

07 DE ABRIL DE 2005

Se controla el patrón de conexiones cerebrales mediante interruptor químico

Utilizando un interruptor químico, unos investigadores ahora pueden ejercer un control sin precedentes sobre la actividad de las moléculas que ayudan a realizar el patrón de conexiones de los cerebros en desarrollo de ratones.

La nueva técnica permite que los investigadores utilicen drogas para activar y desactivar a las moléculas de una forma tan precisa y reversible como un interruptor de luz controla una lámpara. Las técnicas genéticas y químicas de manipulación actuales tienden a eliminar circuitos eléctricos enteros o a romper las bombillas de luz de las lámparas.

"Estoy tan impresionado con lo bien que han resultado estos experimentos in vivo que hacen pensar que pueda ser posible atacar de la misma manera a una gran cantidad de proteínas quinasas."

— **David D. Ginty**

Los investigadores dijeron que la técnica les permitirá explorar la forma en la que moléculas llamadas neurotrofinas regulan el crecimiento y la supervivencia de las neuronas de animales recién nacidos y adultos. El estudio de la regulación de neurotrofinas es importante porque ayudará a que los investigadores entiendan la forma en la que el cerebro se desarrolla y funciona en estados normales y enfermos, dijeron. Por ejemplo, las neurotrofinas desempeñan una función en el mantenimiento de la supervivencia de las neuronas que se pierden en enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer.

Los investigadores describieron su metodología química y genética para controlar la señalización de neurotrofinas en el número del 7 de abril de 2005, de la revista *Neuron*. Fueron conducidos por el investigador del Instituto Médico Howard Hughes, David D. Ginty, de la Facultad de Medicina de la Universidad Johns Hopkins, y Pamela England y Kevan Shokat, de la Universidad de California, en San Francisco. Shokat estuvo entre los 43

científicos que fueron seleccionados recientemente en una competición a nivel nacional para convertirse en investigadores del HHMI.

En sus estudios, los científicos intentaron controlar el crecimiento neuronal de forma más precisa empleando el factor de crecimiento nervioso (NGF, por sus siglas en inglés) y el factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés). Estas neurotrofinas regulan el crecimiento neuronal al activar receptores tirosina quinasa específicos (Trk, por sus siglas en inglés) en la superficie de las neuronas. Los receptores Trk traducen las señales de neurotrofinas para regular el crecimiento neuronal y la maquinaria de supervivencia.

Tradicionalmente, cuando los investigadores querían estudiar la función de las neurotrofinas en ratones, anulaban a esos genes totalmente o intentaban desactivarlos después del nacimiento utilizando manipulaciones genéticas, drogas o anticuerpos. Según indica Ginty, todas estas técnicas tienen desventajas significativas.

“Todos los knock-outs de neurotrofinas son mortales alrededor del nacimiento”, dijo Ginty. “Y otras técnicas para anular de forma condicional a los genes después del nacimiento están limitadas a su uso y son irreversibles”. Las drogas y los anticuerpos que atacan a las neurotrofinas no son lo suficientemente específicos, dijo Ginty. Los anticuerpos están aún más limitados porque activan una inmunorrespuesta general y no pueden cruzar la barrera hematoencefálica para difundirse en los tejidos del cerebro.

Shokat y sus colegas, sin embargo, habían desarrollado una técnica para mutar un solo aminoácido en las proteínas quinasas, lo que hacía que estas enzimas fueran susceptibles a drogas inhibitoras que sólo atacan un tipo específico de quinasas. Las mutaciones no tienen ningún otro efecto en las funciones de las quinasas.

Ginty y sus colegas aplicaron la técnica química y genética, que había sido desarrollada en cultivos de células, a animales. Encontraron que podían desactivar de forma específica la función de los receptores mutados ya sea para NGF, BDNF o NT-3 con drogas inhibitoras de Trk. Cuando se retiró la droga, los receptores se reactivaron volviendo a funcionar normalmente. Por lo tanto, dijo Ginty, la nueva metodología representa una técnica poderosa para explorar las neurotrofinas al activarlas y desactivarlas a voluntad.

“Una ventaja importante de esta metodología es que uno tiene un animal control experimental ideal en el ratón de tipo salvaje, que tiene un aminoácido normal en vez de la mutación en la posición clave”, dijo Ginty. “Tal animal de control ideal es algo que uno raramente tiene en tales experimentos. También es crítico que dado que esta es una metodología farmacológica para controlar la actividad de las neurotrofinas actúa rápidamente y es reversible”.

Tal metodología química y genética en ratones debería ser aplicable extensamente, dado que las células utilizan un amplio conjunto de interruptores quinasas, dijo Ginty. “Estoy tan impresionado con lo bien que

han resultado estos experimentos *in vivo* que hacen pensar que pueda ser posible atacar de la misma manera a una gran cantidad de proteínas quinasas. Existen más de quinientas proteínas quinasas en el genoma y sólo tenemos buenos inhibidores para una pequeña cantidad de ellas”.

La metodología química y genética podría ofrecer un panorama mucho más amplio de la función de las neurotrofinas, dijo Ginty. “Las mutaciones nulas revelan un fenotipo, pero si es un fenotipo letal entonces nunca se entenderá la gama completa de funciones de esa molécula”, dijo Ginty. “A menudo, en el animal con una mutación nula sólo se observa la primera función y por eso se pierden todas las otras”, dijo.

Ginty dijo que él y sus colegas planean utilizar la técnica para explorar la forma en la que las neurotrofinas y sus receptores controlan el desarrollo del prosencéfalo inmediatamente después del nacimiento. “Muchos de los eventos de desarrollo que controlan el patrón del prosencéfalo ocurren postnatalmente y hasta la aparición de esta técnica, las funciones de las neurotrofinas habían sido muy difíciles de estudiar”, dijo. Además, la técnica puede ser utilizada para explorar dónde funciona, en la extensa geografía de la neurona, un receptor neurotrofina particular para regular un evento de desarrollo particular, dijo Ginty.

“También espero que otros laboratorios utilicen estos ratones diseñados para estudiar la función de las neurotrofinas en animales adultos -por ejemplo en el aprendizaje, en la memoria y en la plasticidad nerviosa-. Con esta técnica, las personas pueden plantearse interrogantes acerca de los lapsos de tiempo durante los cuales estas moléculas contribuyen a una función determinada, porque es posible realizar la inhibición con un delicado control temporal y con reversibilidad”, dijo.