



Nuevas neuronas en el cerebro adulto: la influencia hormonal

María F. Angelo y Pablo Argibay

INTRODUCCIÓN

A pesar de que el paradigma aceptado hacia fines del siglo veinte ignoraba o despreciaba la posibilidad de que se generaran nuevas neuronas en el cerebro de los mamíferos adultos, en nuestros días está claro que la plasticidad cerebral en términos de reforzamiento de las conexiones o en términos de generación de nuevas neuronas, no se detiene al final del desarrollo embrionario. Las *stem cells* del sistema nervioso central de los mamíferos adultos generan permanentemente nuevas neuronas en algunas estructuras especializadas del cerebro. La zona subventricular (SVZ) y el giro dentado (DG) del hipocampo son los lugares de proliferación de los precursores neuronales. Las células progenitoras están presentes en casi todas las regiones del sistema nervioso central, según se probó en cultivo, pero *in vivo* su potencial proliferativo sólo se observa en estas dos áreas, probablemente debido a la presencia en su microambiente de factores que estimulan la mitosis. El proceso de neurogénesis es regulado, entre otros factores, por neurotransmisores, factores de crecimiento y claves ambientales. Parecería también, que la influencia hormonal es determinante para la generación de nuevas neuronas en diferentes etapas de la vida. La implicancia funcional de la regulación hormonal todavía no ha sido claramente demostrada, pero parece jugar un papel importante en la función hipocampal relacionada con la memoria y el aprendizaje.

Las células producidas en la SVZ migran al bulbo olfatorio (OB) por la vía del fascículo de migración rostral. Es en el OB donde se diferencian a neuronas, aunque también en esta vía se encontraron grandes cantidades de células apoptóticas, que sugieren que la mayoría de las células generadas en la zona subventricular son eliminadas al alcanzar su área blanco.

En el hipocampo, las células proliferativas están ubicadas en una zona germinal a lo largo del borde entre la capa de células de la granulosa y el hilus del DG. Este área es denominada zona subgranular (SGZ) y da origen a nuevas células granulares y gliales. Las células generadas de los progenitores de la SGZ del DG migran a la capa de células de la granulosa y se integran dentro del circuito recibiendo aferencias y enviando eferencias.

Neurogénesis y apoptosis ocurren en simultáneo y parecen estar estrechamente relacionadas, siendo la muerte

celular un factor posible para el desencadenamiento de la proliferación de los precursores neuronales.

En la presente monografía, se tratarán los principales factores endocrinos que regulan la proliferación de los neuroblastos y su supervivencia, así como también su migración y sinaptogénesis.

PROLACTINA

Dado que el olfato y la discriminación olfativa son importantes en el apareamiento, reconocimiento de los descendientes y durante el período de cría, y que es probable que se necesite la formación de nuevas memorias olfativas para el comportamiento maternal, se ha estudiado la posibilidad de que la preñez incremente la proliferación en la SVZ del lóbulo frontal para estimular la producción de nuevas interneuronas olfativas.

En hembras de ratones en el séptimo día de gestación, el número de células en división en la SVZ es mayor que para ratones hembras vírgenes. Pero para el decimocuarto día de gestación, esta cantidad vuelve a los niveles de base. La cantidad de células en proliferación en el DG hipocampal no difiere entre hembras vírgenes y preñadas en el séptimo día de gestación. Las células en división celular en la SVZ permanecen en el nivel de base a término y un segundo incremento en las células mitóticamente activas se observa en el séptimo día postparto. Nuevamente, esta actividad regresa al nivel basal para el día decimocuarto y vigésimo primero postparto.

Muchas de las nuevas células generadas que emergen de la zona subventricular migran para formar nuevas interneuronas en el bulbo olfatorio, pero algunas de las células divididas mueren o generan células gliales que migran hacia el cuerpo caloso.

Estudios realizados sobre ratones hembras con mayores niveles de proliferación en el séptimo día de gestación y en el séptimo día postparto, muestran mayor cantidad de nuevas neuronas granulares y periglomerulares en el OB cuatro semanas después. En el día del parto, no se observa incremento en la proliferación de la zona subventricular. Estos resultados sugieren que los aumentos de la preñez y postparto en la proliferación de células de la zona subventricular son seguidos respectivamente, por un aumento de nuevas interneuronas en el bulbo olfatorio.

Cuando se aparean hembras de ratones con machos pre-

viamente vasectomizados, el resultado es una alteración pasajera de hormonas esteroides del ovario e hipófisis que imita los cambios producidos durante la primera mitad de la gestación normal. Estas hembras pseudopreñadas presentan más células en mitosis en la zona subventricular en el séptimo día postcoito, cantidad que vuelve a los niveles basales en el decimocuarto día. Estos resultados, que se asemejan a los obtenidos para hembras preñadas, sugieren que la implantación del embrión no es necesaria para estimular la neurogénesis durante la primera parte de la gestación y que los niveles hormonales maternos circulantes son suficientes para dicha estimulación. La administración de estrógenos y progesterona solos o en conjunto, directamente en el cerebro o periféricamente, a hembras normales u ovariectomizadas, no provocó un aumento en la división celular en la zona subventricular. Conjuntamente, estos resultados sugieren que a pesar de que los niveles circulantes de hormonas en la madre son posibles responsables de los incrementos en la neurogénesis en la zona subventricular inducidos por la preñez y la pseudopreñez, ni los estrógenos ni la progesterona son considerados candidatos como mediadores de esta respuesta.

La prolactina está presente en los tejidos nerviosos de casi todos los invertebrados y vertebrados. En mamíferos, su concentración es alta durante la primera mitad de la preñez, decrece a término y luego vuelve a incrementarse durante la lactancia. Los receptores de prolactina se expresan en altos niveles en áreas adyacentes a la zona subventricular y en el plexo coroideo. Ratones hembras ovariectomizadas y tratadas posteriormente con inyecciones de prolactina subcutáneas o intracerebroventriculares presentan un aumento en la cantidad de células en proliferación en la SVZ, similar al observado en el séptimo día de gestación. Las inyecciones de prolactina duplican el número de nuevas interneuronas olfativas de manera idéntica a la observada durante la preñez. La prolactina no reduce la muerte celular en la SVZ ni en el OB, ni cambia el número de células en proliferación en el giro dentado del hipocampo, pero aumenta el número de células madres nerviosas de la zona subventricular *in vitro*. Como la prolactina y sus receptores están presentes también en machos, se compararon las respuestas provocadas en éstos por administración en el ventrículo lateral de prolactina o péptido liberador de prolactina. Se observó un aumento en la proliferación de la zona subventricular, un poco menor que el observado en las hembras.

Ensayos de hibridación *in situ* revelan la expresión del RNA mensajero del receptor de prolactina en el plexo coroideo y también se ha confirmado abundante expresión de la proteína receptora en el mismo lugar, sugiriendo que la hormona podría causar sus efectos indirectamente, ya que el plexo coroideo secreta factores de crecimiento que regulan la proliferación de las células madres ner-

viosas. El receptor de prolactina también se expresa en el extremo dorso lateral de la zona subventricular, donde los progenitores neuronales comienzan su migración a través del fascículo de migración rostral hacia el bulbo olfatorio. Técnicas de *Western blotting*, mostraron que tanto en la zona subventricular, como en células madres neuronales en cultivo, se expresa una isoforma del receptor hormonal, similar a la expresada predominantemente en el bazo. El receptor no mostró inmunorreactividad en el bulbo olfatorio maduro.

La adición de prolactina a células madres neuronales de adulto aisladas, no induce proliferación, aunque en presencia del factor de crecimiento epidérmico (EGF, un mitógeno de las células madres neuronales), la prolactina induce un incremento dosis-dependiente en el número de neuroesferas¹, capaces a su vez de incrementar su segunda generación por inducción con prolactina. Las neuroesferas generadas en presencia de prolactina y EGF producen dos veces la cantidad de neuronas producidas en presencia del factor únicamente. Estos resultados sugieren que la prolactina puede activar directamente en las células madres neuronales un aumento de su proliferación y diferenciación a neuronas.

Las disrupciones dirigidas al gen que codifica el receptor de prolactina provocan hembras mutantes homocigotas (*Prlr*^{-/-}) incapaces de ser preñadas o pseudopreñadas. Aunque el número de células en división en la zona subventricular de ratones hembras *Prlr*^{+/-} y *Prlr*^{+/+} es similar antes de aparearse, este número se incrementa el doble en hembras *Prlr*^{+/+} del incremento producido en hembras *Prlr*^{+/-} para el séptimo día de gestación.

HORMONA TIROIDEA

La hormona tiroidea juega un rol crítico en el neurodesarrollo. En el sistema nervioso en desarrollo, la hormona tiroidea ejerce una influencia significativa sobre los progenitores neuronales y gliales, regulando su proliferación, supervivencia y diferenciación. Sin embargo, en mamíferos adultos el cerebro no muestra los defectos morfológicos severos asociados con el hipotiroidismo en el desarrollo.

En adultos, la neurogénesis hipocampal, que consiste en la proliferación de los precursores neuronales, su supervivencia y diferenciación, es susceptible de regulación en todas sus etapas. Las células progenitoras de granulosa ubicadas en la SGZ no muestran cambios en la proliferación en respuesta a estados tiroideos alterados *in vivo*. Curiosamente, se ha observado una disminución en la cantidad de células del hilus en división en animales que se han sometido a hipotiroidismo. La mayoría de las células

1. Las neuroesferas son acúmulos de células nerviosas que tienden a formarse en cultivo.

en proliferación se encontraron en la zona subgranular, con una pequeña fracción observada en el hilus. En los experimentos proliferativos, sólo algunas de estas células se diferencian en astrocitos. El hipotiroidismo disminuye la supervivencia y diferenciación neuronal de los progenitores de células de granulosa. Este efecto puede ser completamente revertido al restablecer el estado eutiroides. En contraste, el hipertiroidismo no altera la neurogénesis hipocampal, sugiriendo que los efectos de la hormona tiroidea en los progenitores de adultos son óptimamente permisivos a niveles eutiroides.

Estudios *in vitro* con células progenitoras hipocampales de adultos, como la expresión de isoformas del receptor de hormona tiroidea en los progenitores hipocampales, proveen la evidencia de un efecto directo de esta hormona sobre dichas células. A bajas dosis de T3, se observa un incremento de la proliferación y de la supervivencia de este tipo celular, lo cual aumenta la posibilidad de un rango dentro del cual la hormona tiroidea podría mediar los efectos en la proliferación y supervivencia de los progenitores de adultos. Las diferentes dosis utilizadas *in vitro* resultaron en un incremento de la diferenciación de astrocitos, pero no de neuronas. Las diferencias en los resultados obtenidos *in vivo* e *in vitro* pueden deberse a diferentes razones. Una de ellas es la diferencia entre el medio local *in vivo* y las condiciones de cultivo *in vitro* sobre las cuales actúa la hormona. Segundo, la hormona parece tener efectos dosis-dependientes, y es posible que la dosis *in vitro* y la alcanzada por las células progenitoras *in vivo* difieran. Tercero, las poblaciones *in vitro* incluyen tanto células de la zona subgranular como del hilus, mientras *in vivo* mayormente las células de la zona subgranular son las que se diferencian en neuronas. Dado el papel crítico de los astrocitos hipocampales en la formación de un espacio neurogénico, es posible que los efectos de disminución en la diferenciación hormonal observados por hipotiroidismo *in vivo* puedan ser mediados por efectos en el espacio neurogénico en respuesta a los astrocitos.

ESTEROIDES ADRENALES

Los esteroides adrenales inhiben la producción de nuevas células granulares a lo largo de toda la vida, por supresión de la proliferación de los precursores de células granulares. Incrementos de corticosterona, realizados en forma experimental, disminuyeron el número de células en proliferación en el giro dentado de ratas, mientras que la remoción de los esteroides adrenales estimuló la proliferación de los precursores de células granulares. Se observaron datos concordantes en ratones de campo salvajes, en los cuales la menor proliferación se correlacionó con mayores niveles de corticosterona típicos de la época reproductiva. Se considera que los corticosteroides también regulan la migración de las nuevas neuronas producidas mediante la

regulación de la proliferación de la glía radial, encontrándose mayor división en los precursores de este tipo celular a menores concentraciones de corticosterona.

La remoción bilateral de las glándulas adrenales resulta en un marcado aumento de la proliferación y muerte celular en el giro dentado de ratas adultas, sugiriendo que ambos procesos son normalmente suprimidos por las hormonas adrenales. El reemplazo de corticosterona a ratas ovariectomizadas no muestra un incremento en la neurogénesis, pero sí protege de la muerte celular producida por la adrenalectomía.

La activación del receptor de glucocorticoides induce una reducción de la neurogénesis hipocampal en el giro dentado. Aunque la naturaleza de los efectos específicos de los glucocorticoides en la neurogénesis hipocampal no se conoce, la ausencia tanto del receptor de mineralocorticoides como del receptor de glucocorticoides en los precursores de células granulares, sugiere que los efectos de las hormonas adrenales sobre la proliferación ocurren indirectamente a través de otro factor. Estudios de proliferación y diferenciación realizados en ratas tratadas con dexametasona, un agonista del receptor de glucocorticoides, encontraron disminuida la proliferación de las células progenitoras neuronales, mientras la diferenciación no se vio afectada por el tratamiento. También se observó una disminución en la proliferación para células en cultivo. Los resultados *in vivo* e *in vitro*, conjuntamente sugieren que la activación del receptor de glucocorticoides sólo bloquea la etapa proliferativa de la neurogénesis, mientras no afecta la diferenciación.

ESTRÓGENOS

Estudios realizados en ratas inyectadas con estrógenos, mostraron un mayor número de células en división en la SGZ y en la capa de células de granulosa de hembras, mientras que no se observaron diferencias en el hilus. La mayoría de las células nuevas de la capa de células de granulosa o de la zona subgranular, tanto en machos como en hembras, expresan características de precursores de células de granulosa, mientras las restantes presentan características de precursores de la glía y sus porcentajes no varían entre machos y hembras. Un número mayor de células sufre apoptosis en las hembras provocando la desaparición de diferencias sexuales en el número de neuronas de la granulosa en el giro dentado. El aumento en los niveles de estrógenos, asociados al proestro, estimula la proliferación celular, provocando un aumento transiente en el *pool* de nuevas neuronas en el giro dentado.

El estrógeno provoca una disminución en la proliferación de células cultivadas con EGF.

El estradiol influye de diversas maneras en la neurogénesis hipocampal de hembras de roedores. La producción de nuevas células hipocampales en ratas parece ser afectada por el ciclo del estro y luego de la manipulación de este-

roides ováricos. La ovariectomía disminuye la división celular, pero su efecto puede ser revertido con reemplazo estrogénico. Se producen más células durante el proestro, cuando los niveles de estrógenos son elevados, que durante el estro o el diestro. Muchas de estas células adquieren características neuronales, mientras otras degeneran en el DG. Las inyecciones de estradiol provocan un incremento transiente en la cantidad de células progenitoras en división. En algunos estudios se encontró que altos niveles de estradiol se relacionan con un aumento en la supervivencia de nuevas células en el DG de hembras de ratones de campo. En el DG de hembras de ratones de campo como de ratas, exposiciones a estradiol de corto término (4 horas), provocan un aumento en el número de nuevas neuronas producidas, mientras que exposiciones a largo término (48 horas) inducen una disminución en este número vía esteroides adrenales. Otros estudios realizados en hembras de ratones de campo salvajes correlacionan los altos niveles de estradiol de la época reproductiva con bajos niveles de proliferación y muerte celular en el hilus y en la capa de células de granulosa, pero atribuyen estos resultados a la imposibilidad de disociar los altos niveles de corticosterona en la época de reproducción.

Datos de machos de ratones de campo intactos, muestran que mientras que no hay cambios en la proliferación celular del giro dentado entre las diferentes estaciones, más células nuevas sobreviven durante la época reproductiva, cuando los niveles de testosterona y estradiol son elevados, que durante la época no reproductiva, cuando estos niveles son bajos, sugiriendo que el estradiol provoca la supervivencia celular en los machos. El estradiol promueve la supervivencia de neuronas jóvenes en los machos de ratones de campo cuando se administra durante un período discreto del ciclo de maduración celular. Las neuronas en el proceso de extensión axonal parecen ser más receptivas al efecto de supervivencia promovido por el estradiol.

El estradiol podría promover la supervivencia celular de diferentes maneras, ya que tiene múltiples efectos neuroprotectores que incluyen la elevación de los niveles de factores neurotróficos y anti-apoptóticos. La presencia del receptor de estrógeno tipo β en las células de la glía en el giro dentado de roedores machos adultos sustenta la teoría de que el estradiol podría actuar indirectamente proveyendo un soporte trófico a las nuevas neuronas, de manera similar a la observada en el cerebro de las aves. Aunque la expresión de ambos tipos de receptores α y β de estrógeno en algunas células jóvenes sugiere un efecto directo sobre la supervivencia.

TESTOSTERONA

Estudios realizados en machos de ratones de campo salvajes, no encontraron diferencias en la proliferación celular del giro dentado entre las diferentes épocas. Aunque hallaron una correlación entre los altos niveles de testosterona de la época reproductiva, con un mayor nivel de muerte celular en la capa de células de granulosa, esta correlación podría atribuirse a los altos niveles de corticosterona, ya que otros estudios en animales criados relacionan el aumento de supervivencia de nuevas células en el giro dentado con altos niveles de testosterona.

En conclusión, la información presentada en esta monografía, lejos de ser completa, indica sin embargo, una regulación directa de las diferentes hormonas sobre la producción de nuevas neuronas en el cerebro adulto. Las implicancias de conocer en detalle los diferentes niveles de regulación endocrina sobre la neurogénesis, son del mayor interés en medicina humana, teniendo en cuenta las diferentes enfermedades o procesos terapéuticos en los cuales se ven afectados los niveles y la regulación de dichas hormonas. Han quedado fuera de esta monografía otras hormonas, como las relacionadas con el aparato digestivo o el metabolismo de los glúcidos.

BIBLIOGRAFÍA

- Boonstra R, Galea L, Matthews S, Wojtowicz JM. Adult neurogenesis in natural populations. *Can J Physiol Pharmacol* 2001; 79(4): 297-302.
- Brannvall K, Korhonen L, Lindholm D. Estrogen-receptor-dependent regulation of neural stem cell proliferation and differentiation. *Mol Cell Neurosci* 2002; 21(3): 512-20.
- Bridges RS, Grattan DR. Prolactin-induced neurogenesis in the maternal brain. *Trends Endocrinol Metab* 2003; 14(5): 199-201.
- Cayre M, Malaterre J, Scotto-Lomassese S, Strambi C, Strambi A. The common properties of neurogenesis in the adult brain: from invertebrates to vertebrates. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2002; 132(1): 1-15.
- Desouza LA, Ladiwala U, Daniel SM, Agashe S, Vaidya RA, Vaidya VA. Thyroid hormone regulates hippocampal neurogenesis in the adult rat brain. *Mol Cell Neurosci* 2005; 29(3): 414-26.
- Djavadian RL. Serotonin and neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of adult mammals. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2004; 64(2): 189-200.
- Galea LA, McEwen BS. Sex and seasonal differences in the rate of cell proliferation in the dentate gyrus of adult wild meadow voles. *Neuroscience* 1999; 89(3): 955-64.
- Goldman SA. Adult neurogenesis: from canaries to the clinic. *J Neurobiol* 1998; 36(2): 267-86.
- Gould E, Cameron HA, Daniels DC, Woolley CS, McEwen BS. Adrenal hormones suppress cell division in the adult rat dentate gyrus. *J*

Neurosci 1992; 12(9): 3642-50.

- Gould E, Tanapat P, Rydel T, Hastings N. Regulation of hippocampal neurogenesis in adulthood. Biol Psychiatry 2000; 48(8): 715-20.

- Kim JB, Ju JY, Kim JH, Kim TY, Yang BH, Lee YS, et al. Dexamethasone inhibits proliferation of adult hippocampal neurogenesis in vivo and in vitro. Brain Res 2004; 1027(1-2): 1-10.

- McEwen BS. Steroid hormone actions on the brain: when is the genome involved? Horm Behav 1994; 28(4): 396-405.

- Ormerod BK, Lee TT, Galea LA. Estradiol enhances neurogenesis in the dentate gyri of adult male meadow voles by increasing the survival of young granule neurons. Neuroscience 2004; 128(3): 645-54.

- Shingo T, Gregg C, Enwere E, Fujikawa H,

Hassam R, Geary C, et al. Pregnancy-stimulated neurogenesis in the adult female forebrain mediated by prolactin. Science 2003; 299(5603): 117-20.

- Tanapat P, Hastings NB, Reeves AJ, Gould E. Estrogen stimulates a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat. J Neurosci 1999; 19(14): 5792-801.



“CIENCIA DEL ANIMAL DE LABORATORIO” CURSO TEÓRICO-PRÁCTICO

SEPTIEMBRE A NOVIEMBRE 2006

CUPO LIMITADO

CARGA HORARIA SEMANAL: 3 ½ H.

JUEVES 12:30 A 16 H.

**Utilización del animal de laboratorio en función de su
aplicación a la Biomedicina**

**Asesoramiento científico y soporte técnico para
proyectos de Docencia y/o investigación.**

**► Dirigido a profesionales, técnicos y estudiantes avanzados
del área biomédica**

Solicitud del Programa e inscripción: Secretaria Sra. Patricia Rébora

Tel: 54-11-4959-0200 interno 8919/5355

E-mail: instituto.ciencias@hospitalitaliano.org.ar