

Tres aportaciones a la Neurofisiología de la visión

El Premio Nobel de Medicina 1981, *Torsten Wiesel*, del Laboratorio de Neurobiología de la Universidad Rockefeller; *Jeremy Nathans*, de los Howard Hugues Medical Institute Research Laboratories, de Baltimore; y *Alberto J. Aguayo*, del Montreal General Hospital Research Institute, participaron en el Ciclo sobre «Neurofisiología de la visión», que organizó la Fundación Juan March en su sede del 18 de febrero al 11 de marzo pasados. En esta serie de conferencias públicas estaba programada la intervención del también Premio Nobel de Medicina 1981 *David H. Hubel*, quien no pudo asistir al ciclo por enfermedad.

Como es habitual en estos ciclos, cada conferenciante fue presentado por un científico especialista en el área de trabajo objeto de la sesión. **Carlos Belmonte** (Instituto de Neurociencias de la Universidad de Alicante) presentó a Torsten Wiesel; **Francisco Rubia** (Facultad de Medicina de la Universidad Complutense), a Jeremy Nathans; y **José M. Delgado** (Facultad de Biología de la Universidad de Sevilla), a Alberto J. Aguayo. La presentación del doctor Hubel, prevista por **Carlos Acuña** (Facultad de Medicina de Santiago de Compostela), fue asimismo cancelada.

En páginas siguientes se ofrece un resumen de las seis intervenciones.

Torsten N. Wiesel nació en Uppsala (Suecia) en 1924. De 1955 a 1959 investigó en la John Hopkins University Medical School de Baltimore (Estados Unidos) y de 1960 a 1974 fue profesor en la Harvard Medical School. De 1973 a 1982 ha sido presidente del Departamento de Neurobiología de dicha Escuela y «Robert Winthrop Professor» de esa disciplina científica. Desde 1983 dirige el Laboratorio de Neurobiología de la Rockefeller University de Nueva York. Además de numerosos galardones que le han sido otorgados por prestigiosas academias y sociedades

científicas, en 1981 obtuvo el Premio Nobel de Medicina.

Jeremy Nathans nació en Nueva York en 1958. Tras estudiar en el Massachusetts Institute of Technology, se doctoró en Bioquímica por la Stanford University School of Medicine en 1985. Desde 1987 es profesor ayudante en los Departamentos de Biología y Genética Molecular y de Neurociencia de la John Hopkins University School of Medicine, de Baltimore, e investigador en el Howard Hugues Medical Institute. Entre otros premios ha obtenido la «Initiatives in Research Award» (1987) de la National Academy of Sciences y la Golden Brain Award de la Minerva Foundation (1989).

Alberto J. Aguayo nació en Argentina y se trasladó en 1960 a Canadá, donde se especializó en Neurología y Neurobiología. Es director del Centro de Investigación en Neurociencia de la Mc Gill University y del Montreal General Hospital Research Institute. Es también co-director del Canadian Network of Centers of Excellence from the Study of Neural Regeneration and Functional Recovery. Profesor en la Mc Gill University, es Fellow de la Royal Society de Canadá y miembro electo del Instituto de Medicina de la National Academy of Sciences (Estados Unidos).

Torsten N. Wiesel:

«Mecanismos cerebrales de la vision»



El sentido de la vista permite discriminar, en un ambiente visual extraordinariamente rico, la forma tridimensional y el color de los objetos, logrando distinguir cada uno de ellos por evaluación de sus más finos detalles. El problema fundamental es cómo la información visual se transforma, codifica y descodifica hasta llegar a la región cerebral que constituye la corteza visual. Una primera inspección del proceso plantea otras cuestiones. La retina, que es donde se produce la transformación de la luz en un impulso eléctrico, no es un órgano continuo, sino que está compuesto de células individuales y, por tanto, debe originar una versión discontinua de la imagen. De alguna forma el mecanismo visual ofrecería una imagen similar conceptualmente a las pinturas de los artistas puntillistas e impresionistas, con un campo visual dividido en porciones. La cuestión entonces es cómo se integra y cuál es la mínima información que permite activar o no esas porciones del campo, de forma que se puedan apreciar contornos precisos y distinguibles de lo que se denominaría fondo.

Anatómicamente la corteza visual está conectada con el ojo por diversas estructuras. Del ojo parte el nervio óptico, cuyos axones conectan con neuronas en el cuerpo geniculado lateral. Finalmente, los axones de estas células llegan a la corteza visual estableciendo conexiones con las neuronas de esta parte del cerebro. La estructura de la retina es a su vez otro mundo de interconexiones que ya fueron analizadas por Cajal con la famosa tinción de Golgi. Las células re-

ceptoras de la luz, conos y bastones, a través de las células bipolares engarzan con las células ganglionares, siendo los axones de estas últimas las que conforman el nervio óptico. Además, entre las capas que forman estos tres tipos celulares existen otras células que establecen conexiones horizontales entre la red vertical, muy importantes para originar señales inhibitorias. El resultado de este entramado es que a partir de un gran número de células receptoras se pasa a un número menor de células ganglionares, de tal forma que cada una de éstas abarca un campo receptivo concreto.

La manera en que las células ganglionares integran las señales procedentes del campo receptivo ya fue establecida por S. W. Kuffler en los años cincuenta. Las células ganglionares, y también las del cuerpo geniculado, responden a una zona circular de luz de un tamaño concreto y situada en una zona determinada del campo. Sin embargo, la configuración de este campo, y por tanto, la de cada célula ganglionar, puede ser de dos tipos, unas con una región central estimuladora y una zona circundante inhibitoria, y las otras con la configuración inversa. Este comportamiento está relacionado con la idea de comparar el nivel de luz en un área con la existente en los alrededores, aspectos muy importantes para definir contrastes y contornos. También hay que apuntar aquí que en los cuerpos geniculados los estímulos procedentes de los dos ojos, aunque se refieran al mismo objeto, no se mezclan, sino que se mantienen en capas independientes, algo que explicará en parte el

comportamiento de las células de la corteza.

En las células de la corteza se produce la transformación de las señales emitidas por las células geniculadas. Sin embargo, estas células ya no responden a zonas circulares de luz, sino más bien a segmentos lineales con una orientación definida e incluso algunas prefieren una de las dos direcciones de cada orientación. De nuevo esta propiedad debe ser esencial para la definición de contornos. Otro tipo de transformación es la que se refiere a las señales procedentes de cada uno de los dos ojos. Al igual que en el cuerpo geniculado, donde la señal de cada ojo se mantiene independiente, las células de la corteza presentan un fenómeno de preferencia o dominancia ocular, de tal forma que aproximadamente cada mitad de la corteza responde a un ojo distinto. Estas células no están arbitrariamente mezcladas en

la corteza, sino que se agrupan en columnas alternadas, que a su vez se extienden en una segunda dimensión, de manera que formarían una especie de huella digital: una huella que responde preferencialmente a un ojo y la huella negativo (utilizando un símil fotográfico) respondiendo al otro.

Otro aspecto interesante de la corteza cerebral es su desarrollo en relación con los estímulos externos. Se ha determinado que, aunque las células del neonato responden a la orientación y tienen preferencia «genética» por un ojo, pueden aprender a responder al ojo contrario si hay privación del suyo. Esto quiere decir que la experiencia puede modificar las conexiones cerebrales, de suerte que, aunque los primeros meses del nacido son extremadamente sensibles a la privación de un ojo, también lo son para modificar determinados defectos preexistentes.

Carlos Belmonte:

«Contribución esencial para el estudio del cerebro»



El trabajo del doctor Wiesel, realizado en colaboración con David H. Hubel, se ha dirigido a establecer los principios de operación de las redes neuronales que permiten el análisis por el cerebro del mundo visual. Su principal descubrimiento fue que en las sucesivas estaciones de relevo de las vías visuales hasta la corteza cerebral se trasmuta la información visual en abstracciones del mundo real. Los principios de funcionamiento celular, de conectividad y de interacción entre las distintas áreas corticales observados en el sistema visual por Wiesel y Hubel son extrapolables a otras funciones de la corteza cerebral.

La segunda contribución importante de ambos científicos ha sido el estudio de los efectos de la privación visual sobre el desarrollo de la corteza. Sus trabajos han permitido la prevención de problemas clínicos tales como la ambliopía (visión doble), así como establecer en qué período crítico del desarrollo postnatal es todavía posible modificar las conexiones entre áreas de la corteza. En definitiva, el doctor Wiesel ha contribuido decisivamente a establecer que el funcionamiento del cerebro no es sino un problema científico más, sometido a leyes biológicas y, como tal, susceptible de comprensión racional.

Jeremy Nathans:

«Genética molecular de la visión en color»



En la retina, que es la región del ojo donde se capta la luz y se transforma en impulsos nerviosos, existen dos tipos de células receptoras, bastones y conos, perfectamente distinguibles tanto en su morfología como en su función. Las estructuras intracelulares donde se produce el fenómeno de captura de luz son, sin embargo, muy similares: formas membranosas y apiladas en las que se embeben los pigmentos sensibles. Aquí se encuentra otra diferencia entre los tipos celulares. Los bastones contienen un pigmento denominado rodopsina, que es el que interviene en la visión nocturna o visión en blanco y negro, mientras que existen tres tipos de conos, cada uno con un pigmento distinto y sensible a cada uno de los tres colores fundamentales, rojo, verde y azul. Existen, pues, cuatro pigmentos, que se pueden distinguir biofísicamente por sus propiedades de absorción a una determinada longitud de onda y en conjunto cubren todo el espectro. Por otro lado, la composición de los pigmentos es la misma en todos los casos: una proteína que se asocia covalentemente a un compuesto lipídico denominado retinal. Esta molécula es la encargada de absorber la energía luminosa, y el proceso es tan asombrosamente sencillo que resultaría hasta desesperante: en los cuatro pigmentos la absorción de luz conduce a la transformación de un único enlace en la molécula de retinal, y esta transformación no es más que un cambio en la distribución espacial de la molécula. Este cambio tan sutil desencadena una cascada de transformaciones, empezando por una alteración de la proteína del pigmento

que la dota de actividad enzimática. Obviamente, dado que el agente captor de la luz es el mismo, el componente proteico debe ser el responsable de que aquél tenga preferencia por una u otra longitud de onda del espectro visible, es decir, por uno de los colores en los que se descompone la luz blanca. Y efectivamente, cuando se compara la secuencia de aminoácidos de las cuatro proteínas, se observan sustanciales diferencias entre ellas, excepto en el caso de las que determinan la visión del verde y del rojo, que únicamente se diferencian en 15 aminoácidos de un total de unos 300.

Para analizar bioquímicamente los diferentes pigmentos se echa mano de la gran capacidad de manipulación que ofrece la tecnología del DNA recombinante. Con estas técnicas es posible producir las proteínas en sistemas definidos como los cultivos de células *in vitro* y además cambiar cada uno de sus aminoácidos por el que se desee para evaluar su importancia en la función de la proteína.

Otro aspecto por analizar es cómo se controla el que las células de la retina expresen únicamente un tipo de pigmento y no los demás. Un paso para desentrañar este enigma es el estudio de individuos con monocromía azul. Estos pacientes, aparte de una progresiva degeneración de la retina, se caracterizan porque en ellos están ausentes los pigmentos para el verde y para el rojo, ausencias que no serían explicables según los mecanismos de recombinación genética que operan en las dicromías y tricromías. El análisis molecular de los genes verde y rojo de estos individuos muestra una am-

plia gama de variantes que en su mayoría son mutaciones de delección en la región que presumiblemente controla la expresión de estos genes, una deficiencia similar a la existente en los genes de globina de los afectados por β -talasemia. Estas regiones de control se han introducido con genes marcadores adecuados en el genoma de ratones (lo que se denomina ratones transgénicos), y así se ha observado que las que controlan la expresión de la rodopsina sólo inducen el gen marcador en los bastones y las que controlan el pigmento rojo sólo en un cierto número de conos.

Otra vía para estudiar el funcionamiento de los pigmentos visuales consiste en determinar si ciertas enfermedades congénitas de la retina, con una sintomatología perfectamente definida, están asociadas o son debidas a alguna modificación en los genes de los pigmentos. Lo importante

de este estudio, aparte de su posible valor clínico, es que se pueden analizar los efectos de pigmentos mutantes en los individuos y no en sistemas *in vitro*. Una de estas enfermedades es la retinitis pigmentosa, en la que se observa una progresiva degeneración de la retina que conduce finalmente a la ceguera. Utilizando recientes técnicas de análisis genético, se han descubierto diversas mutaciones en el gen de la rodopsina asociadas a esta enfermedad. Al menos el efecto de una de ellas, que constituye el 15% de las analizadas, es explicable en términos bioquímicos: la proteína mutante es incapaz de llegar a la membrana celular, acumulándose anormalmente en el interior de la célula, lo que llevaría a su degeneración. Otra de las mutaciones, menos caracterizada, provocaría una constante excitación en la célula al ser estimulada por la luz que conduciría a la muerte celular.

Francisco Rubia:

«Nathans, pionero en el estudio de pigmentos visuales del hombre»



Jeremy Nathans es actualmente profesor en los Departamentos de Biología Molecular y Genética y de Neurociencias de la Universidad John Hopkins. Ya con veinte años recibió su primer premio, John Asinari, a la investigación de pregraduados en ciencias de la salud por el Instituto de Tecnología de Massachusetts (MIT), al que le han seguido otros premios de investigación, entre ellos el de la Academia Nacional de Ciencias. Ha publicado sus trabajos en las más importantes revistas del mundo.

El doctor Nathans, a la edad de 32 años, está considerado como uno de los científicos más relevantes en la

bioquímica y genética de la visión de los colores en el ser humano. Sus trabajos sobre estructura, función y regulación del desarrollo de los pigmentos visuales en el ojo humano son pioneros en el mundo. El doctor Nathans pudo aislar los genes responsables de la síntesis de los pigmentos visuales y comparar su estructura con la de los genes de las personas afectadas en la visión de los colores. Ha descubierto, además, mutaciones genéticas en pacientes con retinitis pigmentosa, una enfermedad congénita en la que se produce una degeneración progresiva de la retina que lleva a la ceguera.

Alberto J. Aguayo:

«Regeneración y sinaptogénesis en el mamífero adulto»



Las conexiones que constituyen el entramado del sistema nervioso pueden considerarse como la repetición de una unidad constituida por dos neuronas, una que es la emisora de la señal y otra que actúa como receptora. En este modelo simplificado, la célula emisora proyecta una prolongación principal, denominada axón, que conecta con la célula receptora. Los fenómenos que suceden cuando el axón es dañado experimentalmente ya fueron estudiados por Cajal en el primer tercio de este siglo: se produce la desconexión entre las dos células y aparece un proceso degenerativo que progresa en los dos sentidos del axón, llegando incluso a producir la muerte de la célula emisora. Este suceso, característico de las células del sistema nervioso central (SNC), no se repite de igual manera en el sistema nervioso periférico (SNP), donde se observa que los axones son capaces de crecer y restablecer la conexión a través del cono de crecimiento axonal, donde se producen interacciones entre la parte neuronal y las células mielinizantes típicas del SNP, las células de Schwann. Estas producen factores proteicos que inducen y dirigen el crecimiento del axón hacia la célula blanco. Una inspección más detallada de lo que sucede en el SNC demuestra que el axón dañado sí origina primordios o retoños de crecimiento, pero son incapaces de progresar y de reinervar la célula receptora, dando lugar a la pérdida de función. Este bloqueo axonal podría estar relacionado con el tipo de células gliales presentes en el SNC, los oligodendrocitos, distintas de las células de Schwann del SNP, y no ser

una propiedad de las neuronas del SNC. Es decir, se plantea la hipótesis de que el ambiente celular donde la neurona esté inmersa sería el determinante de que fuese capaz de regenerar y crecer.

Los experimentos tendentes a verificar tal suposición consisten en injertar nervios del SNP en los daños producidos dentro del SNC. El modelo elegido es el sistema visual de la rata. Como ya se ha sugerido anteriormente, al producir cortes en el nervio óptico (constituido por los axones de las células ganglionares de la retina), hay una degeneración en dirección hacia la retina que conduce a la muerte de la mayor parte de las células neuronales y a la pérdida de la función visual. Experimentalmente, el nervio periférico se injerta en el punto donde se produce la lesión del nervio óptico, y por debajo del cuero cabelludo se extiende hasta la región cerebral del córtex visual en el colículo superior. Hay que tener en cuenta que los axones del nervio injertado degeneran muy rápidamente y en la práctica sólo queda la envuelta mielínica constituida por las células de Schwann, con lo que si se produce regeneración axonal debe proceder de las células ganglionares de la retina. En este experimento se plantean dos cuestiones: una, ¿existirá elongación axonal? Dos: si se produce, ¿se reconocerán adecuadamente las células blanco? La técnica fundamental para responder a estas preguntas consiste en el uso de marcadores o trazadores de tipo químico (rodamina y metabolitos marcados radiactivamente) y enzimático (peroxidasa) que se inyectan en distintos puntos del in-

jerto, analizándose si son transportados intracelularmente y dónde se localizan después del transporte. Así se ha visto que las células de la retina se marcan cuando se inyecta en el nervio injertado, indicando que los axones que han regenerado provienen de la retina, y también que al inyectar el agente en la retina, se observa mareaje de axones ramificados en el SNC. Por tanto, se demuestra que las células del SNC pueden regenerar y que la regeneración depende del ambiente que envuelve los axones. La pregunta inmediata es cuáles son los eventos moleculares que conducen a esta situación y qué moléculas intervienen en el proceso. En batracios se ha caracterizado una proteína, denominada GAP-43, que aumenta en su expresión cuando hay crecimiento axonal. En el SNC de mamíferos esto no sucede de forma natural, pero sí en los injertos procedentes del SNP, suponiéndose que actúa en el cono de crecimiento si existe el ambiente adecuado.

Otra cuestión es el estudio de la conexión sináptica de los axones regenerados con las células del córtex. También

empleando marcadores radiactivos y micrografías electrónicas, se han detectado conexiones sinápticas similares a las que aparecen en situaciones normales, esto es, conexiones con las dendritas de las células del córtex visual y no con células que están relacionadas con el procesamiento de estímulos procedentes de otros órganos sensoriales. Y no sólo anatómicamente se recupera la situación normal, sino que los estudios electrofisiológicos demuestran que la funcionalidad también se recupera. Así, al iluminar la retina se detectan respuestas en los axones injertados y en las células postsinápticas del córtex, equivalentes a las de una situación normal.

Así pues, las células del SNC tienen la capacidad para la extensión neuronal, pero está limitada por las células del ambiente, y, por tanto, permanece el problema del crecimiento dentro del SNC donde se supone deben existir elementos que lo bloquean. Identificar estas sustancias y caracterizar posibles antibloqueantes del crecimiento constituiría un gran paso para la regeneración neuronal dentro del SNC.

José M. Delgado:

«Esperanza en la regeneración del sistema nervioso»



La principal área de investigación del doctor Aguayo versa sobre el estudio de los efectos producidos en el sistema nervioso central (SNC) por diversos daños, y la capacidad de la retina, el cerebro y la médula espinal para recuperarse de ellos. Hasta hace muy poco un axioma de las enseñanzas neurofisiológicas era que el SNC de los adultos es incapaz de regenerar y recuperar las conexiones perdidas. Por esto se pensaba que cualquier investigación encaminada a la regeneración estaba

abocada al fracaso. Esta atmósfera de pesimismo se ha diluido en gran medida a causa de las investigaciones de Aguayo y sus colaboradores, que han demostrado que la regeneración del SNC también es posible.

Además, merece destacarse su aproximación multidisciplinar a la ciencia, que podría calificarse de «actuación al por mayor», ya que cubre aspectos que van desde la Biología Molecular hasta la Electrofisiología. •