

## Premio Nobel de Fisiología y Medicina 2000

### Mecanismos de señalización en el sistema nervioso central

Este año el Instituto Karolinska de Suecia galardonó a Arvid Carlsson, Paul Greengard y Eric Kandel con el Premio Nobel de Fisiología y Medicina por sus hallazgos en los mecanismos de señalización en el sistema nervioso central (SNC), tema en el que los nombrados trabajan desde hace varias décadas. Carlsson es sueco y son norteamericanos los otros dos, aunque Kandel, austríaco por nacimiento, emigró a los EEUU antes del comienzo de la segunda guerra mundial.

En grandes rasgos estos investigadores y sus colaboradores han participado en una cadena de hallazgos que cronológicamente comienza casi medio siglo atrás. Carlsson fue premiado por haber demostrado la función de neurotransmisor en el SNC de la dopamina y de esta manera empezó a entender la fisiopatología de diversas enfermedades del SNC, la enfermedad de Parkinson, la esquizofrenia y la depresión entre ellas, y cómo los fármacos producen sus efectos beneficiosos y adversos en el paciente. Greengard llevó el concepto de segundo mensajero del sistema hormonal al SNC al demostrar los pasos intracelulares generados al unirse el neurotransmisor con el receptor y así transducir un fenómeno químico en otro eléctrico. Por su parte, Kandel es reconocido por haber establecido las bases de los mecanismos subcelulares que participan en la memoria y aprendizaje elemental.

Veremos algunos detalles sobre la tarea de los premiados y que tienen su origen en gran parte en la utilización de la reserpina, un alcaloide extraído de las raíces de la *Rauwolfia serpentina*. Los efectos adversos que producía en los pacientes con esquizofrenia, guiaron a Carlsson a una serie de estudios muy importantes a fines de la década del 50. En su laboratorio de la Universidad de Gotenburgo, Suecia, demostró que la reserpina vaciaba de neurotransmisores a las terminales nerviosas de conejos; los animales sufrían de serios trastornos motores y la administración de L-dopa los aliviaba. La distribución de la dopamina y noradrenalina en el SNC eran diferentes, el 80 % de la dopamina contenida en las neuronas de los ganglios basales, entre ellos el *locus niger*, estructuras asociadas principalmente a los movimientos motores. De este modo la reserpina, un alcaloide utilizado desde hacía siglos como hipotensor por la medicina hindú y luego en la esquizofrenia, fue la primera droga que se conoció que interfería con la neurotransmisión simpática.

¿Quiénes fueron los primeros en localizar a la dopamina en el SNC y “verla” más que como un simple precursor de la noradrenalina? En el conocimiento científico, todos de alguna manera nos trepamos a los hombros de otros. De acuerdo a Hornykiewicz<sup>1</sup>, Montagu y Weil-Malherbe *et al.* con artículos en *Nature*, mientras que Carlsson<sup>2</sup> en su revisión de 1959 aclara que la primera sugerencia acerca de la posible función de la dopamina en el cerebro no le pertenece, cita en cambio un libro publicado en Holanda por Blaschko. Se pensaba que la dopamina era sólo un precursor en la síntesis de noradrenalina y que el modelo de animal tratado con reserpina era similar al de la enfermedad de Parkinson. Ahora se acepta que la utilidad de los modelos animales en el estudio de la etiología de esta enfermedad es limitada<sup>3</sup>. Pero esos trabajos sirvieron para que se diera otro avance importante en

Viena por Hornykiewicz. Demostró en las autopsias que los cerebros de enfermos con Parkinson tenían reducidos los niveles de aminas, especialmente el de dopamina. Sus estudios originales fueron publicados en alemán y la revisión sobre este tema que escribió en inglés en 1966 es una excelente fuente bibliográfica<sup>1</sup>.

En el mes de octubre de este año, se publicó un número completo de una revista<sup>4</sup> con un simposio sobre la enfermedad de Parkinson y curiosamente no se mencionan los trabajos de Carlsson, un candidato al premio Nobel desde hace muchos años, al menos por los rumores que se corrían entre los investigadores y ahora el primero obtenido para la Universidad de Gotenburgo. Probablemente, la costumbre de no citar trabajos antiguos, esto es de más de 5-10 años, sea la razón de estas omisiones, aunque no deja de ser injusto. Hornykiewicz y sus colaboradores además estuvieron entre los primeros que introdujeron el uso de la L-dopa en el tratamiento del Parkinson y junto con los trabajos de George Cotzias sentaron las bases para el moderno tratamiento de la enfermedad. La L-dopa tiene la ventaja sobre la dopamina de cruzar la barrera hematoencefálica; se supone que su efecto beneficioso se debe a que es captada y convertida en dopamina por las neuronas dopaminérgicas remanentes de las vías nigroestriales, afectadas en esta enfermedad.

Paradójicamente la primera clave para entender el mecanismo de acción de las drogas antipsicóticas clásicas fue debida a las reacciones adversas que producían en los enfermos, un parkinsonismo, y Carlsson fue el que sugirió que estas drogas podían ejercer su acción al bloquear los receptores dopaminérgicos. Las fenotiazinas se asocian a los receptores  $D_1$  y  $D_2$ , y el exceso o la disminución en la actividad de los diferentes receptores de dopamina son importantes en la fisiopatología de enfermedades como la de Parkinson, la corea de Huntington y la esquizofrenia<sup>5</sup>.

Greengard es profesor en la Universidad Rockefeller de Nueva York, de donde también es Blobel, el ganador del premio del año 1999 y que se suman a los 12 Premios Nobel en el historial de la Rockefeller. Greengard y sus colegas identificaron la cascada metabólica que se inicia cuando la dopamina y otros neurotransmisores contactan con los receptores, una serie de pasos bioquímicos en cadena que modifican la transmisión sináptica. Sus estudios comenzaron en los años 60 y por entonces se pensaba que los receptores sinápticos en forma directa transducían las señales químicas en un movimiento de iones que modificaban el potencial eléctrico celular.

Los receptores dopaminérgicos se clasifican en varios subtipos ( $D_1$ - $D_5$ ) de acuerdo a su estructura, agonistas y antagonistas, ubicados junto a otros receptores tanto en la zona pre como postsináptica de neuronas corticales y subcorticales. Son macromoléculas constituídas por una cadena peptídica que abarca todo el espesor de la membrana con siete segmentos o pasos transmembranales y otros extra e intracelulares, con su funcionamiento acoplado a una proteína  $G^{6,7}$ . Aquí conviene aclarar los tipos diferentes de receptores. En los ionotrópicos, el receptor para N-metil-D-aspartato (NMDA) y el nicotínico, por ejemplo, la unión del neurotransmisor con el receptor activa directamente el canal que forma parte del receptor al modificar la posición de las subunidades proteicas que lo forman (acción alostérica). Por otro lado, en los receptores metabotrópicos la unión del transmisor con el sitio específico en el receptor es seguida de reacciones bioquímicas, con la intervención de proteínas G, enzimas como la adenilato ciclasa y iones como el  $Ca^{2+}$ , todas ellas moléculas transductoras y amplificadoras de señales originadas en los receptores. La activación de estos segundos mensajeros permiten la apertura o el cierre de diversos tipos de canales iónicos. La Fig. 1 muestra la compleja reacción que ocurre cuando la dopamina se une a los receptores tipo  $D_1$ , regulando sinérgicamente los niveles de  $Ca^{2+}$  intracelulares. El aporte de Greengard y sus colaboradores a la neurobiología, es el sistema nervioso entendido no sólo como una red de conductores sino como un sistema endocrino, con activadores y supresores de la actividad.

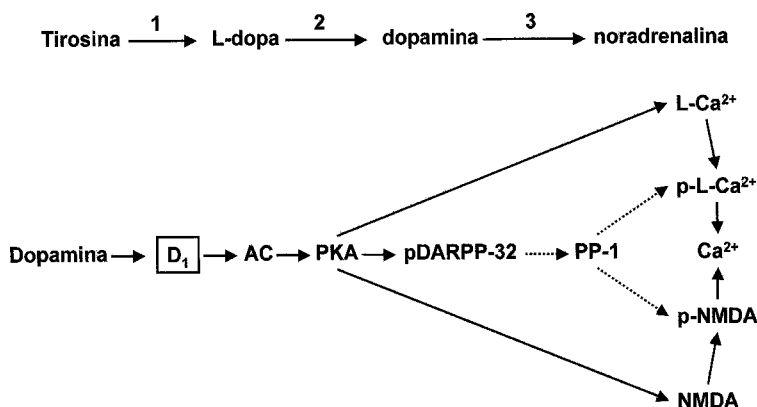


Fig. 1.– Pasos enzimáticos para la formación de dopamina y noradrenalina. En 1, interviene la enzima tirosina hidroxilasa que convierte al aminoácido tirosina en L-dopa, sustancia que se descarboxila enzimáticamente para formar dopamina (2) que es hidroxilada a noradrenalina (3). En ciertas neuronas (*locus ceruleus*) estas reacciones llegan hasta la noradrenalina, el neurotransmisor utilizado, en tanto que otras células utilizan a la dopamina. La dopamina al unirse al D<sub>1</sub> activa la adenilatociclasa (AC), una enzima que se encuentra asociada al lado intracelular de la membrana plasmática, paso necesario para la actividad de la proteína-quinasa A (PKA). La PKA puede activar directamente a los receptores NMDA y a los canales de Ca<sup>2+</sup> tipo L, quienes aumentan los niveles de Ca<sup>2+</sup> intracelulares. Por otro lado la PKA fosforila una proteína denominada pDARPP-32 y ésta a su vez inhibe a la fosfatasa PP-1 quien desfosforila tanto a las proteína constitutiva de los canales de Ca<sup>2+</sup> o a los receptores NMDA, inactivándolos.

Greengard es un investigador productivo y ubicuo, con 28 trabajos listados en el Medline de 1999 y realizados en laboratorios de Nueva York, Japón, Suecia, Alemania y Taiwan. Una reciente revisión es muy buena para el que desea interiorizarse en el tema<sup>8</sup>.

Kandel trabaja en la Universidad de Columbia de Nueva York (13 unidades en su medallero de ganadores del Nobel). Es quizás el más conocido de los tres premiados porque es coeditor y coautor de un libro de Neurociencias muy popular, plagiado e imitado<sup>5</sup>, de hecho la Fig. 2 es una modificación muy simplificada de uno de sus esquemas. Psiquiatra en los comienzos de su carrera, fue pionero en los estudios de mecanismos que subyacen en la memoria y el aprendizaje. Realizó sus experimentos en el SNC de caracoles, aprovechando que el SNC de estos moluscos es muy simple en comparación con el de otros animales.

La aplisia es un caracol de buen porte, mide unos 30 cm desde la cola a la cabeza, tiene sólo 20000 neuronas, suponemos que pocas para recordar aunque lo suficientes para un estímulo no agradable y una serie de respuestas simples en los que el comportamiento es relativamente fácil de controlar y estudiar. Eso era lo que Kandel quería con los caracoles marinos: conocer la forma en que se construyen las respuestas de comportamiento y los fenómenos de memoria implícita o declarativa, una actividad inconsciente para tareas motoras o de percepción. Caracterizó los fenómenos de habituación y deshabituación por medio de la clásica técnica de los estímulos condicionantes –como Pavlov pero en estudios subcelulares– y demostró que los cambios en los reflejos elementales comprenden modificaciones en circuitos neuronales preexistentes. En la Fig. 2 se muestran las conexiones de neuronas sensitivas del caracol con las neuronas motoras que inervan a las branquias. Se puede medir la

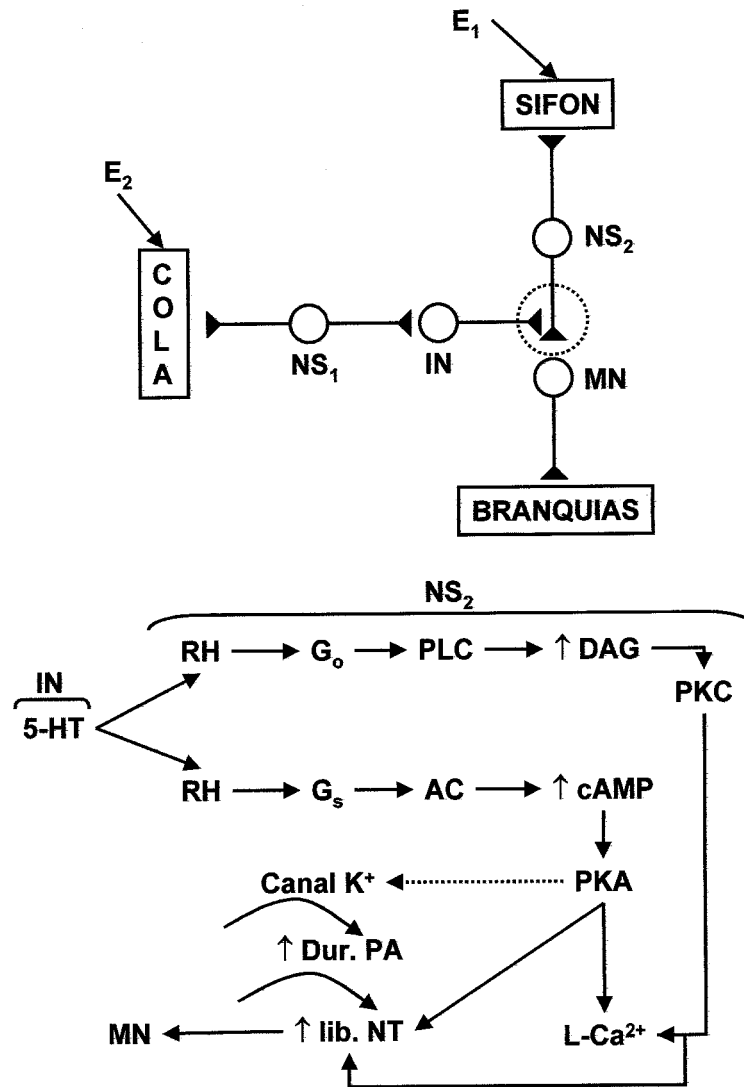


Fig. 2.— Conexiones entre neuronas sensitivas ( $NS_1$  y  $NS_2$ ) de la aplisia que establecen conexiones con el sifón y cola y por medio de una neurona intermedia (IN) con la neurona motora (MN) que inerva a las branquias del animal. Se mide la retirada de las branquias cuando un chorro de agua es aplicado sobre el sifón del animal ( $E_1$ ) y la repetición de los estímulos lleva a una habituación, el animal ya no responde al estímulo. La aplicación de 5-HT ( $E_2$ ) restablece el funcionamiento de la sinapsis a través de un mecanismo que se ilustra en la parte inferior de la Figura. La 5-HT es el neurotransmisor liberado por la interneurona (IN) y contacta a dos tipos de receptores ubicados en la terminal de la neurona sensitiva ( $NS_2$ ). El primer camino es la participación de una proteína G ( $G_s$ ) que activa la adenilato ciclasa. Aumentan los niveles de cAMP y se activa la PKA. Esto lleva al cierre de un canal de  $K^+$  responsable de la repolarización del potencial de acción con lo que la duración del potencial se prolonga, aumenta el influjo de  $Ca^{2+}$  y como consecuencia la liberación de NT que estimula a la motoneurona (MN). La PKA activa además a los canales de  $Ca^{2+}$  tipo L y estimula la excitación del neurotransmisor. Otra proteína G ( $G_o$ ) que se activa cuando la serotonina se une al otro tipo de receptor, estimula la fosfolipasa C (PLC) con aumento en el diacilglicerol (DAG), la activación de la PKA, otra quinasa que participa sinérgicamente en varios de los pasos recién mencionados.

actividad mecánica producida por la retirada de las branquias cuando un chorro de agua es aplicado sobre el cuerpo y la repetición de los estímulos causa una reducción en esta respuesta: fenómeno de habituación. El cese temporario del estímulo, la aplicación de serotonina -Kandel demostró su presencia en la sinapsis- o un estímulo de mayor intensidad que el habitual restablecen la amplitud de la respuesta: la respuesta refleja es sensibilizada. Esto se parece bastante a la memoria de corto alcance<sup>5, 9</sup>. En la Fig. 2 se ilustran los mecanismos iónicos presinápticos que facilitan la conexión sináptica entre la neurona sensitiva y la motoneurona, incrementando la liberación del neurotransmisor. Así aprende la aplesia y podría ser que también los seres humanos. Para la memoria de largo plazo, de días o semanas, se requiere de la síntesis de nuevas proteínas y en este tema la intervención de Kandel y su grupo fue muy importante. Demostraron que la proteína quinasa A (PKA) activaba una proteína -CREB-1, (*cAMP-response element binding protein*)- que a través de su acción sobre diversos genes modifica otras proteínas imprescindibles para el desarrollo de nuevos contactos sinápticos. No sólo eso sino que emplearon una droga que mejora la memoria, el rolipram y se la inyectaron a ratones<sup>10</sup>. ¿De qué forma actúa la droga?, pues aumentando los niveles de CREB1, los resultados son satisfactorios, los animales recuerdan mejor, pero el rolipram que tiene como efector a la PKA, es emético y eso lo hace inutilizable en los humanos. Sin embargo, Kandel continúa con su trabajo. Junto con las autoridades de la Universidad de Columbia ha fundado una compañía farmacéutica en la que se investigan potenciales drogas que mejoren la memoria. “Hablaremos de una probable solución en 10-15 años” contestó Kandel a una pregunta sobre el tema que se le hizo en un reciente simposio<sup>11</sup>.

Es importante mencionar la tarea en este campo de la ciencia por investigadores argentinos. Así Gerschenfeld descubrió la acción de varios agentes farmacológicos en las neuronas del SNC de diversos animales, De Robertis fue uno de los primeros en describir las vesículas sinápticas; la Dra. Pellegrino de Iraldi y Ranwel Caputto realizaron significativos estudios de neuroquímica. Por su parte Iván Izquierdo, actualmente en Brasil, es uno de los más prestigiosos investigadores por sus trabajos en memoria y aprendizaje.

En 1997 se celebró el centenario de la designación sinapsis para la zona anatómica y funcional de contacto o comunicación entre dos células nerviosas y entre fibras nerviosas y musculares. Sherrington fue el padre de la criatura. Fue muy escaso lo descubierto desde la hipótesis de los humores de la salud y la enfermedad hasta que Dale y Loewi identificaron los neurotransmisores. Desde ese punto hemos avanzado mucho más rápidamente aunque el camino es tortuoso y parece serlo cada vez más. Mencionamos otros pasos trascendentes: los estudios histológicos por Ramón y Cajal y Golgi, la síntesis y recaptura de los transmisores por Von Euler y Axelrod, su modo de liberación y acción por Katz, Eccles, Kuffler, Feldberg y Miledi entre otros, el mecanismo iónico en la placa neuromuscular por los Takeuchi, el clonado del receptor nicotínico por Numa y sus colaboradores y la descripción de la potenciación de larga duración por Bliss y Louro. Por supuesto, la lista sigue y es muy numerosa. Se han identificado una serie muy amplia de neurotransmisores (más de 100) y receptores (cerca de 300) y conocemos una gran parte de sus interacciones con canales iónicos y otras proteínas. La estimulación sensitiva o su deprivación o el aprendizaje facilitan o inhiben las conexiones sinápticas. Se ha glorificado a la investigación molecular y al reduccionismo extremo, emergió una nueva disciplina, la psiconeurofarmacología (y nuevas revistas y más separatas), que trata de las bases de numerosas enfermedades, las que antes se consideraban sin sustrato anatómico llamándolas funcionales.

¿Se ha transferido todo este conocimiento a los enfermos? Poco, las respuestas que se evocan al ser activados los receptores son el resultado de una compleja cadena de mediadores y circuitos neuronales y no contamos con drogas específicas para cada subtipo con respuestas inmediatas y

mediatas. Veamos la experiencia médica que tenemos a mano: los beneficios motores que se obtienen en la enfermedad de Parkinson con la L-dopa son seguidos por trastornos que ocurren por cambios indeseados que se producen, la "luna de miel" entre la L-dopa y el enfermo con Parkinson no dura mucho. Todavía se utilizan drogas antidepresivas descubiertas hace cuarenta años, no satisfactorias, no conocemos su mecanismo de acción ni cómo ejercen sus efectos beneficiosos. La minuciosidad y cantidad en la información que se ha logrado hasta el presente nos indican la desproporción que entre los conocimientos básicos y la transmisión de éstos a la fisiopatología de las enfermedades y sus variantes fenotípicas y la terapéutica.

Celebramos con admiración y, al menos para este editorialista, con cierta envidia, la tarea desarrollada de estos elegidos que han identificado el alfabeto molecular para la fisiopatología de las enfermedades y los procesos mentales, en una síntesis entre la neurobiología, la psicología cognitiva, la neurología y la psiquiatría. Finalizamos con una vieja idea que se entronca en el centro de los trabajos premiados con el Nobel, tiene 25 siglos. Hipócrates, un médico de la isla de Cos<sup>12</sup>, en el análisis sobre la epilepsia, la sagrada enfermedad, afirmó que el cerebro era la fuente de nuestros placeres y alegrías, penas y dolores, el asiento de la locura y del delirio y de los terrores y pesadillas que nos asaltan por la noche pero a veces de día. También del insomnio, de las excentricidades y de nuestros olvidos.

*Basilio A. Kotsias*

Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari  
Universidad de Buenos Aires  
e-mail: kotsias@mail.retina.ar

1. Hornykiewicz O. Dopamine (3-hydroxytryptamine) and brain function. *Pharmacol Rev* 1966 ; 18: 925-64.
2. Carlsson A. The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacol Rev* 1959; 11: 490-93.
3. Hagan JJ, Middlemiss DN, Sharpe PC, Poste GH. Parkinson's disease: prospects for improved drug therapy. *TIPS* 1997; 18: 156-163.
4. Obeso JA. Basal ganglia, Parkinson's disease and levodopa therapy. *TINS* 2000; 23: s1.
5. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM (eds). Principles of neural science. 4<sup>th</sup> ed. New York: McGraw Hill, 2000.
6. Smith Y, Kieval JZ. Anatomy of the dopamine system in the basal ganglia. *TINS* 2000; 23: s28-s33.
7. Sealfon SC, Olanow CW. Dopamine receptors: from structure to behavior. *TINS* 2000; 23: s34-s40.
8. Greengard P, Allen PB, Nairn AC. Beyond the dopamine receptor: the DARPP-32/Protein Phosphatase-1 cascade. *Neuron* 1999; 23: 435-47.
9. Bernabeu R; Bevilacqua L; Ardenghi P et al. Involvement of hippocampal cAMP/cAMP-dependent protein kinase signaling pathways in a late memory consolidation phase of aversively motivated learning in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 7041-46
10. Barad M, Bourtchouladze R, Winder DG, et al. Rolipram, a type IV-specific phosphodiesterase inhibitor, facilitates the establishment of long-lasting long-term potentiation and improves memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:15020-5.
11. Cohen P. It's all in the mind. Keystone Millenium Meeting: Conference Report, Colorado, 2000. Elsevier Science Ltd.
12. Hippocratic writings. Middlesex: Penguin Books, 1978, p 248.