



Biomédicas

Junio de 2006 Órgano Informativo del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM Año 11, No.6

En busca de una hipótesis incluyente sobre la etiología y patogénesis de la demencia de Alzheimer

Clorinda Arias, Patricia Ferrera, Octavio Mercado, Ricardo Quiroz, Perla Leal, Karina Hernández, Rigoberto Rosendo, Alexa Villavicencio y Michael Wasung. Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, IIB-UNAM

La Demencia de Alzheimer (DA) es una condición neuropatológica devastadora a la que se le ha llamado “la epidemia silenciosa del siglo XX”. Los criterios clínicos e histopatológicos que la definen fueron documentados por Alois Alzheimer en 1911. Sin embargo, hasta el momento, el origen y los mecanismos que participan en su progresión se desconocen.

TAUistas vs. β aptistas

El criterio histopatológico indispensable para el diagnóstico de DA es la presencia de inclusiones intraneuronales de la proteína asociada a microtúbulos, tau (hiperfosforilada y con anomalías conformacionales), y la acumulación parenquimatosa de la proteína β -amiloide (β AP). Sigue siendo materia de controversia cuál de las dos anomalías ocurre primero, cuál de ellas es la más importante y si una es causa de la otra.

Plasticidad aberrante, ciclo celular y envejecimiento

En la DA los cambios cognoscitivos y funcionales corresponden a un patrón regresivo de lo que ocurre en el cerebro durante su desarrollo: paso a paso, se van deteriorando redes neuronales interconectadas que corresponden a áreas de gran plasticidad y que son ontogénica y filogenéticamente las más recientes. Las señales celulares que controlan la conectividad y la plasticidad sináptica permiten el mantenimiento de las neuronas en un estado diferenciado e impiden la reactivación de mecanismos que inducen su

migración y proliferación. Algunas de las señales mitogénicas involucradas en fenómenos de morforregulación pueden inducir la reactivación del ciclo de división celular de manera aberrante que, al no ser compatible con el estado post-mitótico de las neuronas, podría conducir las a la muerte celular programada o a una patología tipo Alzheimer¹. En la DA se ha reportado la

expresión temprana de marcadores del ciclo celular en neuronas, aunque su presencia también ocurre de manera esporádica durante el envejecimiento. En individuos viejos sanos, existen mecanismos que detienen la progresión del ciclo en la fase G₁. Una de nuestras hipótesis de trabajo, apoyada por evidencia experimental previa, postula que en la DA fallan los mecanismos que controlan la progresión de G₁/S y en algunos grupos neuronales se llega a etapas G₂ y, en casos raros, hasta M. Si las neuronas dañadas por algún estímulo patológico reactivan su ciclo celular y fallan los mecanismos que controlan su progresión, puede favorecerse la aparición de marcadores de DA, como son: la proteína tau hiperfosforilada y la elevación de la

β AP². En etapa G₂ la célula desestabiliza su citoesqueleto, evento que ocurre en el cerebro de pacientes con DA, donde la desestabilización de microtúbulos axonales puede incrementar la poza de tau libre y hacerla más vulnerable a cambios bioquímicos, como la fosforilación. En nuestro laboratorio

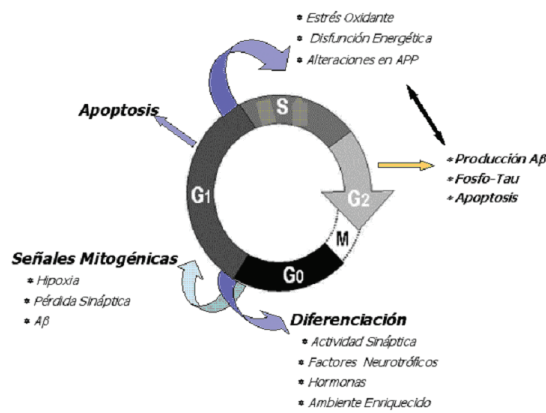


Figura 1. Esquema que representa los eventos relacionados con la progresión en el ciclo de división celular relevantes para el desarrollo de una patología neuronal de tipo Alzheimer. La pérdida sináptica, la proteína β -amiloide y algunas condiciones de disfunción metabólica pueden actuar como señales mitogénicas que estimulen la reentrada al ciclo celular. Si la neurona no regresa a G₀ o muere, continúa la progresión del ciclo hacia S/G₂ donde se pueden expresar marcadores de Demencia de Alzheimer: producción excesiva de β -amiloide y tau hiperfosforilada.

Continúa en la página 14

Células troncales y enfermedad de Parkinson.....p.p. 7 y 13

Agradecemos la participación de la doctora Clorinda Arias, en la invitación a los investigadores y la recopilación de los artículos sobre neurociencias que aparecen en este número

Mecanismos de reparación del DNA en la diferenciación neuronal

¿Participa la reparación por escisión de nucleótidos en la etiología de la neurodegeneración?

Paulina Ramos Espinosa y Mahara Valverde Ramírez, Depto. Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, IIBm-UNAM.

Para preservar la integridad del DNA la célula cuenta con diversos mecanismos de reparación. El más versátil de éstos es el de reparación por escisión de nucleótidos (REN). La reparación por escisión de nucleótidos consta de dos vías: la reparación global del genoma (RGG) y la reparación acoplada a la transcripción (RAT). La primera, detecta alteraciones que se encuentran en dominios no transcritos del genoma, mientras que la segunda lo hace en los genes transcritos y utiliza la maquinaria de la transcripción para poder ejecutarse.

Las dos vías constan de cuatro pasos importantes para reparar el genoma: el reconocimiento del daño, la incisión en la lesión, la síntesis, y la ligación. 1) El reconocimiento es el primer paso de la reparación del daño; en la vía de la RGG se lleva a cabo por un complejo de enzimas XPC-HR23B con alta afinidad por el DNA y su unión directa sobre la lesión. En cambio, en la vía de RCT el reconocimiento del

daño lo hace la maquinaria de la transcripción; es decir, al momento que la RNA polimerasa en su paso por el DNA detecta alguna distorsión, se detiene y reúne enzimas que reconocen el daño, éstas son: la CSA y la CSB. Inmediatamente después del reconocimiento se activa un complejo llamado TFIIH, que conjunta a dos helicasas: XPD y XPB que desenrollan al DNA en direcciones opuestas, posteriormente, otras dos proteínas más se unen: la XPA que confirma el daño y la RPA (proteína A de replicación) que estabiliza la apertura de las helicasas, para que de esta manera se inicie el siguiente paso. La incisión, la escisión, la polimerización y la ligación se dan de la misma manera para las dos vías. 2) La incisión de la lesión se realiza a través de dos endonucleasas: la XPF en complejo con ERCC1 que corta el extremo 5' y, la XPG que lo hace en el 3'. De esta manera, el daño es escindido y puede ser resintetizado. 3) La síntesis se lleva a cabo por la DNA polimerasa delta, tomando como molde la hebra complementaria. 4) La ligación es el paso final, que une el fragmento recién sintetizado con la hebra

preexistente mediante la ligasa 1.

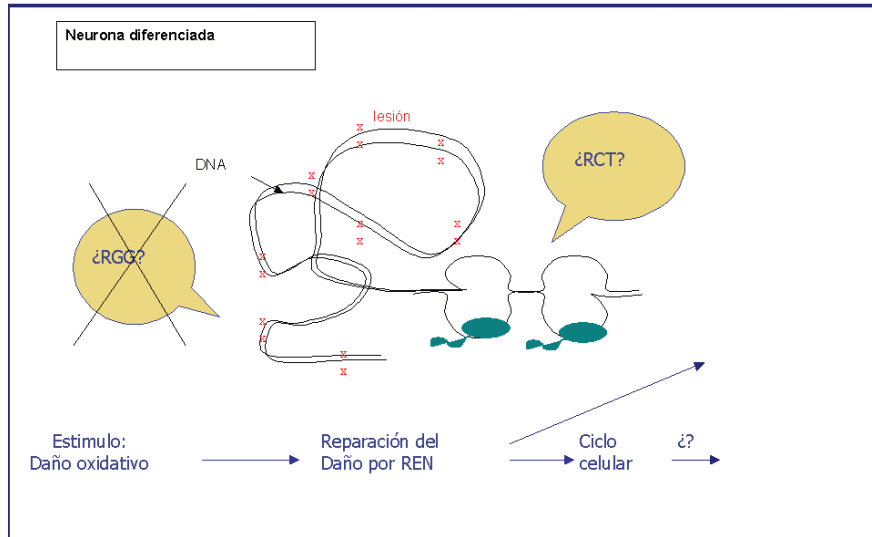
La REN se lleva a cabo en todas las células; sin embargo, en lo que se refiere a las neuronas, los mecanismos de reparación se han estudiado poco; se ha propuesto que por el hecho de ser células terminalmente diferenciadas, las neuronas tienen que desarrollar mecanismos de reparación eficientes, ya que una alteración en su genoma podría llevar a su muerte y ésta a una posible descompensación funcional en el organismo. Debido a que las neuronas no replican su DNA, se puede pensar que su

reparación se dirige primordialmente a genes activos, es decir, a los que necesita para vivir, además, esto representa un menor gasto energético ya que no hay una revisión de todo el genoma.

Se han observado dos hechos que llaman la atención con respecto al mecanismo de REN. El primero es que algunos de los genes que codifican para varias proteínas de reparación se encuentran localizados en el cromosoma

19, colindando con el gen que codifica para la lipoproteína ApoE, el cual es un marcador de predisposición a la demencia tipo Alzheimer y, segundo, que cuando se altera alguna de las enzimas de reparación de estas vías, se pueden manifestar ciertos síndromes como: Xeroderma Pigmentoso (XP), Cockayne (CS) o Tricotiodistrofia (TTD), los cuales cursan con alguna anomalía neurológica, como la neurodegeneración progresiva o el retraso mental, lo que indicaría que la reparación del DNA pudiera verse relacionada con el desencadenamiento de la muerte neuronal.

Por otro lado, diversos estudios señalan a la acumulación de daño oxidante como uno de los principales causantes de la pérdida de la función neuronal. En el caso de la enfermedad de Alzheimer, se ha propuesto que este daño se debe a la acumulación de la proteína β -amiloide y que este estímulo puede ser el que dispare procesos aberrantes, tales como la re-entrada a ciclo celular. Este hecho se ha propuesto debido a la localización de



Vías de reparación del genoma

Continúa en la página 14

Enfermedad de Huntington: aspectos generales y mecanismos patogénicos

Ana María Estrada-Sánchez y Lourdes Massieu. Departamento de Neurociencias. IFC-UNAM

La enfermedad de Huntington (EH) fue descrita en 1872 por George Huntington. Este padecimiento es hereditario y afecta de igual manera a hombres y a mujeres, con una frecuencia de 5 a 10 casos por cada 100 mil individuos. En México, de acuerdo con las estadísticas del Instituto de Neurología y Neurocirugía, se han reportado 8 mil casos¹. El origen genético de esta enfermedad radica en la mutación del primer exón del gene IT15 localizado en el brazo corto del cromosoma 4. La expresión normal de este gene codifica para la proteína conocida como huntingtina (htt), que en su extremo N-terminal presenta un fragmento polimórfico que contiene un número variable (entre 3-30) de residuos del aminoácido glutamina (Gln)². La htt se considera mutada cuando el fragmento tiene más de 34 repeticiones de Gln, aunque el padecimiento se desarrolla invariablemente cuando el número de Gln es igual o mayor a 40. Existe una relación inversa entre la manifestación de la enfermedad y el número de repeticiones, entre mayor es el número de residuos de Gln a menor edad se manifiesta la enfermedad. La forma juvenil se desarrolla antes de los 20 años si el gene contiene un número igual o mayor a 60 repeticiones³. La manifestación fenotípica de la EH es progresiva y generalmente presenta el mismo patrón de alteraciones. Pueden distinguirse tres etapas con una duración aproximada de 5 años³. En la fase inicial el paciente muestra temblor constante en manos y brazos, alteraciones en la marcha y pérdida de la capacidad para realizar movimientos finos. La presencia de movimientos involuntarios o coreicos caracteriza a la segunda etapa e incapacita al paciente para realizar actividades cotidianas como comer, escribir o mantener una conversación. A pesar de llevar una dieta normal o altamente proteica, hay una pérdida dramática en el peso corporal. Los pacientes manifiestan deterioro acentuado de

las capacidades mentales culminando en demencia. En la tercera etapa, la excesiva movilidad corporal cesa y se presenta una fase acinética, en la cual los pacientes muestran bradicinecia o disminución en los movimientos corporales, acompañada de rigidez. En esta última etapa, 15 ó 20 años después de las manifestaciones iniciales, ocurre la muerte del paciente como consecuencia del deterioro progresivo de su salud, frecuentemente a causa de neumonía.

El origen de las alteraciones motoras características de la EH es la muerte selectiva de las neuronas espinosas medianas (NEM) que se encuentran en la región del neocórtex, un grupo de células nerviosas, formado por el núcleo caudado y el putamen, que controla el movimiento, el equilibrio y la marcha. Esta estructura forma parte de un circuito cerebral involucrado en la planeación y ejecución de los movimientos corporales. La razón por la cual la mutación de la htt conduce a la muerte selectiva de las NEM no se conoce, pero se han postulado dos hipótesis. La primera sugiere que la mutación promueve la pérdida de la función de la htt, la cual a la fecha no se ha identificado, y la segunda sostiene que la mutación confiere a la htt una función distinta. Se han observado una serie de

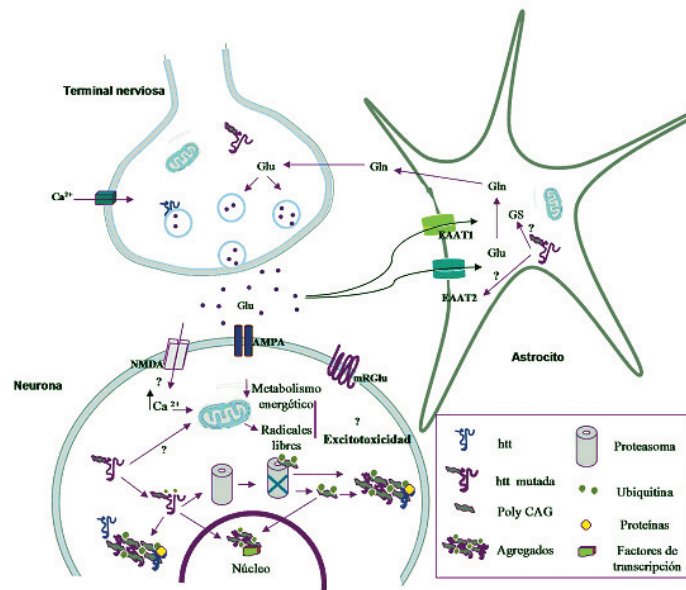


Figura 1. Alteraciones celulares subyacentes a la expresión de la htt mutada. La htt mutada se aglomera en agregados citoplásmicos los cuales también se forman por la degradación incompleta de la htt ubiquitinizada, ya que la presencia del fragmento de poly-CAG interrumpe su degradación. Los agregados se localizan en el citoplasma y en el núcleo, en ambas regiones éstos pueden secuestrar diversas proteínas y factores de transcripción. Los mecanismos celulares alterados por la expresión de la htt mutada, cuyo mecanismo de alteración se desconoce, están indicados por las interrogantes, entre ellos: cambios en la actividad de la glutamina sintetasa (GS), en el metabolismo energético y alteraciones en el funcionamiento del transportador EAAT2 y del receptor NMDA. Estos eventualmente conducirían a un proceso excitotóxico.

alteraciones celulares que subyacen a la expresión de la htt mutada, como es la presencia de agregados intracelulares, tanto en el citoplasma como en el núcleo, que contienen a la htt completa y fragmentos de la región mutada⁴. Estos también contienen factores de transcripción, proteínas citoplásmicas y complejos proteicos del proteasoma implicados en la degradación de proteínas mal plegadas⁵ (Fig. 1). La presencia

Continúa en la página 15

Deterioro en la audición causado por la epilepsia y su tratamiento

María Sitges, Departamento de Biología Celular y Fisiología, IIBm.

La epilepsia es uno de los trastornos neurodegenerativos más habituales y problemáticos. Su incidencia, de por sí elevada en el mundo, lo es aún más en países en vías de desarrollo debido a factores sociales, tales como la mayor cantidad de partos mal asistidos o la mayor frecuencia de cisticercosis, enfermedad parasitaria que frecuentemente invade al sistema nervioso central.

La epilepsia comprende un grupo de desórdenes caracterizados por convulsiones recurrentes no provocadas por alguna causa inmediata identificada, que ocasiona un daño de la función cerebral debido a excitabilidad paroxismal y sincronización aberrante de la corteza. Este daño, a largo plazo, genera problemas cognoscitivos, fallas de atención y dificultades en la memoria, que pueden estar causados tanto por la enfermedad como por su tratamiento con los fármacos antiepilépticos (Prevey et al., *Epilepsy Res.* **30**: 1, 1998; Kwan y Brodie, *Lancet* **357**: 216, 2001; Brunbech y Saber, *Drugs* **62**: 593, 2002; Schmidt, *Epilepsy Res.* **50**:3, 2002; Van Rijckevorsel, *Seizure*, 2006, en prensa).

También existen varias investigaciones que indican que los fármacos antiepilépticos más comunes, incluyendo a la carbamazepina, ácido valproico, fenitoína, fenobarbital, vigabatrina y clonazepam, causan deficiencias en la audición, así como alteraciones en las ondas de los potenciales evocados del tallo cerebral. Estos potenciales se caracterizan por cuando menos cuatro ondas positivas en los animales y cinco en los seres humanos. Las ondas tardías de los potenciales auditivos reflejan la actividad eléctrica de núcleos específicos localizados en el tallo cerebral. Por estudios electrofisiológicos en el cobayo, se sabe que las ondas P3 y P4 se generan, respectivamente, en los núcleos medial y lateral del complejo olivar superior (COS) que está localizado en la parte ventral inferior del tallo cerebral. Se ha propuesto que además de los problemas en la sensibilidad auditiva causados por los fármacos antiepilépticos, la epilepsia por sí misma también causa problemas de audición. Sin embargo, es difícil distinguir entre ambas contribuciones, ya que los pacientes epilépticos graves, donde particularmente se manifiestan los problemas de audición, por lo general han recibido altas dosis de medicamentos.

La etiología de la epilepsia es multifactorial. Los estudios neuroquímicos y farmacológicos indican que tanto la disminución en la transmisión sináptica GABAérgica cerebral como el exceso en la transmisión sináptica glutamatérgica cerebral desencadenan convulsiones acompañadas de actividad epileptiforme^a. Por consiguiente, en animales de laboratorio se puede inducir epilepsia experimental al antagonizar a los receptores del ácido gama aminobutírico (GABA) con fármacos tales como el pentilentetrazol (PTZ), o al incrementar la liberación de glutamato con fármacos como la 4-aminopiridina (4-AP). Con el propósito de explorar si la epilepsia por sí misma

también causa problemas de audición, en un trabajo previo de nuestro laboratorio, publicado en el año 2003 (*Epilepsy Res.* **53**:245), el doctor Nekrassov y yo demostramos en cobayos machos *in vivo*, que en dos modelos de epilepsia experimental (PTZ y 4-AP), las ondas de los potenciales auditivos generadas en los núcleos lateral y medial del COS presentaban alteraciones de amplitud y latencia, y que dichas alteraciones estaban ligadas a una disminución en la sensibilidad auditiva, lo que indica que la propia enfermedad puede causar pérdida del oído. En un par de trabajos posteriores, demostramos que la vinpocetina, un fármaco neuroprotector exitosamente utilizado en el tratamiento de desórdenes cerebrovasculares y más recientemente utilizado para mejorar la memoria, inhibía las convulsiones, la actividad epileptiforme y la pérdida del oído inducidas por PTZ y 4-AP (Sitges y Nekrassov, *Clin. Neurophysiol.* **115**:2711, 2004; Nekrassov y Sitges, *Epilepsy Res.* **60**:63, 2004).

Es interesante que, de acuerdo con resultados no publicados obtenidos recientemente en nuestro laboratorio, opuestamente a lo que ocurre con la vinpocetina, la administración prolongada de los fármacos antiepilépticos más frecuentemente utilizados en la clínica reduce la sensibilidad auditiva, y esa reducción se suma a la pérdida del oído que induce la epilepsia experimental, lo que indica que tanto la enfermedad como su tratamiento provocan alteraciones en la audición.

En las convulsiones epilépticas, la activación exacerbada y sostenida de las neuronas por activación de los canales de sodio sensibles a voltaje puede dañar al cerebro debido a que la demanda neuronal de energía, es decir de ATP en términos bioquímicos, sobrepasa al suministro de energía^b. Consecuentemente, el mecanismo de acción de muchos fármacos antiepilépticos consiste en bloquear a los canales de sodio. En trabajos previos en terminales nerviosas cerebrales aisladas habíamos encontrado que la vinpocetina inhibía el incremento tanto en la concentración interna del ión sodio (medida con el indicador fluorescente sensible a sodio, SBFI) como el incremento en la liberación de varios neurotransmisores inducida por activación de los canales de sodio (Sitges y Nekrassov, *Neurochem. Res.* **24**:1587, 1999; Trejo et al., *Brain Res.* **909**:59, 2001; Sitges et al., *Neurochem. Int.* **46**:533, 2005). Resultados no publicados de nuestro laboratorio demuestran que varios de los fármacos antiepilépticos, tanto de la nueva como de la vieja generación, inhiben también los incrementos en la liberación de varios neurotransmisores (detectados por cromatografía líquida de alta presión, HPLC) inducidos por activación de los canales presinápticos de sodio.

Mientras que varios trabajos indican que los fármacos antiepilépticos estándar agravan el deterioro cognoscitivo y los desórdenes de memoria que produce la epilepsia (ver citas en el

Continúa en la página 16

La esclerosis lateral amiotrófica

Angélica Zepeda, Juan Carlos Corona, Luis B. Tovar-y-Romo y Ricardo Tapia, Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, UNAM

La esclerosis lateral amiotrófica (ALS) –también conocida como enfermedad de Lou Gehrig, porque la padeció este famoso beisbolista de la primera mitad del siglo pasado–, es una enfermedad neurodegenerativa que se inicia generalmente entre los 50 y 60 años de edad, y cuya duración varía entre 2 y 5 años después de la aparición de los primeros síntomas, produciendo la muerte por paro respiratorio.

La característica patológica sobresaliente de la ALS es el daño progresivo y pérdida de las motoneuronas de la médula espinal, tallo cerebral y corteza motora. La sintomatología difiere, dependiendo de la estructura en la que inicia la degeneración neuronal. Si la enfermedad es de origen bulbar, es decir, si la muerte de las motoneuronas ocurre inicialmente a nivel del tallo cerebral, provoca dificultades en el habla, la gesticulación, la deglución y finalmente en la respiración, provocando la muerte del paciente. En cambio, si la muerte de las motoneuronas se inicia en la médula espinal, se produce debilidad muscular y parálisis progresiva, que empieza en las extremidades inferiores y asciende conforme la degeneración de las motoneuronas avanza, hasta llegar a los músculos faciales y terminar en la muerte del paciente por fallo respiratorio.

Se conocen dos tipos de ALS, la familiar (FALS) que tiene componentes genéticos, y la esporádica (SALS), cuya causa no se conoce. La primera es mucho menos frecuente, ya que ocurre sólo en menos del 10 por ciento de los casos, pero la sintomatología y la patología de la FALS y la SALS son indistinguibles y los procesos fisiopatológicos que subyacen en ambos tipos son de origen multifactorial. Hallazgos recientes sugieren una interrelación entre diversos mecanismos, que incluyen factores genéticos, excitotoxicidad (hiperestimulación provocada por el glutamato extracelular), estrés oxidante, agregación de proteínas, daño del transporte axonal y fallas energéticas mitocondriales. En este trabajo expondremos brevemente dos de las hipótesis más aceptadas, que estamos estudiando actualmente en nuestro laboratorio, sobre los mecanismos asociados a la muerte neuronal en la ALS. La primera se refiere al origen genético de la enfermedad y la segunda a la neurodegeneración inducida por excitotoxicidad.

FALS: mutaciones en la SOD1

Uno de los hallazgos más importantes en el estudio de la ALS es el descubrimiento de que 20 por ciento de los pacientes con FALS tienen una mutación puntual en el gen que codifica la enzima superóxido dismutasa Cu/Zn citosólica (SOD1) Rosen D.R. et. al., *Nature* **362**:59-62,1993. Hasta ahora se han registrado más de 100 mutaciones distintas a lo largo de la secuencia de la SOD1. Se sabe que la enzima mutada adquiere una función tóxica y es este mecanismo y no la pérdida de su actividad catalítica normal, lo que lleva a la muerte selectiva de

las motoneuronas. La expresión de la SOD1 humana mutada en ratones transgénicos causa la muerte de las motoneuronas en la médula espinal y, en consecuencia, el animal sufre una parálisis progresiva similar a la de los humanos con ALS, mientras que ratones knock-out de SOD1 no presentan alteraciones motoras. Desde 1994, los ratones transgénicos con la SOD1 mutada han sido el modelo más utilizado para realizar estudios *in vivo* sobre los mecanismos de la ALS, con la evidente limitación de que el modelo se refiere fundamentalmente a la FALS, aunque puede proporcionar datos relevantes sobre los mecanismos de la neurodegeneración motora.

Hasta ahora no se sabe con precisión cómo es que la SOD1 mutada produce la muerte selectiva de las motoneuronas. Una de las principales hipótesis es que, debido a la ganancia de función ya mencionada, la enzima se convierte en un potente productor de especies reactivas de oxígeno y éstas, a su vez, causan la degeneración de las estructuras celulares, tanto neuronales como gliales. El estrés oxidante causado por la SOD1 mutada alteraría el correcto funcionamiento de los transportadores de glutamato, incrementando su concentración extracelular y dañando las motoneuronas por excitotoxicidad, como se describe en la siguiente sección. Sin embargo, en nuestro laboratorio hemos encontrado que la elevación de la concentración de glutamato extracelular mediante el bloqueo de sus transportadores no tiene un efecto neurodegenerativo en la corteza motora de los ratones transgénicos con la SOD1/G93A humana, sugiriendo que el efecto deletéreo de la SOD1 mutada no está relacionado con la excitotoxicidad (Tovar-y-Romo y Tapia, *Exp. Neurol.* en prensa, doi:10.1016/j.expneurol.2005.11.005).

Excitotoxicidad

Se han propuesto varias hipótesis para explicar la etiología de la SALS. La más repetida es que la muerte selectiva de las motoneuronas se debe a un fenómeno de excitotoxicidad, es decir, a la sobreactivación, por un exceso de glutamato extracelular, de los receptores de este neurotransmisor excitador, lo cual sobreexcitaría las neuronas y produciría su degeneración. De entre los distintos tipos de receptores al glutamato que se conocen, los de tipo AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propiónico) parecen ser los más involucrados en la excitotoxicidad en la médula espinal, debido a su permeabilidad al Ca^{2+} . Los receptores AMPA son estructuras homo o heteroligoméricas formadas por cuatro diferentes subunidades, designadas como GluR1-4, en varias combinaciones. La permeabilidad al Ca^{2+} de estos receptores depende de si la subunidad GluR2 es un componente del receptor. Los receptores AMPA que contienen al menos una subunidad GluR2, en la cual la glutamina ha sido sustituida

Continúa en la página 12

Hacia la neurobiología del suicidio

Carlos M. Contreras y Ana Gloria Gutiérrez García. Unidad Periférica Xalapa, Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM.

En los pasados 20 años, los suicidios aumentaron en México en un 459 por ciento. Evidentemente, un ascenso sin relación con el aumento de la población. El término suicidalidad (del inglés “suicidality”) incluye la ideación suicida, los intentos suicidas y los suicidios consumados. Generalmente se tiene el antecedente de daño dirigido a uno mismo y la incapacidad para resolver problemas, principalmente de tipo social. Se han identificado muchos de los factores psicosociales y medioambientales asociados con el suicidio; pero sólo hace unas tres décadas se comenzó a prestar atención a los mecanismos neurobiológicos implicados en este fenómeno, con el fin de determinar la existencia de algún circuito cerebral involucrado.

La disfunción del sistema serotoninérgico está asociada con la desregulación de la ansiedad, la impulsividad y la agresión. En este sentido, el suicidio y otras alteraciones conductuales están relacionados con polimorfismo en el gen codificador de la enzima triptofano hidroxilasa, la enzima limitante de la biosíntesis de la serotonina. Además, el contenido del principal metabolito de la serotonina, el ácido 5-hidroxi-indol-acético (5-HIAA), está disminuido en el líquido cefalorraquídeo de quienes han intentado suicidio; y, entre quienes lograron suicidarse se han identificado alteraciones de la densidad de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en el tallo cerebral, el hipotálamo, el hipocampo y en las cortezas occipital y la prefrontal. Esta última porción cortical participa en el control cognoscitivo; su daño, produce desinhibición conductual e incremento de la agresividad. Por otro lado, en suicidas que tenían como común denominador la experiencia del estrés, la expresión del RNAm para el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y su receptor fue significativamente más baja en la corteza prefrontal derecha y en el hipocampo. Además, la función del complejo amigdalino, particularmente de sus núcleos basolaterales en la agresión, ha sido determinada desde hace tiempo. Aunque su participación en situaciones en las que se combinan un estado depresivo, con agitación e impulsividad, requiere ser explorada.

Por otro lado, las neuronas del área septal lateral incrementan de manera significativa su tasa de disparo con tratamientos antidepresivos clínicamente eficaces o cuando los animales anticipan la entrega de reforzadores. En consistencia, la actividad de estas neuronas disminuye ante la presentación de un estímulo

aversivo condicionado o cuando las ratas son sometidas a procesos inductores de desesperanza. Entonces, estos núcleos límbicos están relacionados con el hedonismo. Y es conveniente mencionar que la anhedonia o incapacidad para experimentar placer y la desesperanza son síntomas principales del deprimido y se les identifica como componentes importantes de la diátesis o vulnerabilidad para cometer suicidio.

La depresión y el suicidio son entidades sexualmente dimórficas. La depresión afecta más al género femenino, mientras que, el porcentaje de suicidios es mayor en el género masculino. En efecto, la desesperanza conductual es sexualmente dimórfica y dependiente del desarrollo gonadal de la rata, el dimorfismo se establece en la etapa prepuberal. El núcleo septal lateral contiene, entre otros receptores, a serotonina y a hormonas esteroideas y neuroesteroides. El caso es que la progesterona ejerce acciones conductuales y electrofisiológicas semejantes a los tratamientos antidepresivos y potencia la acción experimental de un antidepresivo tricíclico, lo que podría explicar la mejor respuesta que tienen las mujeres al tratamiento antidepresivo. Estos hallazgos ilustran una acción protectora de la progesterona contra la desesperanza. De hecho, en mujeres que

padecen síndrome premenstrual, el tratamiento de restitución de reducción gradual con progesterona reduce la sintomatología depresiva y ansiosa.

Entonces, el suicidio tiene una base biológica, lo que obliga a que la prevención deba incluir una base farmacológica. Los desórdenes del estado de ánimo, especialmente la depresión mayor y los desórdenes bipolares, así como la enfermedad esquizoafectiva son las condiciones psiquiátricas más comúnmente asociadas con el suicidio. Es conveniente tomar en cuenta que una o dos semanas de tratamiento antidepresivo son insuficientes para restaurar la actividad neuronal ya que se trata de procesos plásticos, no obstante que su eficacia está fuera de duda. El litio reduce la conducta suicida independientemente de sus efectos para estabilizar el estado de ánimo en pacientes con desorden bipolar. Las bases de los mecanismos por los cuales los antidepresivos, el litio y la clozapina, ejercen un efecto antisuicida no están completamente identificadas, pero los tres tipos de medicamentos modifican la



El suicidio de Dorothy Hale, 1938/39. Frida Kahlo.

Continúa en la página 12

¿Es posible usar la transferencia nuclear seguida de extracción de células troncales embrionarias para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson?

Iván Velasco, Emmanuel Díaz y Anayansi Molina. Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

La enfermedad de Parkinson es un mal incapacitante que se presenta generalmente después de los 60 años y se produce por la muerte de neuronas que secretan dopamina, localizadas en la *sustantia nigra pars compacta*. En una proporción muy baja, la patogénesis se relaciona con la genética familiar. Los tratamientos de elección para aminorar los síntomas de rigidez, bradicinecia y temblor inician con la administración de L-dopa, el precursor inmediato en la síntesis de dopamina. Esta sustancia facilita la síntesis del neurotransmisor por las pocas neuronas secretoras de dopamina que sobreviven, permitiéndoles funcionar a marchas forzadas. Para el tratamiento, también se ha intentado preservar a las neuronas sobrevivientes mediante la administración de factores de supervivencia a los que responden estas neuronas. Una tercera alternativa consiste en la implantación quirúrgica de electrodos dentro del cerebro, para que la estimulación de esas regiones simule la acción que tendría normalmente la dopamina. En los últimos años se han realizado ensayos clínicos a gran escala que consisten en transplantar neuronas dopaminérgicas provenientes de fetos humanos abortados, para sustituir a las neuronas que murieron. Los resultados muestran una mejoría variable en la condición de los pacientes, que depende del número de células implantadas, del método de hacer el trasplante y de la edad de las personas [1]. Ninguna de las terapéuticas mencionadas es completamente

efectiva para neutralizar los devastadores efectos que caracterizan a la enfermedad de Parkinson.

Sin embargo, una de las opciones más exploradas en la actualidad pretende probar que las células troncales pueden generar un número suficiente de neuronas humanas secretoras de dopamina (las extraídas de fetos resultan insuficientes), que permitan seguir realizando trasplantes en los pacientes y perfeccionando esta técnica de terapia celular sustitutiva. Las células troncales son capaces de reproducirse en un estado indiferenciado; es decir, sin tener una función asignada todavía.

La segunda característica interesante de estas células es que pueden salir de ese estado no diferenciado para adquirir cualidades de, por ejemplo, neuronas dopaminérgicas. Existen varios tipos de células troncales que pueden proveer neuronas humanas productoras de dopamina: el cerebro adulto contiene células troncales multipotentes que pueden generar neuronas y células de la glía. Desafortunadamente, no existe mucha evidencia que permita afirmar, hasta el momento, que estas células, ya sea manipuladas dentro del cerebro o bien extraídas e inducidas *in vitro*, puedan generar neuronas dopaminérgicas que alivien el mal de Parkinson. No obstante, los esfuerzos para poder utilizar estas células troncales adultas deben continuar.

Otro tipo de células troncales que dan lugar a neuronas de dopamina, mediante distintos protocolos de diferenciación en cultivo, son las células troncales embrionarias, las cuales se llaman pluripotentes porque tienen una mayor capacidad de diferenciación que las multipotentes (pueden, por ejemplo, producir tejido cardíaco, pancreático, sanguíneo, etcétera). Estas células se extraen de un estadio preimplantación de los embriones y, hasta el momento, esto implica la interrupción del desarrollo de ese organismo. De tal suerte que la derivación de las células troncales embrionarias humanas que existen en la actualidad, se realizó mediante la donación altruista de embriones congelados que habían sido producidos inicialmente con miras a

implantarse en una mujer que se encontrara en un programa de reproducción asistida por fertilización *in vitro* [2]. Esos embriones permanecieron congelados durante varios años hasta que los padres decidieron donarlos para derivar células troncales embrionarias. Después de 1998, se empezaron a estudiar estas células y se encontró que sus características eran muy semejantes a las de otros organismos, como el ratón o el mono, en donde ya se habían generado neuronas de dopamina a partir de ellas. Como era de esperarse, las células troncales

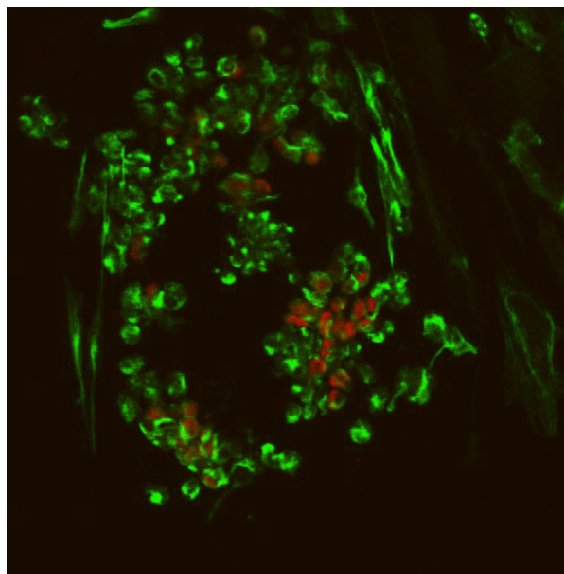


Figura 1: Microfotografía de células troncales embrionarias de ratón que expresan el factor transcripcional Oct-4 (rojo) y el marcador de células troncales neurales Nestina (verde), lo que indica que las células verdes están en camino de convertirse en neuronas de dopamina.

Continúa en la página 10

De cómo la vitamina biotina cambia el proteoma

Antonio Velázquez-Arellano, Unidad de G

Tanto la anatomía como el funcionamiento de los seres vivos están dados por sus proteínas. Comprender cómo se regula su expresión y cómo interactúan entre sí, es quizá el principal problema de la Biología a nivel molecular, comparable a lo que el conocimiento de las partículas elementales en la estructura y el funcionamiento del Universo es para la

Física. El problema es de una magnitud y complejidad enormes, ya que la cantidad de proteínas de cualquier célula es innumerable, y todas ellas se encuentran en interacción continua y cambiante con las

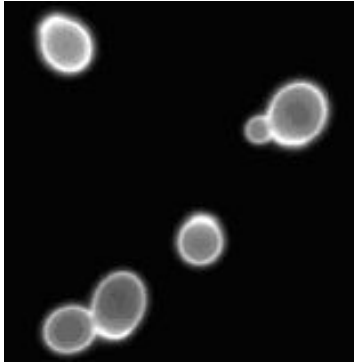


Figura 1. Organismos modelo utilizados en el proyecto. Levadura *S. cerevisiae*

demás, lo cual eleva el número de interacciones, a órdenes de magnitud que se antojan astronómicas. Además, dado que muchas de estas interacciones no son estables, sino que cambian continuamente, siendo algunas muy breves, la variable tiempo adquiere una importancia fundamental, comparable con la que tiene en la Física y confiere a la Biología un carácter muy diferente al que hasta ahora ha tenido.

Hasta hace muy poco tiempo era utópico considerar el estudio de grandes conjuntos de proteínas interactuando entre ellas, para comprender mejor las funciones celulares. Lo que entonces se antojaba imposible, es ahora una incipiente realidad. Una analogía sería, al oír una sinfonía, escuchar un solo instrumento *versus* la orquesta completa.

En mi laboratorio hemos venido estudiando, desde hace más de 25 años, una vitamina: la biotina, que además de su función como grupo prostético de enzimas que transfieren grupos carboxilo (carboxilasas, descarboxilasas y transcarboxilasas), participa en el control de la expresión de cientos de muy variadas proteínas, en especies tan distantes entre sí como la bacteria fijadora de nitrógeno *Rhizobium etli*, la rata y el *Homo sapiens*. Estos efectos reguladores de la biotina constituyen un verdadero enigma. Su esclarecimiento permitirá conocer mejor el funcionamiento de las células en términos de la orquestación de sus proteínas. En México, el efecto de la biotina sobre las proteínas de *Rhizobium* ha sido ampliamente estudiado por Sergio

Encarnación y Jaime Mora en el Centro de Ciencias Genómicas de la UNAM. En la rata y el ser humano hemos hecho aportaciones, respectivamente, Antonio Velázquez-Arellano y Alfonso León del Río, del Instituto de Investigaciones Biomédicas.

Encarnación y Mora descubrieron que en *Rhizobium*, crecido en medio mínimo, la adición de biotina cambia su metabolismo de fermentativo a aeróbico. En la rata, desde hace casi ya tres décadas, Dakshinamurti ha venido realizando investigaciones que muestran que la biotina estimula la utilización de glucosa al inducir enzimas claves en glucólisis (glucocinasa, fosfofructocinasa y piruvato cinasa) e inhibir la gluconeogénesis (la fosfo-enol piruvato carboxicinas). Nosotros hemos obtenido resultados similares al estudiar el efecto de la biotina sobre el proteoma de la levadura (ver abajo). Todas estas observaciones apuntan a un papel fundamental de la biotina en la regulación de los flujos de carbono, posiblemente en todos los seres vivos, lo que quizá no sea tan sorprendente si se piensa en su función hasta ahora más estudiada, o sea, como acarreadora de grupos carboxilo.

Pero aunque hasta aquí parece que estamos frente a una historia solvente por sí sola, los efectos reguladores de la biotina se extienden mucho más allá de

Nemátodo *C. elegans*,



Pez cebra *D. rerio*



Rata *R. norvegicus*

los flujos de carbono, para abarcar un sinnúmero de proteínas muy variadas que no parecen tener relación entre sí, como tampoco parecen tener una relación obvia con la estructura de la propia biotina.

Nuestra estrategia para intentar dilucidar los efectos reguladores de la biotina, está inspirada en el concepto clásico de Dobzhansky de que “nada en biología es comprensible sino a la luz de la evolución”. Nuestro objetivo es comparar los efectos de esta vitamina sobre proteínas de cuatro organismos modelo: (Figura 1) la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el nemátodo *C. elegans*, el pez cebra *D. rerio* y la rata *R. norvegicus*, así como con los resultados obtenidos en *R. etli* por Encarnación,

a y el metabolismo de muy distintos seres vivos

Genética de la Nutrición, IIBm, UNAM-INP

Mora y sus colaboradores. Para ello hemos formado un consorcio con otros grupos de investigación.

La primera parte de nuestro proyecto ha consistido en establecer el modelo experimental para cada especie que estudiaremos. Hemos definido los diferentes aportes de biotina (deficiente, fisiológico y elevado) y los hemos estandarizado y validado en la levadura, el nemátodo y en hepatocitos de rata, y estamos a punto de concluirlo para el pez cebra. Nuestro objetivo es ahora identificar las proteínas que cambian al variar la cantidad

de biotina y para ello estamos trabajando en muy estrecha colaboración con el grupo de Sergio Encarnación, en el CCG. Las proteínas son estudiadas por electroforesis bidimensional (Figura 2) e identificadas por espectrometría de masas (MALDI-TOFF). Dada la gran envergadura del proyecto, estamos procediendo en etapas, empezando con el organismo de más rápida reproducción y más fácil manipulación, que es la levadura, si bien contamos ya con los primeros geles 2D con proteínas de *C. elegans*.

Hasta ahora hemos estudiado, bajo dos diferentes condiciones metabólicas –fermentativa y aeróbica–, a 50 proteínas que cambian con biotina. Al clasificarlas en distintas categorías, hemos encontrado que pertenecen a las siguientes: metabolismo de carbohidratos, proteínas que se unen a DNA, de respuesta a estrés, síntesis de pirimidinas y purinas, síntesis de aminoácidos, síntesis de proteínas, proteínas estructurales, metabolismo de lípidos, proteínas de transporte, fosforilación oxidativa y cadena respiratoria, y misceláneas. En otras palabras, los efectos reguladores de la biotina en *S. cerevisiae* son altamente heterogéneos, y abarcan casi todos los tipos de proteínas, lo que concuerda con lo reportado en *Rhizobium* y en mamíferos.

Estamos ahora ubicándolas en los mapas de vías metabólicas y de señalización, así como en el de interactomas de *S. cerevisiae* (Figura 3). Estos análisis nos permitirán avanzar para, a partir

de nuestros estudios proteómicos, ir comprendiendo la fisiología de esta compleja red de regulación. Pero para entender mejor su “lógica” serán necesarios los estudios comparativos que estamos emprendiendo entre los distintos organismos modelo.

Por otro lado, se han descubierto algunos mecanismos mediadores de los efectos reguladores de la biotina. Desde hace muchos

años se ha sabido que en bacterias como *Escherichia coli*, la biotina regula las proteínas que la sintetizan. En nuestro laboratorio encontramos que algo similar ocurre en mamíferos; la biotina controla la expresión de la holocarboxilasa sintetasa (HCS) y las carboxilasas. Alfonso León extendió nuestros hallazgos al encontrar que, cuando hay un exceso de biotina, se

acumula biotinil-AMP, producto de la biotina proteína ligasa (BPL) (la HCS de los mamíferos), enzima que une la biotina a las carboxilasas. Esa señal activa una guanilato ciclasa soluble y, a su vez, una proteína cinasa dependiente de GMP cíclico. Pero esta vía de señalización no existe en levadura, si bien recientemente se comunicó que la BPL (HCS) es el sensor de biotina en levaduras, como desde hace años se sabe que lo es en bacterias. En mamíferos también se han descrito otros mecanismos que participan como mediadores de las funciones reguladoras de biotina, entre ellos algunos factores de transcripción y cambios en la conformación de la cromatina al ser biotiniladas las histonas. Actualmente estamos abriendo líneas de investigación

para indagar en algunos de estos mecanismos e invitando a estudiantes de posgrado y posdoctorales a participar en ellas. ☞

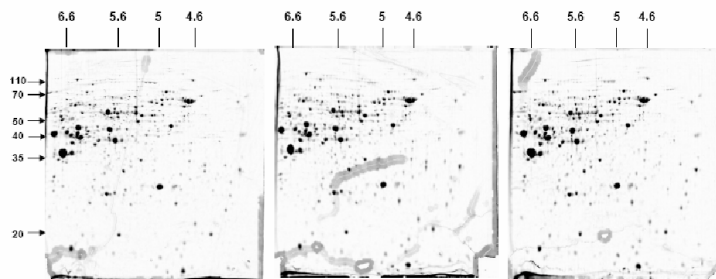


Figura 2. Electroforesis bidimensional de proteínas de *S. cerevisiae*, cultivada en medio con concentraciones baja (2 nM), intermedia (200 nM) y alta (200,000 nM) de biotina, para descubrir aquellas proteínas afectadas por la variación de la vitamina.

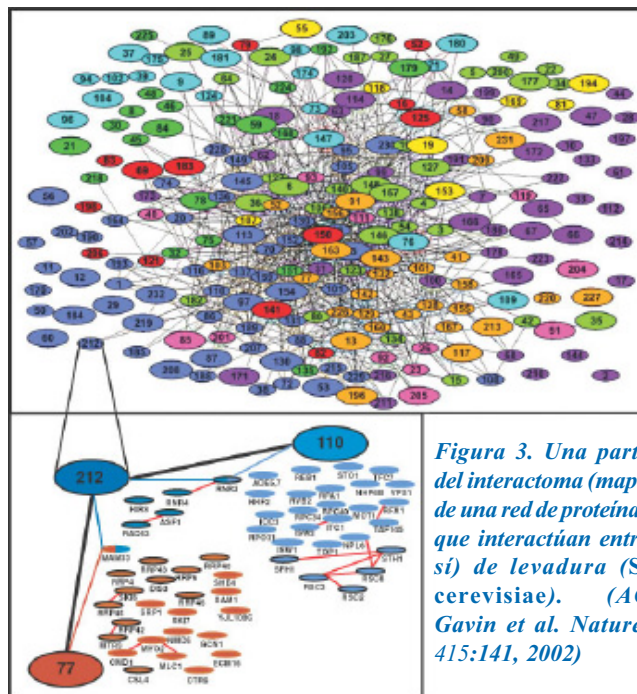


Figura 3. Una parte del interactoma (mapa de una red de proteínas que interactúan entre sí) de levadura (*S. cerevisiae*). (AC Gavin et al. *Nature*, 415:141, 2002)

Es posible usar la transferencia nuclear...

Viene de la página 7

embrionarias humanas responden a las señales inductoras para producir neuronas dopaminérgicas funcionales [3]. Aún no contamos con datos que permitan afirmar que estas células humanas contrarrestan el Parkinson experimental, pero es sólo cuestión de tiempo para que esos datos sean reportados.

Otra gran complicación en todos los trasplantes es la histocompatibilidad entre el receptor y el tejido a injertar, que puede ocasionar un rechazo por parte del receptor o incluso una reacción de las células transplantadas contra el hospedero. Este obstáculo se podría salvar al tener células del propio paciente que se puedan usar para su tratamiento. Como se mencionó, una posibilidad es que células troncales adultas se dirigieran a la producción de neuronas de dopamina. Existe otra posibilidad que es técnica y éticamente más complicada, la clonación, que consiste en realizar la transferencia del núcleo de una célula somática (por ejemplo, una célula de la piel) a un ovocito al que se le ha extraído el núcleo celular. Esta transferencia de información genética a un medio que potencialmente puede realizar los programas de desarrollo que se desencadenan después de la fecundación, seguido de estímulos físicos, da como resultado embriones que instalados en el útero de mamíferos dan lugar a clones de ovejas o vacas [4]. Este procedimiento de transferencia nuclear ha sido difícil de realizar en células humanas. En los últimos 2 años, hubo un par de reportes que resultaron falsos, En ellos, el grupo de investigación de Woo-Suk Hwang en Corea del Sur, describía la metodología para realizar la clonación terapéutica (llamada así porque no pretende

obtener un ser humano, sino embriones que puedan dar lugar a células troncales embrionarias). Regresando a la pregunta inicial, creemos que la transferencia nuclear, seguida de la derivación de células troncales embrionarias, podría constituir una fuente confiable de neuronas dopaminérgicas histocompatibles con los pacientes de Parkinson en el mediano/largo plazo. Estudios realizados con ratones demuestran que esta aproximación es eficaz en el tratamiento de Parkinson experimental [5]. Mucha tecnología debe desarrollarse para poder hacer esto posible con células humanas. Por otro lado, existe un aspecto que no se aborda con frecuencia, pero que puede cobrar gran relevancia. Si la transferencia nuclear se hace con células de un paciente que tiene Parkinson, las células resultantes podrían ser muy útiles para entender los mecanismos de muerte neuronal o probar distintas estrategias de protección. ☞

Referencias:

1. Freed, C.R., et al., Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med.* **344**: 710-9, 2001
2. Thomson, J.A., et al., Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* **282**: 1145-7, 1998.
3. Perrier, A.L., et al., "Derivation of midbrain dopamine neurons from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**:12543-12548, 2004
4. Wilmut, I., et al., Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature.* **385**: 810-3, 1997
5. Barberi, T., et al., Neural subtype specification of fertilization and nuclear transfer embryonic stem cells and application in parkinsonian mice. *Nat Biotechnol.* **21**: 1200-7, 2003

Biobytes

Tres tips que le serán de utilidad

Instale el Internet Explorer 7

Está en beta, lo que significa que no es un producto completamente terminado, pero yo lo siento lo suficientemente estable como para recomendárselo a todos los lectores, que lo pueden bajar de la página de Microsoft. Tiene tabuladores, lo que significa que puede ver varias páginas y pasar de una a otra muy fácilmente. Para que sea más útil puede hacer que se cargen varias páginas al inicio, cada una en su propio tabulador. Para eso, vaya al menú **Herramientas**, **Opciones de Internet** y en **Página de Inicio** escriba en cada renglón el URL de cada página que quiera que se abra al inicio.

Más que un tip, un consejo: contrate Internet de banda ancha en casa

Puede tener Internet por cable o DSL por la línea telefónica (Prodigy Infinitum). Olvídense del acceso a Internet por modem



teléfono, el acceso rápido y siempre disponible de banda ancha pone a su disposición servicios que usted ni se imagina. Por ejemplo, por una renta mínima puede tener otro número telefónico, y además vea el siguiente tip:

Escuche radio por Internet

Le recomiendo Pandora, un servicio del Music Genome Project, que le permite hacer su propia estación de radio por Internet basado en un artista o en una canción. Pandora (<http://www.pandora.com>) tiene una base de datos (el genoma musical) con cientos de atributos musicales o genes, que en su conjunto identifican cada canción, calificando elementos como lo melódico, los ritmos y las armonías. El resultado es sumamente agradable, pues se trata de música sin anuncios y completamente al gusto de uno mismo. ☞

Jorge Limón-Lason. jlimon@biomedicas.unam.mx



Araña violinista: problema médico en México

Hernández Juárez Cristóbal, Estevez-Ramírez Judith y Paniagua-Solís Jorge.

INSTITUTO BIOCLON, S.A C.V

La araña violinista, reclusa o araña café pertenece al género *Loxosceles* su nombre deriva de las raíces griegas loxos: curvas y kelos: patas, “patas curvas“, que tienen una longitud entre 2-4 cm. y se caracteriza por presentar una figura en forma de violín en el cefalotórax.

Su aspecto no es tan impresionante como el de las tarántulas; sin embargo supera a estas últimas por la potencia de su veneno, y su mordedura constituye un problema de importancia médica sobre todo en los niños. Su comportamiento no es agresivo, mordiendo sólo cuando no hay alternativa de huida, lo cual generalmente sucede cuando queda atrapada entre la ropa y el cuerpo.

En nuestro país encontramos 39 especies de este género, cuyo hábitat lo componen barrancos, orificios naturales, corteza de árboles, cavernas, pudiendo encontrarse en interiores o exteriores de vivienda. Su actividad es principalmente nocturna y se alimenta de insectos pequeños. Sus telarañas son de aspecto algodonoso sin un patrón específico y las utiliza más como refugio que para cazar.

Su veneno posee un componente principal que es la esfingomielinasa D, de la cual se han caracterizado 3 isoformas, que van de los 28 a los 32.5 KDa de masa relativa.

La patología principal que ocasiona su mordedura es la dermonecrosis, que se desarrolla rápidamente en forma de “volcán“ o “placa marmórea” y “sensación de quemadura“, pudiendo ocasionar en pocas horas daños sistémicos, como hemólisis e insuficiencia renal, que pueden llevar a la muerte.

El número de casos clínicos reportados en el año 2002 superaron los 3mil, pero debido al poco reconocimiento etiológico de la comunidad médica aunado a la escasa información con que cuenta la población general acerca de la sintomatología, existe un sub-registro de casos reales en México (Boletín epidemiológico del IMSS, 2002 *).

El tratamiento inespecífico consiste principalmente en el uso de:

- Corticoesteroides, que disminuyen la respuesta inflamatoria local y el daño.
- Dapsona, que modula la respuesta inflamatoria, minimizando la lesión local.

- Antihistamínicos, que no resultan eficaces.

- Diálisis, en caso de insuficiencia renal aguda, que no resulta eficaz y,

- Antibióticos, a fin de evitar infecciones.

Frente a cuadros hemolíticos se aplican medidas de control y apoyo para prevenir la insuficiencia renal aguda y, eventualmente, la transfusión para elevar el hematocrito.

El Instituto Bioclon, líder mundial en la producción de antivenenos, desarrolla un faboterápico para tratar de manera específica la mordedura de la araña violinista, que ha demostrado en sus etapas iniciales ser eficaz para la neutralización de este veneno.



www.redtox.com

Araña violinista

Referencias:

Ramos-Cerrillo B.M., Olvera A., Odell G., Zamudio F., Paniagua-Solís J., Alagón A., Stock R., Genetic and Enzymatic characterization of sphingomyelinase D isoforms from the North American fiddleback spiders *Loxosceles boneti* and *Loxosceles reclusa*. *Toxicon* **44**:507-514, 2004.

Olguín-Pérez L.P. *Caracterización de la actividad enzimática de la esfingomielinasa D del veneno de las arañas violinistas Loxosceles boneti, L. reclusa y L. laeta*. Tesis de Maestría, Instituto de Biotecnología, UNAM, 2006.

*Cita en Ramos-Cerrillo B.M. *Producción, evaluación y caracterización de los inmunógenos recombinantes de las esfingomielinasas de L. boneti, L. reclusa y L. laeta*. Tesis de Maestría, Instituto de Biotecnología, UNAM, 2005

Crean Fundación Nacional de Investigación

Las Academias Mexicana de Ciencias (AMC), de Ingeniería (AI) y Nacional de Medicina (ANM), anunciaron la constitución de la Fundación Nacional de Investigación para promover “la incorporación de la comunidad científica como un motor principal para el desarrollo nacional, en beneficio de México y de los mexicanos”.

Al realizar el anuncio, el pasado 17 de mayo, durante una sesión conjunta en la ANM, el presidente de la AMC, Juan Pedro Laclette, precisó que se trata de contribuir, mediante un trabajo prospectivo y de planeación, como organización consultora en el desarrollo de estrategias generales para el desarrollo científico y tecnológico de México y en temas específicos. A diferencia del Foro Consultivo, que mantiene comités disciplinarios, la Fundación tendrá comités por proyectos y generará documentos guías en temas como: cambio climático, agua, energía, sociedad civil, educación, etcétera.

Durante la sesión, en la que hicieron uso de la palabra Gerardo Ferrando Bravo, como vicepresidente electo de la AI, y Misael Uribe, Presidente de la ANM, se recordó que esta iniciativa resurge luego de 11 años, cuando los entonces titulares de estas asociaciones –Mauricio Fortes, Luis Esteva y Hugo Aréchiga– firmaron un convenio con la meta de hacer estudios multidisciplinarios.

Gerardo Ferrando manifestó que la solución para diversos problemas que enfrenta el país demanda la convergencia de visiones, voluntades y esfuerzos entre áreas y disciplinas diversas.

La esclerosis lateral... Viene de la página 5

postranscripcionalmente por arginina en el sitio Q/R de la región transmembranal M2, tienen una baja permeabilidad al Ca^{2+} . En cambio, los receptores AMPA que carecen de la subunidad GluR2 o que tienen una subunidad GluR2 no editada (Q), son altamente permeables a este catión. Se ha demostrado, en cultivos organotípicos y disociados de médula espinal, que las motoneuronas espinales son muy vulnerables a la muerte mediada por sobreactivación de los receptores AMPA. En virtud de que un exceso de Ca^{2+} citoplásmico activa enzimas líticas y produce daño celular, se ha postulado que un incremento en la entrada de Ca^{2+} por los receptores AMPA no editados o sin subunidad GluR2 puede tener un importante papel en esta muerte neuronal. Recientemente, Kawahara et al. (*Nature* 427:801, 2004) observaron una edición anormal de la subunidad GluR2 en la médula espinal de pacientes con SALS, por lo que ésta podría ser una causa de la enfermedad.

Hacia la neurobiología del suicidio... Viene de la página 6

función del sistema serotoninérgico. Y en la parte anatómica destacan alteraciones de la corteza prefrontal, el hipocampo, la amígdala y los núcleos septales. Estructuras que, efectivamente están conectadas anatómicamente y funcionalmente y que participan

En tanto, Misael Uribe, sostuvo que la Fundación debe convertirse en un órgano de consulta del Gobierno Federal del más alto nivel. “A pesar de que el país cuenta con el talento y las instituciones necesarios para el bienestar nacional, poco se aplican a lograr este objetivo, y no se recurre a ellos para validar la toma de decisiones o hacer cualquier otro tipo de consulta, ya que hasta ahora, las academias, realizan principalmente una labor honorífica”, puntualizó.

Por su parte, el director del CONACYT, Gustavo Chapela, subrayó la necesidad de concentrarse en apoyar al posgrado nacional y se refirió a la baja producción de doctorados en los últimos años, ya que si bien actualmente existen 140 mil becas de posgrado, sólo 35 mil corresponden a doctorado.

Aunado a esto, más de la mitad de los doctores, no son egresados del Programa Nacional de Posgrado, por lo que se desconoce la calidad de los programas de los que han surgido.

Dijo también que sólo el 14.2 por ciento de los investigadores del Sistema Nacional de Investigadores participan en programas de doctorado del PNP. El doctor Chapela apuntó que el número de miembros del SNI, actualmente 12 mil 68, creció en 75 por ciento durante este sexenio. Su número en las universidades públicas ya casi iguala al de la UNAM; los contratados por empresas crecieron en 700 por ciento, mientras que el número empleado por universidades privadas se incrementó en 300 por ciento.✂

(Rosalba Namihira)

En este sentido, en nuestro laboratorio hemos desarrollado un modelo experimental de SALS que puede ser útil para estudiar los mecanismos de muerte de las motoneuronas por excitotoxicidad. Encontramos que la perfusión de AMPA por microdiálisis en la médula espinal lumbar de la rata produjo fuertes contracciones de la pata ipsilateral y posteriormente muerte selectiva de las motoneuronas espinales y parálisis irreversible, demostrando así que la sobreactivación de los receptores AMPA en las motoneuronas de la médula espinal es capaz de producir su muerte, *in vivo* (*J. Neurochem.* 89:988-997, 2004).

La ALS es sin duda una de las más devastadoras enfermedades neurodegenerativas, para las que no existe ningún tratamiento efectivo. Sólo el conocimiento sobre los mecanismos de la degeneración selectiva de las motoneuronas permitirá diseñar y probar estrategias que resulten eficaces para prevenir y/o curar este terrible padecimiento.✂

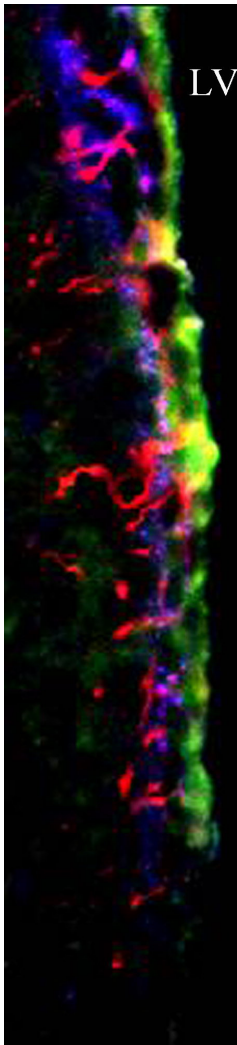
de manera relevante en el control del hedonismo, la agresión, la memoria emocional y la impulsividad, algunos de los factores implicados en el suicidio.✂

Hacia la bioingeniería tisular a través de un modelo multidisciplinario de investigación biomédica

Células troncales adultas, regeneración neuronal y enfermedad de Parkinson

Gabriel Gutiérrez-Ospina, Miguel Tapia-Rodríguez, Julieta Mendoza Torreblanca, Leonora Olivos y Esperanza Meléndez, Depto. de Biología Celular y Fisiología, IIBm.

En los últimos años, la estructura y operación de los grupos de investigación científica han sido sujetas a cambios significativos. Hemos pasado del “caudillismo” tradicional y prevalente por varias décadas, a la formación de grandes consorcios públicos y privados dedicados a realizar labores conjuntas de investigación. De hecho, cada vez son más las agencias de financiamiento que urgen a los científicos a colaborar y someter proyectos que impliquen la interacción de un mayor número de disciplinas y expertos de diversas áreas para abordar problemas científicos y tecnológicos de gran envergadura, y de importancia global y/o regional. Baste mencionar como ejemplo al proyecto GENOMA, auspiciado por los gobiernos de los países del mundo desarrollado bajo la promesa de resolver algunos de los problemas de salud más frecuentes que aquejan a la población mundial, con base en el conocimiento de la secuencia del genoma humano. Al finalizarse en fechas relativamente recientes, este proyecto ilustró que la interacción entre expertos de distintas disciplinas e instituciones favorece, con gran eficiencia, no sólo la generación de conocimiento científico de gran trascendencia social y cultural, sino la creación de modelos integrales sobre la organización de la naturaleza que nos permitirán, en el mediano y/o largo plazos, resolver problemas concretos a través de medidas dirigidas. Así, el proyecto GENOMA sentó las bases de una nueva forma de generar conocimiento científico basado en la inter y transdisciplina a gran escala. Como resultado de esta experiencia, se han creado recientemente en Europa los consorcios sobre investigación en células troncales y, en problemas oftalmológicos, y en Latinoamérica, la Red de Investigación Científica Universitaria. En este mismo contexto, y también en fechas recientes, el Rector Juan Ramón de la Fuente promovió y aprobó la iniciativa de investigación IMPULSA, la cual está destinada a proveer de financiamiento a proyectos ambiciosos, de gran alcance y envergadura, que aborden de manera inter y multidisciplinaria diversos problemas de trascendencia nacional.



Células gliales que presentan inmunorreactividad para efrina-A5 en la Zona Subventricular; lo que indica su posible participación en la migración de neuroblastos generados a partir de células troncales. Corte coronal de cerebro de ratón p45 donde se muestran neuroblastos de reciente formación positivos para PSA-NCAM (verde) en estrecho contacto con células gliales que presentan inmunorreactividad para GFAP (rojo). La señal de la molécula de señalización efrina-A5 (azul) se encuentra colocalizada con algunos procesos gliales proximales al estriado. Ventrículo lateral (LV). Grosor de la rebanada: 20 μm .

Uno de los proyectos que está contemplado en la iniciativa IMPULSA es el de *Células troncales adultas, regeneración neuronal y enfermedad de Parkinson*. En este proyecto, en el que participan grupos de investigación de cinco dependencias

universitarias, se pretende reconstituir *in vivo* la vía nerviosa que conecta a grupos de neuronas localizadas en la sustancia nigra con aquellas ubicadas en el núcleo caudado, utilizando como fuente de regeneración a las células troncales existentes en el cerebro adulto; cabe recordar que las neuronas dopaminérgicas de la vía nigroestriatal degeneran durante la enfermedad de Parkinson. Si bien para muchos la bioingeniería tisular es aún una imagen de ciencia ficción, existen ejemplos como el trasplante de médula ósea, que permiten suponer que con el avance del conocimiento, la posibilidad de restaurar, al menos en parte y de manera útil, los distintos tejidos que constituyen el cuerpo pudiese hacerse una realidad. Así mismo, la adquisición de este conocimiento pudiese acelerarse si la experiencia de diversos grupos de investigación convergen para abordar de manera conjunta el ambicioso objetivo de restaurar al cerebro adulto.

A un año y meses de haber iniciado este proyecto, quienes colaboramos en este grupo hemos obtenido avances en diversas líneas. El grupo de investigadores que laboran en el Instituto de Fisiología Celular, encabezados por José Bargas, René Drucker y Arturo Hernández, han logrado incrementar la disponibilidad de precursores neuronales y diferenciarlos *in situ* hacia células que poseen características dopaminérgicas en cerebros de ratas adultas que sufren de lesiones que semejan, hasta cierto punto, aquellas observadas en los cerebros de pacientes que padecen de enfermedad de Parkinson. Por otro lado, el grupo encabezado por Luis Covarrubias, del Instituto de Biotecnología, ha mostrado que las células troncales adultas son capaces de diferenciarse a neuronas si son colocadas en ambientes propicios, y que su crecimiento *in vitro* pudiese restringir su potencial de diferenciación hacia células gliales. Los grupos encabezados por Herminia Pasantes, del Instituto de Fisiología

Continúa en la página 16

En busca de una hipótesis incluyente...**Viene de la página 1**

hemos demostrado la formación de tau hiperfosforilada en residuos que aparecen en la DA en el hipocampo *in vivo*, después de modificar la dinámica de los microtúbulos con taxol, que se sabe disminuye la cantidad de tau unida a los microtúbulos y aumenta la poza libre de esta proteína³. Por otro lado hemos demostrado que la desconexión de dos áreas sinápticamente relacionadas, la corteza entorrinal y el hipocampo, induce en ambas regiones, la expresión de diferentes proteínas de ciclo celular y de proteínas presentes en la DA. Entre los mecanismos que tienden a controlar la progresión del ciclo celular en neuronas postmitóticas, se incluye la activación de enzimas como la GSK3 β , enzima que integra varias señales relacionadas con el crecimiento, la supervivencia y la diferenciación, como la vía Wnt. La proteína tau también es un sustrato de GSK3 β y hemos demostrado que la inhibición de la vía canónica Wnt, es capaz de inducir la fosforilación de epítomos que aparecen en la DA como el PHF-1. ¿Qué condición ligada con el envejecimiento puede echar a andar alteraciones en los mecanismos de regulación morfológica? Entre los factores de riesgo capaces de alterar la integridad de redes sinápticas se encuentran varios asociados con el envejecimiento como son: deficiencias hormonales, diabetes, deficiencias vitamínicas, enfermedad cardiovascular, estrés oxidante, factores socio-ambientales: depresión y exposición al alcohol y a campos magnéticos, privación de estimulación ambiental y ejercicio físico y factores de riesgo genético. Experimentalmente estamos estudiando condiciones

Participa la reparación por escisión ...**Viene de la página 2**

marcadores de ciclo celular como las ciclinas D y B, el antígeno nuclear en las células en proliferación (PCNA) y la cinasa ciclina-dependiente (cdk4) en células del hipocampo en pacientes con la enfermedad de Alzheimer.

Es por ello que en nuestro laboratorio estamos estudiando el papel de los mecanismos de reparación del DNA en la diferenciación neuronal, con el propósito de comprobar si las neuronas terminalmente diferenciadas que han acumulado daño

de estrés oxidante y de deficiencia energética en la producción de bAP y su mecanismo de toxicidad sináptica⁴. También hemos valorado el impacto positivo de la exposición a ambientes enriquecidos y la estimulación de neurogénesis hipocampal⁵.

La detección del tipo de falla en la regulación en G₁/S, asociada con la plasticidad neuronal que integra funcionalmente circuitos complejos, permitirá elaborar una hipótesis incluyente y elaborar terapias racionales para prevenir, retrasar o curar la DA. ☼

Referencias:

1. Naggy, S. J. *Cell. Mol. Med.* 9: 531-541, 2005.
2. Arendt, T. *Prog Neurobiol* 71: 83-248, 2003.
3. Mercado-Gómez O. et al., *J Neurosci Res*, 78: 553-562, 2004.
4. Arias C. et al., *Exp Neurol*, 176: 163-174, 2002.
5. Leal-Galicia P. et al., *J Neurobiol. (sometido)*, 2006.



oxidante a lo largo de su vida no pueden reparar eficientemente tales lesiones mediante la RCT, debido a que la RGG está inactiva y que este hecho pudiera desencadenar un desequilibrio que lleve a la neurona a un proceso aberrante, conduciéndola a la muerte; es decir, a la pérdida neuronal y, por tanto, a la pérdida de funciones cognitivas, presentes en enfermedades neurodegenerativas, como la demencia tipo Alzheimer, como se esquematiza en nuestra propuesta en la figura 1. ☼

Universidad Nacional Autónoma de México

Dr. Juan Ramón de la Fuente / Rector

Lic. Enrique Del Val / Secretario General

**Mtro. Daniel Barrera / Secretario
Administrativo**

**Dr. René Drucker / Coordinador de la
Investigación Científica**

Dr. Juan Pedro Laclette / Director del IIBM

Gaceta Biomédicas

Rosalba Namihira / Directora

**Rosalba Namihira y Edmundo Lamoyi /
Editores**

Sonia Olguín / Reportera

GACETA BIOMÉDICAS, órgano informativo del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, es una publicación mensual, realizada por el Departamento de Prensa y Difusión del IIBM. Certificado de Licitud de Título No. 10551. Certificado de Licitud de Contenido No. 8551. Oficinas: Planta baja del Edificio B del IIBM, Circuito Escolar Universitario, C.U. Teléfono y fax: 5616- 0524. Impresión: Editoriales de México, S.A. de C.V. (División Comercial) Chimalpopoca 38, Col. Obrera, C.P. 06800, México, D.F. Certificado de Reserva de Derechos al Uso Exclusivo 001911/97 expedido por la Dirección General de Derechos de Autor. ISSN 1607-6788. Editores: Rosalba Namihira y Edmundo Lamoyi. Tiraje de 4 mil 500 ejemplares. Información disponible en: www.biomedicas.unam.mx/noticias_gaceta.htm. Responsable de la edición electrónica: Jorge Limón-Lason.

Cualquier comentario o información, dirigirse a: Rosalba Namihira, jefa del Departamento de Prensa y Difusión, correo electrónico: namihira@biomedicas.unam.mx. Las opiniones expresadas en los artículos son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente el punto de vista de la institución. Prohibida la reproducción total o parcial del contenido por cualquier medio impreso o electrónico, sin previa autorización. □

Los Premios a la Innovación en Salud y Alimentación han sido diseñados para apoyar proyectos de investigación que se encuentren en una etapa temprana de desarrollo comercial, esto es, a las grandes ideas con sólidos antecedentes científicos que tengan necesidad de desarrollar sus derechos de propiedad intelectual, redactar un plan de negocios o recibir asesoría encaminada a garantizar la viabilidad comercial de sus proyectos.



INFORMACIÓN Y
REGISTRO DE PROYECTOS

www.premiosinnovamex.com.mx
Tel: (55) 5481-9609

PREMIOS A LA INNOVACION EN SALUD Y ALIMENTACION

- 1 Asesoría para la redacción, presentación y tramitación de una patente PCT (Tratado de Cooperación en Materia de Patentes), y la cobertura de todos los gastos relacionados a la tramitación de la patente PCT en su fase internacional;
- 2 El desarrollo de un Plan de Negocios que permita al investigador contar con un documento formal y sólido que le brinde la oportunidad de solicitar fondos económicos para financiar su proyecto;
- 3 Entrar a un programa de tutoría con expertos de corte internacional, todos ellos con antecedentes probados de éxito en la capitalización de proyectos de investigación y en la transformación de los mismos en negocios de alto valor agregado.



Enfermedad de Huntington... Viene de la página 3

de las numerosas repeticiones de Gln en la htt impide su degradación por este sistema, y se ha propuesto que la interacción de ésta con proteínas con las que inicialmente no tiene una relación funcional, altera el funcionamiento celular y conduce a la muerte de las NEM.

Por otra parte, evidencia sugiere que la muerte neuronal excitotóxica mediada por la activación de receptores del neurotransmisor glutamato, así como una deficiencia en el metabolismo energético, son dos componentes involucrados en la patogénesis de la EH. Estudios en pacientes sintomáticos han revelado una disminución del metabolismo de la glucosa en las regiones cerebrales más afectadas, y se ha observado una reducción de la actividad de los complejos mitocondriales y de enzimas involucradas en la síntesis de ATP⁶. Las neuronas son altamente dependientes de la síntesis de ATP y una falla energética aún moderada las predispone a los efectos tóxicos del glutamato⁷, el cual induce su muerte por un mecanismo que involucra el aumento en la concentración intracelular de calcio y la producción de radicales libres. Las NEM reciben proyecciones glutamatérgicas de la corteza cerebral, y evidencias señalan que la administración de agonistas de los receptores glutamatérgicos en el estriado promueve alteraciones conductuales, y daño neuronal similar al de la EH⁸. En cerebros *postmortem* y en modelos transgénicos se han identificado alteraciones en la

transmisión glutamatérgica (a nivel de sus receptores y transportadores), las cuales en animales transgénicos preceden la manifestación fenotípica de la enfermedad. Esto sugiere que la expresión de la htt mutada podría alterar la transmisión glutamatérgica, lo cual aunado a una alteración del metabolismo energético, conduciría eventualmente a un proceso excitotóxico. Sin embargo, la relación entre la htt mutada y la excitotoxicidad aún no se ha dilucidado. A pesar de la intensa investigación sobre las consecuencias de la expresión de la htt mutada, hasta la fecha no se ha podido desarrollar un tratamiento eficaz para la EH. Las alternativas terapéuticas con las que se cuenta en la actualidad se enfocan a aminorar la excesiva alteración motora, evitar la pérdida masiva de peso corporal y contrarrestar la producción de radicales libres. ☚

Referencias

1. www.innn.edu.mx
2. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. *Cell*. **72**: 971-983, 1993.
3. Harper SP. The neurobiology of Huntington's disease, en *Huntington's disease*. W.B. Saunders company Ltd; 127-141, 1991.
4. DiFiglia M, Sapp E, Chase KO, et al. *Science* **277**:1990-3, 1997.
5. Jana NR, Zemskov EA, et al. *Hum Mol Genet*. **10**:1049-59, 2001.
6. Browne SE, Beal MF. *Neurochem Res*. **29**:531-46, 2004.
7. Massieu L, Gomez-Roman N, Montiel T. *Exp Neurol*. **165**:257-67, 2000.
8. Schwarcz R, Foster AC, et al., *Life Sci*. **35**:19-32, 1984.

Deterioro en la audición...*Viene de la página 4*

segundo párrafo del presente escrito), estudios en animales y seres humanos demuestran que la vinpocetina mejora la memoria (Subhan y Hindmarch, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **28**:567, 1985; Bhatti y Hindmarch, *Int. Clin. Psychopharmacol.* **2**: 325,1987; DeNoble, *Pharmacol. Biochem. Behav.* **26**: 183,1987). Esto nos llevó a investigar los efectos simples y combinados de la vinpocetina y de la carbamazepina (uno de los fármacos antiepilépticos más comúnmente utilizados en la clínica) sobre los aumentos en la concentración interna del ión sodio y en la liberación de glutamato inducidos por activación de los canales de sodio en terminales nerviosas aisladas de hipocampo^c. Encontramos que aunque ambos fármacos inhiben dependiendo de la dosis, ambas respuestas, la vinpocetina es 100 veces más potente que la carbamazepina. Además, los efectos de ambos fármacos son aditivos. Estos hallazgos resultan muy relevantes si consideramos que la administración de ambos fármacos permitiría reducir la dosis de carbamazepina con sus concomitantes efectos secundarios.

En conclusión, la vinpocetina parece ser una buena alternativa para contrarrestar el deterioro en la memoria y la audición que acompañan a la epilepsia.⌘

^a El GABA es el neurotransmisor inhibitor cerebral por excelencia y el glutamato el neurotransmisor excitador por excelencia.

^b Recordemos que una parte considerable de la demanda de ATP acoplada a la actividad funcional del cerebro se usa para restaurar, mediante la ATPasa Na/K, los gradientes iónicos que han sido degradados por la activación de dichos canales.

^c El hipocampo es una estructura cerebral íntimamente ligada a procesos de memoria y aprendizaje.

**Células troncales adultas...***Viene de la página 13*

Celular, Gabriel Gutiérrez-Ospina, del Instituto de Investigaciones Biomédicas y, Alfredo Varela, del Instituto de Neurobiología, han identificado algunas de las moléculas que podrían regular la diferenciación de la células troncales y la migración de los neuroblastos, tales como la taurina, las semaforinas y las efrinas. La validez y calidad de los datos obtenidos y del trabajo realizado hasta el momento fueron recientemente evaluados y aprobados por lo miembros de un comité externo, constituido por Kjell Fuxe (Instituto Karolinska), David Riddle (Wake Forest University) y Gonzalo Solís (Hospital Los Angeles del Pedregal), quienes convinieron en alentarnos a seguir adelante con nuestros esfuerzos.

Si bien aún nos queda un camino largo por recorrer, y ante las dudas y quizás críticas de muchos colegas, pensamos que la empresa en que nos hemos embarcado nos llevará, al paso del tiempo y con la consolidación del grupo, a mostrarle a la comunidad científica universitaria que la bioingeniería es una "ficción" alcanzable si los miembros de la misma suman sus esfuerzos, conocimiento y experiencia.⌘

Desde la Dirección**Biomédicas y Química: más que vecinos**

Además de la construcción de dos edificios en la nueva sede de Biomédicas, se llevan a cabo los trabajos de remodelación de la sede actual, tanto en la zona que se entregó a la Facultad de Química (AI), como en la fachada sur. Hemos informado con oportunidad y detalle, en reuniones departamentales, acerca del plan maestro de la nueva sede; en el pasado informe de labores también se dio cuenta del avance de obra. Ahora escribo acerca del establecimiento de los grupos de la Facultad de Química y de la remodelación de la fachada sur.

A partir de la terminación de la remodelación, que deberá ocurrir antes del próximo periodo vacacional, se instalarán junto a nosotros alrededor de una decena de grupos de la Facultad de Química. Vale la pena hacer notar que ésta no será la primera vez que Biomédicas acoge grupos de la Facultad de Química. Entre 1967 y 1971, durante una remodelación de sus espacios de investigación, alojamos a varios profesores del departamento de Bioquímica de esa facultad, con sus grupos de trabajo: Estela Sánchez, Ángela Sotelo y Javier Pérez Villaseñor. Al igual que ahora, compartiremos con ellos no sólo escaleras, baños y salidas de emergencia, sino también algunos otros espacios y servicios académicos. Será una grata experiencia tenerlos entre nosotros.

Al respecto de la fachada sur, que ha venido afectando el trabajo de un buen número de grupos, la obra concluirá en los finales de julio, y comprende el cambio de ventanas, el aplanado y la pintura de los muros. La remodelación de la fachada incluye la instalación de un parasol metálico, similar al que muestran algunos otros edificios universitarios, como la Facultad de Medicina. Se estima que este aditamento disminuirá considerablemente la temperatura de los laboratorios en la fachada sur durante el verano. Aprovecho este espacio para agradecer la paciencia y tolerancia de los grupos afectados.

Algunos miembros de la comunidad me han preguntado el por qué realizar la obra si se trata de un edificio, que al igual que el AI, será entregado a la Facultad de Química al concluirse la nueva sede. Desde mi punto de vista, se trata de restaurar un espacio universitario que había sufrido un rezago de varias décadas en su mantenimiento. Pero sobre todo, e independientemente de quién lo utilice, se trata de dignificar el edificio, que ha sido residencia de nuestro Instituto durante más de 50 años. ⌘

Juan Pedro Laclette