de células, es decir, la placa neural, comienza a doblarse en sitios específicos para plegarse en forma de tubo. Estos plegamientos se consiguen en el lugar de contacto con la notocorda, así como en otros dos puntos más distantes gracias al estrechamiento y consiguiente pinzamiento de determinadas células. La formación del tubo neural puede, asimismo, estar condicionada por el reconocimiento intercelular debido a las diferentes cadherinas que expresan las células epidérmicas (E-cadherinas) y neuroepiteliales (N-cadherinas). Las cadherinas serán, asimismo, importantes en la formación de la cresta neural. Es posible, por tanto, que el tubo neural se cierre por el reconocimiento entre sí de las células del neuroepitelio, gracias a la presencia en las células de éste de N-cadherinas (1).

1.2. Diferenciación anteroposterior. Formación del romboencéfalo

Una vez finalizado el cierre del tubo neural tiene lugar la segmentación del tubo en lo que se denominan rombómeros. Se trata de ocho divisiones del romboencéfalo, que juegan un papel importante en el diseño de las regiones del cerebro. De hecho, las primeras neuronas crecen en rombómeros alternativos, comenzando por los rombómeros impares y siguiendo por los pares, constituyendo unas estructuras de repeticiones de dos segmentos que constituyen el perfil de crecimiento de las primeras neuronas. Sin embargo, más avanzado el desarrollo, las neuronas pueden migrar de un rombómero a otro, puesto que éstos dejan de ser distinguibles. Por consiguiente, los rombómeros son compartimentos propios del desarrollo, que desaparecen en el adulto. Así, durante el desarrollo, las neuronas de un rombómero permanecen dentro de él para alcanzar localizaciones específicas. En este sentido, la segmentación del romboencéfalo en rombómeros parece ser intrínseca de esta parte del neuroepitelio y, supuestamente, es debida a diferentes moléculas de reconocimiento de superficie, que reconocerían a la células de su propio rombómero y no a las del rombómero adyacente. Aunque es en el romboencéfalo en el que la segmentación es más aparente, la compartimentación también tiene lugar en el telencéfalo. En este caso se observan 6 ó 7 neurómeros, aunque su significado no está claro. Es más, se piensa que el telencéfalo y el diencéfalo están organizados en una serie de parches que pueden extenderse longitudinal o transversalmente.

La segmentación del romboencéfalo en rombómeros se lleva a cabo por la expresión de dos genes diferentes del grupo Krox-20 (homólogo de EGR2: «early

growth response»), es decir, el Sek-1 (SAPK/ERK kinase-1): «stress-activated protein kinase/extracelular-signal regulated protein kinase»), que se expresa en los rombómeros impares y el Elf-2 (efrina B2), que lo hace en los pares. Este hecho crea clones celulares con diferentes proteínas de adhesión y/o reconocimiento, que quedan confinados en las zonas que más tarde darán lugar a los rombómeros. Las particiones entre rombómeros se consolidan posteriormente (del estado 13 embrionario en adelante) mediante la creación de separaciones estables que tienen lugar por la expresión local del gen denominado Plzf («promyelocytic leukemia zinc finger»), que codifica un factor de transcripción en dedo de zinc. Bajo la responsabilidad o no de este gen, en las zonas delimitadoras se sintetizan condroitín sulfato y vimentina, creando ambos el límite material entre rombómeros (1).

1.2.1. *Rombómeros 2 al 7*

El desarrollo de los rombómeros se lleva a cabo mediante la expresión de los genes Hox («homeobox»), equivalentes en vertebrados a los del selector homeótico de *Drosophila*. En ellos se cumple el principio de colinearidad, que consiste en que estos genes están agrupados de forma que se ordenan 3'--> 5' en el DNA, es decir, en el mismo orden que va a determinar la diferenciación de los rombómeros en el axis anteroposterior. Los genes Hox se inducen por un gradiente de ácido retinoico procedente del organizador. En efecto, en el organizador de Spemann se sintetiza retinoico, que difunde por los rombómeros en dirección 7--> 2 (el rombómero r1 no posee genes Hox). El gradiente de ácido retinoico es, pues, el agente diferenciador del romboencéfalo, a través de la inducción de los genes Hox. Dado que estos genes son más sensibles al ácido retinoico cuanto más cercanos estén al extremo 3' del DNA, son los genes Hox colocados a la cabeza del grupo los primeros en inducirse, mientras que los situados hacia el extremo 5' se inducen tardíamente o permanecen silentes. De esta manera, y dado que el rombómero 7 recibe más retinoico, se expresarán en él todos los genes Hox, mientras que en los siguientes tendrá lugar un gradiente de expresión encabezado por los cercanos a 3' y decreciendo su expresión conforme se alejan de este extremo. De esta manera se cumple el principio de colinearidad, puesto que el r2 (el primero en contener genes Hox inducibles) expresa más los genes Hox próximos a 3', mientras que en el rombómero más caudal, el r7, se expresan también los menos sensibles al ácido retinoico, es decir, los próximos a 5'. Los genes Hox responden al ácido retinoico, gracias a que contienen en sus promotores elementos que responden a este morfógeno, denominados RAREs («retinoic acid responsive elements») y RXREs, los que

a su vez reconocen los receptores nucleares de la familia RAR y RXA, que se activan por su unión al ácido retinoico (1, 2).

1.2.2. *Rombómero 8. Desarrollo de la espina dorsal*

La zona caudal del tubo neural, destinada a formar la espina dorsal, sufre una segmentación en cierta manera similar a la del romboencéfalo, aunque el mecanismo de segmentación es diferente. En este sentido, el neuroepitelio del extremo caudal, denominado «rombómero 8», se diferencia en el eje anteroposterior por la acción del mesodermo paraxial próximo («interacción planar», antes mencionada). La segmentación se produce mediante la formación de los esclerotomos, divisiones que forman los somitas. Estos últimos equivalen a los rombómeros del romboencéfalo, si no fuera porque dirigen una segmentación diferente, ya que los somitas no contienen diferentes tipos de células en compartimentos estancos. Sin embargo, el esclerotomo rostral de cada somita recluta células de la cresta neural, que darán lugar a neuronas motoras del Sistema Nervioso Periférico. Es más, en el esclerotomo rostral está permitido el crecimiento de los axones que, finalmente, forman los nervios motores. Por el contrario, en el esclerotomo caudal de cada somita se segregan glicoproteínas, que no sólo impiden la migración de las células de la cresta en sus alrededores, sino que, además, causan el colapso de los «conos de crecimiento» (zonas donde se inicia el crecimiento de los axones). Esta bipolarización anteroposterior de los somitas crea la segmentación de la espina dorsal correspondiendo con la segmentación del resto del cuerpo, incluida su inervación. Así, aunque no existe una segmentación propiamente dicha del neuroepitelio caudal, las neuronas motoras se sitúan en columnas discontinuas, emergiendo de ellas neuronas diferentes si se trata de la zona branquial o lumbar. Por consiguiente, en la zona caudal existe una segmentación similar a la del romboencéfalo. En este caso, la segmentación en diferentes clases de neuronas se debe a la expresión diferencial de la caja homeótica denominada LIM (acrónimo de los genes *Lin11*, *Isl1* y *Mec3*), que codifica proteínas con zonas de dobles dedos de zinc denominadas LIM, y que muestra claras fronteras a lo largo del neuroaxis de la futura espina dorsal (1).

1.3. **Diferenciación dorsoventral**

La responsable última de la diferenciación dorsoventral es la notocorda, una estructura cilíndrica que corre paralela a lo largo de la zona ventral del tubo neural, desde su extremo caudal hasta el comienzo del diencéfalo. De hecho, las cé-

lulas del neuroepitelio cercanas a la notocorda generan una clase específica de glía, que forma una estrecha franja de células que corre a todo lo largo del tubo neural hasta el comienzo del diencéfalo y que se denomina placa basal. La diferenciación dorsoventral producida por la notocorda no finaliza aquí, sino que en las zonas próximas a la placa basal comienzan a diferenciarse neuronas motoras, en segmentos que recorren el tubo neural desde el extremo caudal hasta el mesencéfalo (oculomotoras), derivan en neuronas eferentes acústico-vestibulares en la frontera de los rombómeros 4 y 5, o se diferencian en neuronas serotoninérgicas en el rombómero 1 y dopaminérgicas en la zona caudal del mesencéfalo. En resumen, la notocorda induce la diferenciación celular, primero por la formación de la glía de la placa basal y, posteriormente, por la diferenciación de las primeras neuronas, que se transforman en neuronas motoras, serotoninérgicas, dopaminérgicas, etc.

El efecto diferenciador de la notocorda es debido a la expresión, primero en ella y posteriormente en la placa basal, de una proteína denominada SHH («sonic hedgehog»). Esta proteína difunde a partir de la notocorda induciendo la diferenciación celular próxima para formar las células de la placa basal. La SHH es, en realidad, un precursor que se rompe por autoproteólisis en dos fragmentos, el extremo N-terminal (SHH-N), causante de la diferenciación y el extremo C-terminal (SHH-C), de importantes funciones reguladoras. De hecho, la activación de la SHH incluye, además de la proteólisis, la adición de una molécula de colesterol en la fracción N-terminal (2, 3). Por otro lado, el extremo C-terminal es activador de la proteólisis del propio precursor SHH y funciona, además, como fijador del extremo N-terminal activo a la superficie de la notocorda. La secreción de la SHH en la superficie de la notocorda produce un gradiente diferenciador, muy alto en las células próximas, que derivan en glía de la placa basal, y mucho menor en las células neuroepiteliales adyacentes. Esta señal, «templada» por la retención de la SHH en los alrededores de la placa basal, es la clave para la diferenciación de las neuronas motoras en los segmentos correspondientes del tubo neural. (2, 3).

Es muy importante destacar que la señal de la SHH es idéntica a lo largo de toda la placa basal, de manera que el destino de las células a lo largo del tubo neural está predeterminado con anterioridad, seguramente por la diferenciación anteroposterior producida por el ácido retinoico. En este sentido, la SHH induce neuronas dopaminérgicas en el mesencéfalo porque éstas ya estaban predeterminadas y los explantes siguen diferenciándose a las neuronas previstas en origen, con independencia del lugar del tubo neural donde se inserten artificialmente. La diferenciación de la placa basal se lleva a cabo por la inducción, me-

diada por SHH, del factor de transcripción en hélice alada HNF3beta («hepatocyte nuclear factor»), que es un marcador de la diferenciación de la placa basal, así como del gen homeótico Nkx2.1, un marcador de las células ventrolaterales del tubo neural. La SHH también reprime los genes homeóticos Msx-1 y Pax-3, lo que sugiere que la inactivación de ciertos genes también juega un papel esencial en el desarrollo dorsoventral del tubo neural (1).

La señal SHH se difunde por la placa basal a las células adyacentes, alcanzando débilmente al neuroepitelio próximo donde induce la expresión del gen homeótico Isl-1, un gen de la caja LIM, que induce la diferenciación de las neuronas motoras inmediatamente tras su mitosis. Posiblemente el gen Isl-1 intervenga más en la diferenciación de las neuronas motoras que en la posible pre-determinación de su destino, ya que el Isl-1 interviene, asimismo, en la diferenciación de las interneuronas.

Como se ha mencionado antes, la notocorda se extiende desde el extremo caudal hasta la mitad del diencéfalo. En este sentido, la inducción de neuronas motoras tiene un límite claro en la frontera del mesencéfalo y el diencéfalo. Sin embargo, a pesar de la falta de notocorda, la diferenciación dorsoventral continúa hasta el extremo rostral, incluyendo toda la zona ventral del diencéfalo y el telencéfalo. Por consiguiente, cabe preguntarse qué mecanismo subyace en la diferenciación dorsoventral en las zonas rostroventrales del tubo neural. La respuesta es bien sencilla: la SHH se expresa a lo largo de la línea ventral del diencéfalo y el telencéfalo, extendiéndose lateralmente en dos alas, es decir, en el denominado mesodermo precordial. Es más, las células ventrales de esta zona expresan Isl-1, aunque su inducción no resulta en la aparición de neuronas motoras, tal como tenía lugar en zonas más caudales. Este hecho indica, además, que el gen Isl-1 es más un marcador general de la diferenciación dorsoventral que específico de las neuronas motoras. Sin embargo, las células ventrales del mesencéfalo y telencéfalo, que expresan Isl-1, también muestran actividad del Nkx-2.1, un gen específico del Sistema Nervioso Central y no de neuronas motoras, lo que pone de manifiesto, una vez más, que la señal SHH induce la diferenciación específica anteroposterior, de manera que en cada zona aparecen las células anteriormente predeterminadas.

La diferenciación dorsoventral del diencéfalo y telencéfalo es, sin embargo, más sofisticada, puesto que el diencéfalo controla la diferenciación del telencéfalo. Así, la SHH se expresa primero en el diencéfalo ventral y las células rostrales de esta zona inducen el Isl-1 en las células telencefálicas. Este perfil de diferenciación sugiere la existencia de una interacción «planar» como consecuencia de la difusión caudorrostral de la SHH. En este sentido, está fuera de toda duda que

el diencefalo medial controla el desarrollo de ciertas zonas del telencéfalo. Así, la SHH induce los genes Pax-2 y Pax-6, responsables del desarrollo del ojo, incluidos la retina, el cristalino y la córnea. Curiosamente estos genes tienen sus homólogos en *Drosophila*, donde desarrollan el ojo compuesto propio de los insectos, el cual no posee cristalino y en donde la imagen se forma mediante pequeños receptores aislados y no asociados entre sí, como en el caso de la retina (1).

1.4. Desarrollo del telencéfalo

El desarrollo del telencéfalo comienza por el extremo rostral inducido por la ANR («Anterior Neural Ridge») o cresta neural anterior, que produce Fgf8, el cual se extiende por lo que va a ser el telencéfalo, activando la síntesis de Foxg 1, un factor de transcripción que configura el área telencefálica (Fig. 3). Ahora el telencéfalo se diferencia intrínsecamente gracias a la inducción de los factores de trans-

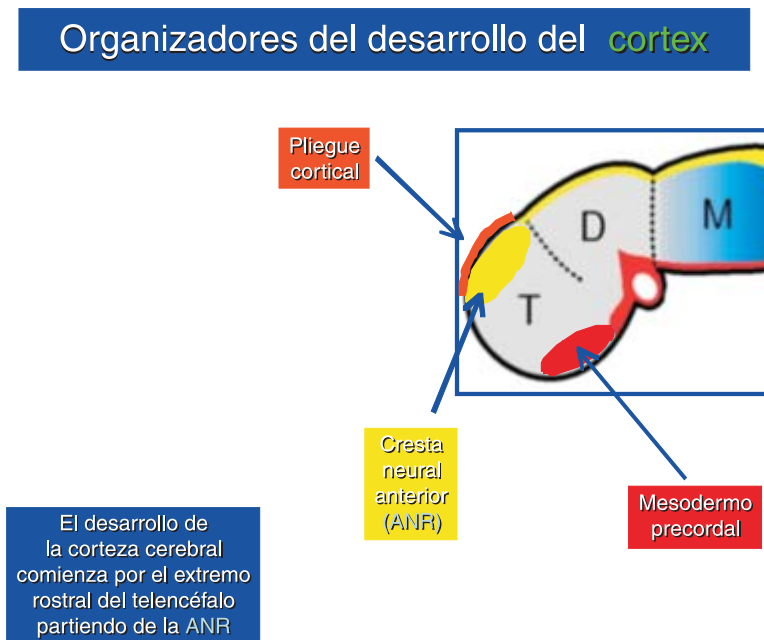


FIGURA 3. Además del mesodermo precordial, el telencéfalo tiene dos organizadores más, la cresta neural anterior («anterior neural ridge»; ANR) y el pliegue cortical («cortical hem»). Sin embargo, es el mesodermo precordial el que dirige la formación de la línea media dorsal, que dividirá la placa tectal en los dos hemisferios

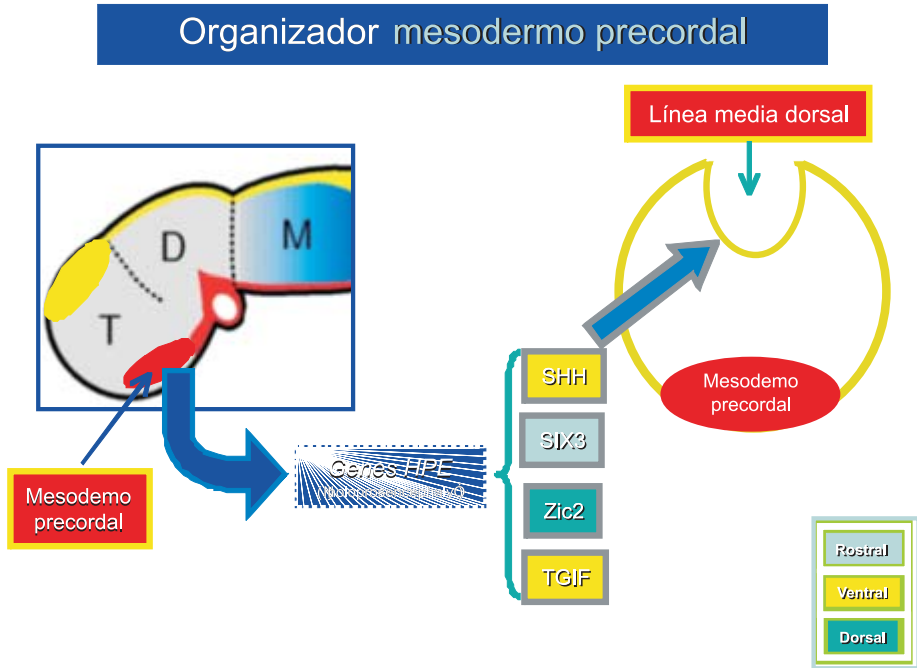


FIGURA 4. El mesodermo precordal induce la línea media dorsal a través de la SHH y de sus dianas finales. Éstas son dos genes homeobox: el SIX3 y TIGF y dos factores de transcripción, el Zic2 («zinc finger protein 2») y el Gli2 («glioma-associated oncogene homologue»)

cripción de tipo bHLH, Ngn (neurogeninas 1 y 2) y el de tipo de dedo de zinc, Gli3 (glioblastoma 3) en la zona palial (dorsal), mientras que se inducen los de tipo bHLH, ASC1 («achaete-scute»; sus homólogos en mamíferos se denominan Mash y Hash) en la zona subpalial (ventral). Los primeros contrarrestan la acción de los segundos, diferenciando claramente las zonas palial y subpalial del telencéfalo. La zona palial refuerza su diferenciación mediante la inducción del gen Lhx2, un gen perteneciente a la caja LIM (acrónimo de los genes Lin11, Isl1 y Mec3), cuyo producto de expresión determina la zona ventricular (VZ), origen de la corteza cerebral o córtex. La zona ventricular continúa su diferenciación en la zona ventricular subpalial, generando el sistema límbico. Estos cambios se llevan a cabo mediante el TGFalfa que, a través del receptor erbB, induce la síntesis de la proteínas LAMP («limbic system-associated membrane protein») (4).

El segundo organizador del telencéfalo es el mesodermo precordal, situado en la zona ventral del telencéfalo (Fig. 3). Mediante la SHH promueve la formación de la línea media dorsal que divide a los hemisferios (Fig. 4). La dife-

renciación se lleva a cabo con la colaboración de los factores de transcripción, Six3, Zic2 y TGIF («Transforming Growth Interacting Factor»). La SHH y el TGIF se expresan en la zona ventral, mientras que el Six3 lo hace en la rostral y el Zic2 en la dorsal (Fig. 4) (4).

La línea media de la placa tectal promueve, a su vez, la formación del tercer organizador del telencéfalo, es decir, el pliegue cortical. Esto se lleva a cabo mediante las BMPs («bone morphogenic proteins»), segregadas por las células de la línea media de la placa tectal. Éste es un paso importante, porque el pliegue cortical activa al gen Wnt3 («wingless integration site») que produce Lef1, un factor de transcripción que promueve la expansión de la zona ventricular próxima al hipocampo. Finalmente las áreas posteriores del córtex (visual e hipocampo) se determinan por el gen Emx2 («empty spiracles»), mientras que las anteriores (motoras) por el gen Pax6 («paired box») (4).

1.5. Desarrollo del córtex

1.5.1. *Desarrollo del córtex durante el periodo embrionario*

Durante el desarrollo embrionario el tubo neural está formado por una capa de células, que permanece más o menos estable hasta que el tubo neural se ha diferenciado, mostrando lo que serán las partes futuras del Sistema Nervioso en lo que se ha denominado «tubo neural en cinco vesículas». Llegado este momento, sin embargo, se inicia la proliferación celular del epitelio comenzando por la zona más cercana al ventrículo, es decir, la denominada zona ventricular. De hecho el neuroepitelio está formado por una sola clase de células alargadas que, en un momento dado, retraen sus procesos hacia la zona ventricular, donde entran en mitosis. Las primeras células en diferenciarse son las células gliales radiales, que extienden sus procesos perpendicularmente a la superficie del neuroepitelio a la que, finalmente, alcanzan. De esta manera, extienden sus procesos en toda la anchura del neuroepitelio, constituyendo el «andamio» por el que las neuronas van a trepar en busca de destinos más lejanos. En efecto, las neuronas primordiales se disponen en estratos y comienzan a avanzar hacia la superficie del neuroepitelio, trepando por los procesos de las células gliales radiales para, finalmente, constituir las diversas capas en las que se distribuyen las células en el córtex (1).

Gracias a que las células gliales radiales poseen un antígeno específico, denominado RC2 («intermediate filament-associated protein»; Ifaprc2), de apari-

ción precoz, se conoce que la diferenciación de las células gliales radiales es el fenómeno que inicia la neurogénesis (5). En la zona ventricular, las neuronas proliferan y cuando salen de la mitosis generan una capa en la que se excluyen los núcleos, denominada zona marginal, que está destinada a ser la más lejana del ventrículo cuando termina la diferenciación definitiva de la corteza cerebral. En este estadio, por consiguiente, el neuroepitelio está formado por dos zonas: la zona germinal cercana al ventrículo y, por encima de ella, la zona marginal formada por los axones emitidos por las neuronas próximas a la zona germinal.

En este momento algunas neuronas empiezan a alejarse del ventrículo, atraviesan la zona marginal y forman un nuevo estrato denominado preplaca. Entre los axones de la zona marginal y la preplaca aparece un nuevo estrato, denominado zona intermedia. Esta última zona constituirá el contacto de la corteza con el hipotálamo, una vez finalizada la diferenciación del Sistema Nervioso Central. En resumen, al finalizar esta etapa, el neuroepitelio está formado por tres capas: la zona ventricular, formada por las células proliferativas multipotenciales, la zona intermedia, formada por axones y la preplaca, formada por las neuronas postmitóticas. El proceso continúa mediante la aparición de más neuronas en la zona ventricular que, posteriormente, migran a través de la zona intermedia a la preplaca, a la que expanden formando la placa cortical. Esta última queda limitada por una nueva zona denominada subplaca, contigua a la zona intermedia, mientras que por el extremo superior le cubre la zona marginal definitiva.

Finalizada la diferenciación, la placa cortical formará los estratos de la corteza cerebral, a excepción de la I (la más externa), que corresponderá a la zona marginal definitiva. Por el extremo inferior, la corteza estará limitada por la materia blanca y, sólo en las denominadas «zonas germinales secundarias» (véase más adelante), continuará la proliferación, en una zonas que, por su situación próxima al ventrículo y bajo el resto de la corteza, se denominan «zonas subventriculares». En estos núcleos continuarán la neurogénesis y la gliogénesis durante el periodo postnatal. De hecho, la neurogénesis secundaria continúa, en el caso del hombre, hasta los dos años, generando interneuronas, tales como las células granulares del cerebelo e hipocampo. Las interneuronas cerebelosas se forman, asimismo, desde la zona germinal secundaria del cerebelo, aunque ésta última está situada en el exterior de este órgano, puesto que la migración cerebelar es centrípeta. En el proceso de formación de la placa neural intervienen las proteínas de la matriz extracelular, puesto que el déficit de una de ellas, la reelina, segregada por las neuronas de la lámina I del córtex y por las células de Cajal-Retzius (6), impide la separación de la subplaca de la zona marginal

definitiva, impidiendo la formación de la placa cortical y de las circunvoluciones (véase lisencefalias, más adelante).

Para llevar a cabo la migración, la neurona adopta una forma bipolar, fielmente paralela al proceso glial. En el extremo más lejano a su lugar de origen comienzan a generarse unas uniones específicas entre neurona y célula glial, denominadas «uniones intersticiales». Se trata de una estructura diferente a otras uniones intercelulares, consistente en un ensanchamiento del espacio intermembranal, que es ocupado por numerosos filamentos que se inician desde las proteínas de membrana de las neuronas conectadas con el citoesqueleto. Todo parece indicar que las uniones intersticiales sirven de anclaje a la neurona para iniciar la escalada, que se repite una y otra vez hasta alcanzar la ubicación adecuada. En el proceso glial se expresa una proteína de reconocimiento, denominada astrotactina, que es reconocida por la neurona y que, al parecer, inicia la formación de la unión intersticial. Se trata de una proteína con repeticiones de EGF y de algunos dominios de la fibronectina tipo III. Una vez anclada en el proceso del astrocito, la neurona traslada su soma para el avance mediante un mecanismo en que interviene una proteína asociada a los microtúbulos (MAPs) denominada doblecortina (7). Asimismo, al mismo tiempo se produce la nucleoquinesis, un fenómeno en el que están implicadas varias proteínas, entre ellas la dineína y la proteína codificada por el gen LIS1 («lissencephaly type-1-like domain-containing protein»; véase lisencefalias).

Sólo las neuronas que van a llevar a cabo la migración tangencial abandonan el andamio glial, mientras que la mayoría continúa hasta alcanzar el estrato previsto. Un hecho fundamental dentro de la migración radial es que cuanto más jóvenes sean las neuronas más lejano será su lugar de residencia definitivo, de manera que las primeras que salen de la zona germinal (ventricular) ocupan los lugares más cercanos, mientras que las que se generan posteriormente alcanzan estratos más externos. Es necesario destacar que el andamio glial es permisivo y no instructivo en cuanto a la diferenciación neuronal. Es decir, que las células gliales radiales permiten la migración de las neuronas pero no determinan ni su lugar de residencia ni sus características fenotípicas. En este sentido, la migración neuronal puede consistir en una serie de interacciones célula-célula, en las que la neurona llevaría consigo sus destinos tópico y fenotípico, usando la glía sólo como guía y soporte. De ser así, la neurona, al detectar la astrotactina, generaría una señal inductora de la síntesis de todas aquellas proteínas propias necesarias para la migración, mientras que mantendría una señal en la glía para que colaborara en su movimiento. Una vez alcanzado su lugar de destino, la propia neurona silenciaría los mecanismos de migración propios, así como los de la célula glial radial.

La formación de las capas de la corteza cerebral está condicionada por los estratos previamente existentes. Así, las primeras células en proliferar darían origen a la lámina VI, es decir, a la más cercana a la zona ventricular. La diferenciación final de estas células vendría controlada por factores tróficos procedentes de la zona ventricular. Una vez ocupada la primera capa, las células de ésta liberarían factores que marcarían el desarrollo de las células que, procedentes de la zona ventricular, ocuparían la segunda posición. Los factores tróficos procedentes de la primera capa no germinativa regularían la diferenciación de la capa que la cubre y así sucesivamente. Por consiguiente, cada célula diferenciada liberaría los factores neurotróficos necesarios para la diferenciación de la siguiente capa, generándose un gradiente de factores que pondrían en funcionamiento la expresión de conjuntos de genes («subrutinas») que originarían las características tópicas y fenotípicas propias de cada capa. La diferenciación de cada una de las capas dependerá de las subrutinas puestas en funcionamiento y del orden en que éstas son inducidas (6).

1.5.2. Desarrollo del córtex durante el periodo perinatal

El cerebro del recién nacido humano sigue su crecimiento durante el periodo postnatal, multiplicando por cuatro su peso debido a la proliferación neuronal y glial, con el correspondiente crecimiento de axones, dendritas y procesos gliales. Por otro lado, la mielinización es un proceso eminentemente postnatal, contribuyendo muy sensiblemente al aumento del volumen y del peso del cerebro del neonato. Este crecimiento se corresponde con un aumento del volumen del cráneo, a la vez que existe un aumento de las circunvoluciones cerebrales, aprovechando eficientemente el espacio disponible. Así, en la etapa postnatal, concretamente durante el primer año, se desarrollan totalmente los denominados surcos terciarios, es decir, las circunvoluciones cerebrales que han aparecido durante los dos últimos meses de la gestación.

La neurogénesis «secundaria», llamada así porque tiene lugar en la segunda fase de proliferación neuronal, es característica de los vertebrados y, en el hombre, tiene lugar durante el periodo postnatal. De hecho, durante la fase postnatal de la neurogénesis se genera un importante número de poblaciones neuronales de gran importancia en el desarrollo final del SNC. La proliferación neuronal secundaria se lleva a cabo en las denominadas «zonas germinales secundarias», áreas del cerebro y del cerebelo que continúan generando neuronas hasta el segundo año de vida. En el recién nacido, la corteza cerebral está limitada en su extremo inferior por la materia blanca que, excepcionalmente, se in-

terrumpe por las zonas germinales secundarias que, por su situación próxima al ventrículo y bajo el resto de la corteza, se denominan zonas subventriculares (8). En el caso del cerebelo, estos núcleos o zonas compactas están situados cercanas al labio rómbico, siendo la migración de la nuevas neuronas de carácter centrípeto y no centrífugo, es decir, siguiendo un comportamiento similar al de las neuronas «primarias».

En estas zonas del cerebro y del cerebelo la neurogénesis y gliogénesis continúan durante el periodo postnatal, prolongándose en el caso del hombre hasta los dos años de vida. En el cerebro, la zonas subventriculares dan origen a neuronas que emigran al bulbo olfatorio o forman las células granulares del hipocampo, aunque también se forman células gliales de la corteza. En el cerebelo, las zonas germinales subventriculares dan lugar a interneuronas, mientras que las del labio rómbico generan células granulares, que formarán la capa granular interna del cerebelo. Las neuronas «secundarias» generadas en esta segunda fase se intercalan en las estructuras ya existentes creadas durante la neurogénesis primaria, completando así la compleja estructura del SNC.

El crecimiento postnatal del número de neuronas tiene lugar principalmente en el córtex, donde, dependiendo de las zonas, el crecimiento neuronal continúa hasta los cinco meses, como en el caso de la corteza visual, o hasta los siete años, como en el córtex frontal. La proliferación neuronal se acompaña del crecimiento de las dendritas, lo que indica que la diferenciación sigue a la proliferación. Así, el número de espinas dendríticas, aquellas estructuras donde se realizan las sinapsis, aumenta hasta los cinco meses en la corteza visual, coincidiendo con la neurogénesis. De hecho, el número de sinapsis crece exponencialmente tras el nacimiento, multiplicándose por dos entre el segundo mes y el final del primer año. Asimismo, el consumo de glucosa, un excelente índice del metabolismo energético, aumenta significativamente hasta el cuarto año, lo que refleja el esfuerzo sinaptogénico que se lleva a cabo durante este periodo (9).

La proliferación celular y la neurogénesis continúan en las paredes laterales de los ventrículos laterales durante la vida postnatal, particularmente en las zonas cercanas a las eminencias ganglionares media y lateral. En los roedores (5), la denominada zona ventricular (VZ), única capa del córtex durante la fase embrionaria, continúa proliferando durante la vida postnatal. Así, las células de esta zona entran en fase S y migran hacia el lumen ventricular donde se dividen. En el momento del nacimiento la zona periventricular granular es muy extensa, diferenciándose dos zonas, la zona ventricular (VZ) y la subventricular (SVZ), también llamada subependimal. La VZ se caracteriza por expresar noggina, mientras que la SVZ expresa DLX2 («distal less»), un marcador de «precursores secundarios».

A P0 la mayoría de las células son glías radiales, puesto que se marcan para RC2, un antígeno específico de estas células, aunque también se observan algunos ependimocitos inmaduros. Muy pocas son GFAP+, un marcaje específico de los astrocitos de la SVZ. A P7, la proporción de radiales ha disminuido a favor de los ependimocitos inmaduros, lo que sugiere que las glías radiales han dado origen a las células ependimales inmaduras. En este estadio comienzan a aparecer las células GFAP+, es decir, los astrocitos de la SVZ. Por último, a P15, las radiales han desaparecido, por lo que la VZ está compuesta por ependimocitos maduros e inmaduros (10). En este momento la mayoría de las células son GFAP+, lo que sugiere la presencia mayoritaria de astrocitos de la SVZ (5).

Por consiguiente, todo parece indicar que las glías radiales son las células madre neuronales, que se transforman en astrocitos de la SVZ durante las dos primeras semanas de vida extrauterina del ratón. Algunos de estos astrocitos de la SVZ, especialmente aquéllos que contactan con el lumen ventricular mediante un solo cilio, mantienen su capacidad pluripotencial y son la fuente de proliferación neuronal durante la etapa postnatal, incluida la vida adulta. La pluripotencialidad se conserva gracias a un ambiente rico en noggina que inhibe los BMPs («bone morphogenic proteins»), lo que permite la neurogénesis (5).

1.5.3. *Desarrollo del córtex durante la vida adulta*

En estas circunstancias la SVZ humana está formada por una capa de ependimocitos en contacto con el líquido cefalorraquídeo del ventrículo lateral, sobre la que se asienta una capa de astrocitos específicos de la SVZ, algunos de ellos provistos de un cilio que contacta con el lumen ventricular. Estas células son las verdaderas progenitoras que proliferan para dar neuronas migradoras (11, 12). Estas células migran tangencialmente sin ayuda de la glía radial, en lo que se ha denominado corriente migratoria rostral (RMS). Las células de la corriente migratoria rostral forman cadenas de neuronas alargadas que se mueven dentro de «tubos gliales», cuyas paredes están formadas por astrocitos que entrelazan sus procesos delimitando la RMS de la zona circundante. Dentro de la RMS las neuronas se mueven paralelas a la dirección del flujo del líquido cefalorraquídeo que baña la pared del ventrículo lateral, siguiendo el gradiente de una molécula guía (13). De esta manera, estas neuronas alcanzan el bulbo olfatorio donde se diferencian en, al menos, dos tipos de neuronas.

La RMS es claramente ostensible en cerebro de rata en el momento del nacimiento (P0), formando una «L» que parte de la SVZ en la pared del ventrículo

lateral y se dirige ventralmente hacia el estriado en los alrededores del ventrículo olfatorio para, posteriormente, tomar la dirección rostral hacia el bulbo olfatorio. Coincidiendo con la desaparición del ventrículo olfatorio (P3), la RMS se estrecha progresivamente, formando una «L» que conecta la SVZ con el bulbo olfatorio mediante una línea densa de células. Durante el viaje, las células de la RMS están en continua división, mostrando un máximo en los primeros días después del nacimiento (P3) para decrecer posteriormente hasta P7 y resurgiendo de nuevo a partir de P14 para alcanzar los valores de P0 a P21 y P28. En todos los casos se observa un gradiente de proliferación en el sentido caudorrostral, con un máximo en la SVZ y un mínimo en el bulbo olfatorio. La RMS se mantiene durante todo el periodo postnatal y sigue presente en el adulto (14). Recientemente, se ha descubierto la presencia de la RMS en el cerebro del hombre adulto, cuyas características son semejantes a la observada en la rata (15).

1.6. Papel del ácido oleico en el desarrollo del SNC

Como se ha mencionado antes, gran parte del desarrollo del SNC en el hombre tiene lugar durante la etapa postnatal, cuando se llevan a cabo la «neurogénesis secundaria», la conformación final del hipotálamo, así como la de otras estructuras cerebrales específicas. De hecho, la neurogénesis postnatal ha suscitado un extraordinario interés desde el punto de vista clínico, pues la inmadurez de la zona subventricular es la responsable de la extraordinaria vulnerabilidad del recién nacido al trauma hipóxico-isquémico (16). Este hecho es especialmente crítico en el recién nacido prematuro, en el que el estrés respiratorio produce tales cambios en la dinámica vascular que puede causar hemorragias subventriculares de efectos deletéreos permanentes.

Recientemente se ha puesto de manifiesto que el ácido oleico controla el desarrollo postnatal del SNC en la rata (17, 18). En efecto, el ácido oleico se sintetiza en los astrocitos (19), de donde es enviado a las neuronas como mensajero de la acción neurotrófica. Así, el ácido oleico no sólo es utilizado para la construcción de la membrana neuronal sino que actúa como agente neurotrófico, promoviendo el crecimiento de los axones y de las dendritas. Estos cambios morfológicos se sustentan en la inducción de la síntesis de proteínas específicas del desarrollo neurítico, tales como la MAP-2 («microtubule-associated protein-2»), marcadora del desarrollo de las dendritas y de la GAP-43 («growth-associated protein-43»), marcadora del crecimiento axonal (20).

El efecto del ácido oleico es sinérgico con el de las neurotrofinas NT-3 y NT-4/5, aunque no con el NGF y BDNF (21), lo que sugiere que durante el periodo pe-

rinatal el ácido oleico se comporta como un agente neurotrófico específico. En este sentido, el efecto del ácido oleico es singular de este ácido graso, pues ni siquiera su isómero en trans, el ácido eláidico, es capaz de mimetizar sus efectos (22).

Asimismo, se ha identificado el mecanismo de transducción de la señal del ácido oleico en neuronas. En este sentido, el PPARalfa es el receptor nuclear del ácido oleico, puesto que su silenciamiento mediante RNA de interferencia (siRNA) suprime los efectos neurotróficos del ácido graso (23). Además, el ácido oleico induce la síntesis del factor de transcripción NeuroD-2, perteneciente a la familia de los bHLH y que juega un papel esencial en las últimas etapas del desarrollo neuronal (22). Es más, la proteína quinasa C está implicada en el efecto del ácido oleico, puesto que la presencia de inhibidores específicos de la quinasa suprime los efectos neurotróficos del ácido graso (20, 22, 23).

El ácido oleico se sintetiza en los astrocitos bajo el estímulo de la albúmina sérica (19). En efecto, la albúmina es reconocida por la megalina (24), una proteína de la familia de los receptores de las lipoproteínas, endocitada en caveolas y conducida al retículo endoplasmático, donde activa al SREBP-1, un factor de transcripción que induce la esteril-CoA desaturasa, enzima clave de la síntesis de ácido oleico (19). En este sentido, el desarrollo postnatal del cerebro coincide con un aumento de la albúmina sérica en todas las especies, lo que se acompaña de la entrada específica de la albúmina en cerebro durante este periodo (18). De hecho, inmediatamente tras el nacimiento se observa un aumento significativo de la forma activa del SREBP-1, así como del mRNA de la esteril-CoA desaturasa, lo que coincide con el aumento de expresión de la MAP-2 y la GAP-43 (18). Por consiguiente, todo parece indicar que la albúmina regula el desarrollo postnatal del SNC a través del aumento del ácido oleico que, a su vez, controla el desarrollo neuronal. La importancia de este hecho viene corroborada por el reciente descubrimiento de que el ratón nulo de megalina, es decir, del transportador específico de albúmina presenta holoprosencefalia (25) (véase más adelante), lo que señala a la albúmina y al ácido oleico como piezas clave en el desarrollo del SNC.

2. ENFERMEDADES DEL DESARROLLO DEL SNC

2.1. Microcefalias

La microcefalia es una enfermedad autosómica recesiva que se caracteriza por una reducción del volumen encefálico, sin grandes cambios en la distribución de la masa encefálica a excepción del córtex, que está sensiblemente dis-

minuido aunque manteniendo la arquitectura normal. Están también afectados el giro dentado, el bulbo olfativo y la corriente migratoria rostral. Se acompaña de retraso mental de carácter ligero o medio (26).

Está causada por la mutación del gen ASPM («abnormal spindle microcephaly associated»), ortólogo del asp de *Drosophila*, localizado en cromosoma 1p31 y que codifica una proteína MAP («microtubule-associated protein») necesaria para la formación del huso cromático. Este gen parece responsable de la encefalización de los homínidos, habiendo sufrido una fuerte selección natural durante los últimos 18 millones de años y, muy especialmente, durante los últimos 6 millones de años, coincidiendo con el periodo de mayor encefalización de los homínidos (27). Es interesante constatar que la penúltima mutación del gen tuvo lugar hace 37.000 años coincidiendo con la aparición de las pinturas murales, normalmente asociadas con la aparición de la inteligencia y, la última, hace 6.000 años, coincidiendo con la aparición de las primeras grandes civilizaciones (28).

La microcefalia se encuentra ligada a mutaciones en cinco *loci* recesivos, aunque sin diferencias aparentes en el fenotipo. El más frecuente, denominado MCPH5, codifica una proteína que posee un extremo amino terminal, conservado en *Drosophila*, y que, supuestamente, se une a los microtúbulos, y un dominio repetitivo IQ (Ile y Gln repetidas) de unión a la calmodulina. Este último dominio se repite 24 veces en *Drosophila* y 74 veces en la proteína humana, debido a la inserción de 10 repeticiones IQ en el exón 18, ocasionadas por duplicación de una zona de este exón. La pérdida de 425 aminoácidos, incluido el carboxilo terminal, produce la enfermedad, lo que sugiere que todas las repeticiones IQ son necesarias para el correcto funcionamiento de la proteína (26).

La expresión de la proteína tiene lugar fundamentalmente en la zona ventricular del córtex y, en el ratón, comienza el día 11 de la fase embrionaria (E11), mostrando su expresión máxima a E15 y descendiendo a partir de E17. La expresión de la proteína es muy baja en el día del nacimiento (P0) y el día P9 está limitada a la zona subventricular, giro dentado y corriente migratoria rostral (26)]. La localización de la proteína y su perfil temporal de expresión indican claramente que la proteína está implicada en la regulación de la neurogénesis. De hecho, la proteína está implicada en la mitosis, concretamente en el ensamblaje de los microtúbulos en los polos y en el ecuador del huso cromático. Así, la mutación de la ASPM causa la parada de la división de los neuroblastos en metafase, lo que lleva consigo una disminución de la expansión del córtex. De hecho, si la división de los neuroblastos tiene lugar de manera simétrica con el huso cromático paralelo al plano del neuroepitelio se originan dos neuronas, mientras que si lo hace asimétricamente, es decir, perpendicular al neuroepitelio, se genera arriba una neu-

rona y abajo una célula progenitora. Las mutaciones de ASPM parecen impedir la división asimétrica, responsable final de la expansión del córtex (26, 27).

2.2. Heterotopías

Las heterotopías son enfermedades que se caracterizan por malformaciones de la zona periventricular, producidas por acúmulos de sustancia gris como resultado de un defecto en la migración de las neuronas. Así, la heterotopía nodular ligada al sexo está producida por la mutación de un gen relacionado con la microcefalia, denominado ARFGEF2 («ADP-ribosylation factor guanine nucleotide-exchange factor-2»). La mutación de este gen es muy rara y los enfermos presentan, además de microcefalia, heterotopía nodular periventricular. Asimismo, la mutación del gen FLNA («filamin A alfa») resulta en una heterotopía nodular periventricular bilateral (BPNH). El gen codifica una proteína que se une a la actina del citoesqueleto y organiza la unión de ésta con ciertas proteínas citoplasmáticas. La enfermedad es dominante y ligada al cromosoma X, aunque como único signo clínico presenta epilepsia.

2.3. Lisencefalias

Las lisencefalias se caracterizan por un cerebro con escasas circunvoluciones debido a un desarrollo deficiente del córtex. Dentro de este grupo se encuadra el síndrome de Miller-Dierker, que se produce por la delección del gen LIS1 («lissencephaly type-1-like domain-containing protein»). Este gen codifica una proteína que se une a la dineína y regula la nucleoquinesis, proceso fundamental en el desarrollo del córtex (véase anteriormente). Otros casos se caracterizan por el fenómeno denominado «double cortex», producido por la inclusión de una banda heterotópica de materia gris dentro de la materia blanca. En este sentido, el gen DCX («doublecortex»), localizado en el cromosoma X, codifica la doblecortina, una proteína que estabiliza los microtúbulos y que es esencial en la migración neuronal (7) (véase anteriormente). Su mutación produce lisencefalia severa en el hombre, asociada a retraso mental y epilepsia. En las mujeres portadoras se observa únicamente el mencionado «double cortex». Otra lisencefalia relacionada con la migración neuronal es la producida por la mutación del gen RELN, que codifica la reelina, una proteína que se expresa en la neuronas de la lámina I y en las de Cajal-Retzius y que es esencial para la estratificación del córtex (6) (véase anteriormente). Los enfermos muestran una ligera lisencefalia pero una importante hipoplasia cerebelar.

La mutación del gen ARX, localizado en el cromosoma X y homólogo del gen homeótico de *Drosophila* «aristaless», produce un tipo específico de lisencefalia, que se acompaña de un desarrollo anormal de los genitales y otros síndromes ligados a retraso mental. Por otro lado, la alfa-1 tubulina es esencial en la formación de heterodímeros de tubulina. La mutación de su gen (TUBA1A) altera la proliferación y migración neuronales. En este sentido, los enfermos con esta lisencefalia presentan un córtex anormal, acompañado de defectos en el cerebelo, hipocampo, cuerpo calloso y tronco encefálico. Por último, el síndrome de Walker-Warburg está causado por la mutación del gen POMT1 («protein-O-mannosyltransferase 1») y se caracteriza por hidrocefalia, agiria y displasia retinal acompañada o no de encefalocele.

2.4. Esquizoencefalias

Estas enfermedades se caracterizan por la existencia de hemisferios cerebrales extranumerarios, mediante la aparición de incisiones profundas que simulan pequeños septa. El gen EMX2, ortólogo del «empty spiracles» de *Drosophila*, es decisivo en la regionalización del córtex. Su mutación produce esquizoencefalia, una malformación cerebral que se caracteriza por la formación de cuatro pseudohemisferios cerebrales.

2.5. Polimicrogurias

Posiblemente, la única polimicrogria primaria es la producida por la mutación del gen del receptor acoplado a las proteínas G (GPR56), que tiene una alta expresión en progenitores de neuronas y cuya mutación provoca una polimicrogria frontoparietal. De carácter secundario son importantes las polimicrogurias ocasionadas por mutaciones en los genes peroxisomales (PEX), aunque en este caso la polimicrogria es secundaria dentro de un síndrome general de fallo metabólico. Asimismo, la polimicrogria es secundaria a algunas distrofias musculares y deleciones cromosómicas.

2.6. Holoprosencefalias

La holoprosencefalia representa la encefalopatía congénita más frecuente (1:16.000) y se trata del desarrollo incompleto del prosencéfalo por ausencia de

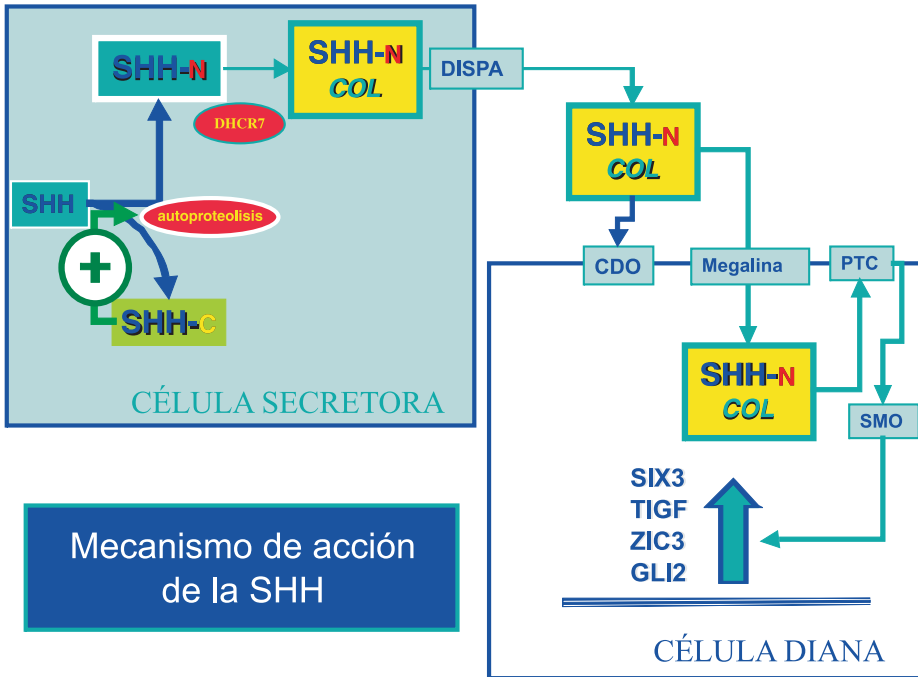


FIGURA 5. La señal de la SHH comienza con su autoproteólisis en dos fracciones, la carboxilo terminal (SHH-C), que no es activa pero que estimula la proteólisis, y la amino terminal (SHH-N), que es el morfógeno activo. Sin embargo, la SHH-N debe unirse a una molécula de colesterol (SHH-N-COL) antes de abandonar la célula secretora. La síntesis del colesterol depende de la última de las enzimas implicadas, la 7- dehidrocolesterol reductasa (DHCR7), cuyo déficit produce el Síndrome de Smith-Lemli-Opitz. La SHH-N-COL se segrega con la participación de la DISPA («dispatched»). En la célula diana, la SHH-N-COL es atrapada por CDO e internalizada gracias a la megalina, donde se une a PTC («patched») y activa SMO («smoothened»). Las dianas finales de la SHH son los genes homeobox, el SIX3 y TIGF y los factores de transcripción, el Zic2 («zinc finger protein 2») y el Gli2 («glioma-associated oncogene homologue»)

la separación de los hemisferios en el comienzo de la embriogénesis, lo que resulta en una sola holoesfera cerebral y un córtex estrecho y continuo a través de la línea media (29). La enfermedad se acompaña frecuentemente con ciclo-pía. La forma intermedia de la enfermedad, denominada sintelencefalia u holoprosencefalia interhemiférica media («medial interhemipheric»; MIH), está relacionada con un desarrollo anormal de la placa tectal, posiblemente como consecuencia de mutaciones de genes que se expresan en el mesodermo precordial. La holoprosencefalia clásica, sin embargo, se produce por el desarrollo anormal de la cresta neural anterior («neural anterior ridge»; ANR; (30)).

TABLA 1

Holoprosencefalias

Gen mutado

- SHH: Sonic hedgehog. **HPE3**
- DHCR7: 7-dehidroxicolesterol reductasa. **S. de Smith-Lemli-Opitz**
- DISPA: Secreción de la SHH
- CDO: Proteína transmembranal que se une a SHH
- LPR2: Megalina, endocitosis de la SHH. **S. de Donnai-Barrow**
- PTC: Patched, correceptor de la SHH. **Nevus**
- SMO: Smoothened, transductor de la SHH
- SIX3: Gen homeobox. **HPE2**
- ZIC3: Factor de transcripción en dedo de zinc. **HPE5**
- TGIF: Gen homeobox. **HPE4**
- GLI2: Factor de transcripción. **S. de Greig**

Modificado de Monuki E.S. J. Neuropathol. Exp. Neurol. (2007) 66:566-575

Es una enfermedad de origen autosómico recesivo pero se presenta con alta frecuencia en los recién nacidos de madres diabéticas de tipo 1, posiblemente como consecuencia del efecto teratogénico de la hiperglucemia. Existen al menos 12 genes implicados en la enfermedad, de los que se conocen sólo cuatro (4, 30). De ellos, el HPE3 codifica la SHH (Fig. 5), que se expresa en el dominio ventral del hipotálamo y del telencéfalo, así como en el mesodermo precordial, un grupo de células que rodean al telencéfalo ventral (véase anteriormente). Sin duda, la enfermedad radica en un funcionamiento defectuoso del mesodermo precordial, uno de los «organizadores» del telencéfalo.

Además de la mutación del gen de la SHH (HPE3) propiamente dicho, provocan holoprosencefalia mutaciones en otros genes implicados en la modificación postraducciona de la SHH, tales como el DHCR7, que codifica la 7-dehidrocolesterol reductasa, última enzima de la ruta de biosíntesis del colesterol y cuyo defecto produce el síndrome de Smith-Lemli-Opitz (Fig. 5; Tabla 1). De hecho, una molécula de colesterol se incorpora en la SHH tras su proteólisis (véase anteriormente). Asimismo, producen holoprosencefalia mutaciones en el gen DISPA, cuyo producto de expresión participa en la liberación de SHH, y en CDO, cuyo producto de expresión es una proteína transmembranal responsable del anclaje de la SHH a la membrana (3). Las mutaciones de los correceptores

de SHH, tales como el PTC («Patched» de su homólogo de *Drosophila*), produce el síndrome del nevus de las células basales. Esta enfermedad se caracteriza por una apariencia facial anormal y predisposición al cáncer de piel, alteraciones multiorgánicas y, frecuentemente, holoprosencefalia. El transductor de la SHH, SMO («Smoothed» de su homólogo de *Drosophila*) también está implicado en la holoprosencefalia (3, 30).

La mutación de otros genes implicados en la cascada de señalización de la SHH producen holoprosencefalia. Así, el SIX3 (HPE2), un gen homeobox, ZIC2 (HPE5), un factor de transcripción en dedo de zinc, el TGIF (HPE4) otro gen homeobox y el GLI2 cuya mutación produce la cefalosindactilia de Greig. Todos ellos expresan factores de transcripción supuestamente implicados en el mecanismo de acción de la SHH (30) (Fig. 5; Tabla 1). Asimismo, la mutación del gen de la megalina (LRP2), proteína que interviene en la endocitosis de la SHH, produce el síndrome de Donnai-Barrow y el síndrome fascio-oculo-acústico-renal, que se caracterizan por agénesis del cuerpo calloso, hernia de diafragma, anomalías faciales y retraso en el crecimiento (25).

2.7. Retraso mental en el Síndrome de Down

Desde el descubrimiento del Síndrome de Down se hizo evidente que la trisomía 21 afectaba al desarrollo del SNC produciendo retraso mental. Aunque hoy no poseemos medios fiables para demostrar claramente en qué momento del desarrollo del SNC se produce el deterioro, se puede afirmar que la mayor parte del proceso deletéreo tiene lugar durante la época postnatal. En efecto, aunque la medición del coeficiente intelectual en recién nacidos es cuestionable, los datos de Morgan (31) demuestran claramente que el coeficiente intelectual de los recién nacidos con Síndrome de Down decrece drásticamente durante los primeros cuatro años, se ralentiza durante los siguientes cuatro, para continuar decreciendo a partir de los 8 años de vida. Se puede colegir, por consiguiente, que en el momento del nacimiento los niños con el Síndrome de Down tienen, aproximadamente, un coeficiente intelectual normal. Si esto es así, se puede conjeturar que los efectos del Síndrome de Down sobre el desarrollo del SNC tienen lugar durante la etapa postnatal. Por otro lado, los enfermos con Síndrome de Down presentan una disminución en la frecuencia de las interconexiones neuronales (32), posiblemente por un defecto en el desarrollo de las dendritas de las neuronas del córtex (33). Curiosamente, estos enfermos tienen un menor contenido de ácido oleico en sus estructuras cerebrales (34). Asimismo, estos enfermos presentan menores concentraciones de albúmina en suero (35). En este sentido, parece exis-

tir una relación causa/efecto entre la menor concentración de albúmina en el suero de los enfermos con Síndrome de Down y la menor cantidad de ácido oleico existente en su cerebro. Que este hecho sea el responsable de las deficiencias neurológicas presentes en los enfermos con el Síndrome de Down parece probable, aunque es necesario proseguir y profundizar en la investigación de este fenómeno. En resumen, el desarrollo funcional del SNC tiene lugar, principalmente, en la etapa postnatal, coincidiendo con la progresión del retraso mental que ocurre inmediatamente tras el nacimiento en los niños con Síndrome de Down. Durante este tiempo el metabolismo energético y plástico de neuronas y astrocitos está controlado por la albúmina plasmática, proteína que está en bajas concentraciones en la sangre de los enfermos de Down. Una de las posibles consecuencias de la falta de albúmina sería la dificultad de sintetizar y transportar a las neuronas el ácido oleico, un elemento esencial en la construcción de las estructuras cerebrales. La falta de oleico paralizaría la diferenciación de las neuronas y, por consiguiente, impediría el establecimiento de las conexiones interneuronales esenciales para el correcto funcionamiento del Sistema Nervioso

EPÍLOGO

A lo largo de este trabajo se hace evidente que un proceso tan sofisticado como el desarrollo de nuestro SNC puede estar afectado por la mutación funcional de uno o varios genes. De hecho, algunas de estas mutaciones pueden influir puntualmente en su desarrollo, generando fenotipos anormales. Otras pueden incidir en más de una de las etapas del desarrollo cerebral, lo que da lugar a anomalías aún más profundas. Éste es el caso de la mutación del gen de la megalina, la cual juega un papel esencial en la etapa embrionaria, al tratarse, posiblemente, del transportador de la SHH. Posteriormente, durante el desarrollo postnatal, como transportador de la albúmina, actúa como inductora de la síntesis del factor neurotrófico ácido oleico. Sin embargo, sorprende que en un proceso donde intervienen tal número de genes el catálogo de las enfermedades producidas por la disfunción de alguno de ellos sea tan sucinto. Dos factores pueden explicar esta paradoja. El primero es el más evidente: muchas de las mutaciones dan origen a embriones no viables y, por consiguiente, su fenotipo no son observables. El segundo es la existencia de redundancia en genes esenciales para el desarrollo, tal como han puesto de manifiesto algunos de los ratones nulos de genes esenciales para el desarrollo y que, sin embargo, generan fenotipos inesperados. Es lógico que en un proceso tan importante como es el desarrollo del Sistema Nervioso se haya conservado la redundancia de algunos genes, asegurando así la supervivencia de los individuos afectados.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) SQUIRE, L.R., *et al.*, *Fundamental Neuroscience*. Second ed. 2003, London: Academic Press.
- (2) MCCARTHY, R.A. AND W.S. ARGRAVES (2003): Megalin and the neurodevelopmental biology of sonic hedgehog and retinol. *J. Cell Sci.* 116 (Pt 6): 955-60.
- (3) INGHAM, P.W. AND M. PLACZEK (2006): Orchestrating ontogenesis: variations on a theme by sonic hedgehog. *Nat Rev Genet.* 7 (11): 841-50.
- (4) MONUKI, E.S. AND C.A. WALSH (2001): Mechanisms of cerebral cortical patterning in mice and humans. *Nat Neurosci.* 4 Suppl:1199-206.
- (5) TRAMONTIN, A.D., *et al.* (2003): Postnatal development of radial glia and the ventricular zone (VZ): a continuum of the neural stem cell compartment. *Cereb Cortex.* 13 (6): 580-7.
- (6) MEYER, G., A.M. GOFFINET, AND A. FAIREN (1999): What is a Cajal-Retzius cell? A reassessment of a classical cell type based on recent observations in the developing neocortex. *Cereb Cortex.* 9 (8): 765-75.
- (7) FRANCIS, F., *et al.* (1999): Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. *Neuron.* 23 (2): 247-56.
- (8) KOSTOVIC, I., *et al.* (1989): Structural basis of the developmental plasticity in the human cerebral cortex: The role of the transient subplate zone. *Metabol. Brain Disease.* 4 (1): 17-23.
- (9) JOHNSON, M.H. (2001): Functional brain development in humans. *Nature Rev. Neurosci.* 2: 475-483.
- (10) SPASSKY, N., *et al.* (2005): Adult ependymal cells are postmitotic and are derived from radial glial cells during embryogenesis. *J. Neurosci.* 25 (1): 10-8.
- (11) MERKLE, F.T., *et al.* (2004): Radial glia give rise to adult neural stem cells in the subventricular zone. *Proc Natl Acad Sci USA.* 101 (50): 17528-32.
- (12) QUINONES-HINOJOSA, A., *et al.* (2006): Cellular composition and cytoarchitecture of the adult human subventricular zone: a niche of neural stem cells. *J Comp Neurol.* 494 (3): 415-34.
- (13) SAWAMOTO, K., *et al.* (2006): New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain. *Science.* 311 (5761): 629-32.
- (14) MARTONCIKOVA, M., E. RACEKOVA, AND J. ORENDACOVA (2006): The number of proliferating cells in the rostral migratory stream of rat during the first postnatal month. *Cell Mol Neurobiol.* 26 (7-8): 1453-61.
- (15) CURTIS, M.A., *et al.* (2007): Human neuroblasts migrate to the olfactory bulb via a lateral ventricular extension. *Science.* 315 (5816): 1243-9.

- (16) MEDINA, J.M.: Alteraciones del desarrollo postnatal del cerebro. Prematuridad y daño hipóxico isquémico, en *Enfermedades Metabólicas*, F. MAYOR AND M. CASCALES, Editores. 2006, Instituto de España. Real Academia Nacional de Farmacia: Madrid. p. 367-401.
- (17) MEDINA, J.M. AND A. TABERNEIRO (2002): Astrocyte-synthesized oleic acid behaves as a neurotrophic factor for neurons. *J. Physiol Paris*. 96 (3-4): 265-71.
- (18) VELASCO, A., A. TABERNEIRO, AND J.M. MEDINA (2003): Role of oleic acid as a neurotrophic factor is supported in vivo by the expression of GAP-43 subsequent to the activation of SREBP-1 and the up-regulation of stearoyl-CoA desaturase during postnatal development of the brain. *Brain Res*. 977 (1): 103-11.
- (19) TABERNEIRO, A., *et al.* (2002): Transcytosis of albumin in astrocytes activates the sterol regulatory element-binding protein-1, which promotes the synthesis of the neurotrophic factor oleic acid. *J. Biol Chem*. 277 (6): 4240-6.
- (20) TABERNEIRO, A., *et al.* (2001): Neuronal differentiation is triggered by oleic acid synthesized and released by astrocytes. *J. Neurochem*. 79 (3): 606-16.
- (21) GRANDA, B., *et al.* (2003): Oleic acid induces GAP-43 expression through a protein kinase C-mediated mechanism that is independent of NGF but synergistic with NT-3 and NT-4/5. *Brain Res*. 988 (1-2): 1-8.
- (22) RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, R.A., *et al.* (2004): The neurotrophic effect of oleic acid includes dendritic differentiation and the expression of the neuronal basic helix-loop-helix transcription factor NeuroD2. *J Neurochem*. 88 (5): 1041-51.
- (23) BENTO-ABREU, A., A. TABERNEIRO, AND J.M. MEDINA (2007): Peroxisome proliferator-activated receptor- α is required for the neurotrophic effect of oleic acid in neurons. *J Neurochem*. 103 (3): 871-81.
- (24) BENTO-ABREU, A., *et al.* (2008): Megalin is a receptor for albumin in astrocytes and is required for the synthesis of the neurotrophic factor oleic acid. *J. Neurochem*. En prensa
- (25) KANTARCI, S., *et al.* (2007): Mutations in LRP2, which encodes the multiligand receptor megalin, cause Donnai-Barrow and facio-oculo-acoustico-renal syndromes. *Nat Genet*. 39 (8): 957-9.
- (26) BOND, J., *et al.* (2002): ASPM is a major determinant of cerebral cortical size. *Nat Genet*. 32 (2): 316-20.
- (27) EVANS, P.D., *et al.* (2004): Reconstructing the evolutionary history of microcephalin, a gene controlling human brain size. *Hum Mol Genet*. 13 (11): 1139-45.
- (28) EVANS, P.D., *et al.* (2005): Microcephalin, a gene regulating brain size, continues to evolve adaptively in humans. *Science*. 309 (5741): 1717-20.
- (29) PEEBLES, D.M. (1998): Holoprosencephaly. *Prenat Diagn*. 18 (5): 477-80.
- (30) MONUKI, E.S. (2007): The morphogen signaling network in forebrain development and holoprosencephaly. *J Neuropathol Exp Neurol*. 66 (7): 566-75.

- (31) MORGAN, S. (1979): Development and distribution of intellectual and adaptative skills in Down syndrome children: Implications for early intervention. *Ment Retard.* 17: 247-249.
- (32) ELUL, R., J. HANLEY, AND J.I. SIMMONS (1975): Non-Gaussian behavior of the EEG in Down's syndrome suggests decreased neuronal connections. *Acta Neurol. Scand.* 51: 21-28.
- (33) BENAVIDES-PICCIONE, R., *et al.* (2004): On dendrites in Down syndrome and DS murine models: a spiny way to learn. *Prog Neurobiol.* 74 (2): 111-26.
- (34) SHAH, S.N. (1979): Fatty acid composition of lipids of human brain myelin and synaptosomes: changes in phenylketonuria and Down's syndrome. *Int J. Biochem.* 10 (6): 477-82.
- (35) NELSON, T.L. (1961): Serum protein and lipoprotein fractions in mongolism. *Am. J. Dis. Chil.* 102: 369-374.