

# Células madre del sistema nervioso central

## Central nervous system stem cells

Martha Lilia Tena-Suck,<sup>1</sup> María del Carmen Rubio-Osornio<sup>2</sup>

### Resumen

Durante la neurogénesis embrionaria las células madre neurales se diferencian para formar las células que componen al sistema nervioso: neuronas y glía. Embebidas en un ambiente propicio para su supervivencia, algunas de estas células madre son capaces, aún en la vida adulta, de diferenciarse y autorrenovarse. Incluso pueden ser blanco de agresiones endógenas o exógenas con sus posibles repercusiones en el sistema nervioso, y son también objeto de numerosas líneas de investigación, debido a sus múltiples y potenciales utilidades. Cinco etapas comprenden el desarrollo de la neurogénesis adulta: la primera es la activación de las células de la glía radial quiescentes en las zonas subventricular y subgranular del cerebro; la segunda la proliferación de precursores y progenitores intermedios; la generación de neuroblastos; la integración de las neuronas inmaduras; y finalmente, la maduración de las nuevas neuronas formadas. A lo largo de estas etapas las células ganan y pierden marcadores celulares en el proceso de maduración, que pueden identificarse por técnicas de inmunohistoquímica.

**PALABRAS CLAVE:** células madre neurales, nicho neurogénico, maduración, neuronas, oligodendrocitos, astrocitos, microglía.

### Abstract

During embryonic neurogenesis, neural stem cells differentiate to form the cells that make up the nervous system: neurons and glia. Embedded in an environment conducive to their survival, some of these stem cells are capable, even in adult life, of differentiating and self-renewing. They can even be the target of endogenous or exogenous attacks with their possible repercussions on the nervous system, and they are also the subject of numerous lines of research, due to their multiple and potential uses. Five stages comprise the development of adult neurogenesis: the first is the activation of quiescent radial glia cells in the sub-ventricular and sub-granular areas of the brain; the second the proliferation of precursors and intermediate parents; the generation of neuroblasts; the integration of immature neurons; and finally, the maturation of the new neurons formed. Throughout these stages, cells gain and lose cellular markers in the maturation process, which can be identified by immunohistochemical techniques.

**KEYWORDS:** neural stem cells, neurogenic niche, maturation, neurons, oligodendrocytes, astrocytes, microglia.

<sup>1</sup> Departamento de Neuropatología.

<sup>2</sup> Laboratorio de neurofisiología.

Instituto Nacional de Neuroglía y Neurocirugía, Ciudad de México.

**Recibido:** marzo 2021

**Aceptado:** septiembre 2021

### Correspondencia

Martha Lilia Tena Suck  
mltenasuck@gmail.com

**Este artículo debe citarse como:** Tena-Suck ML, Rubio-Osornio MC. Células madre del sistema nervioso central. Patología Rev Latinoam 2021; 59: 1-13. <https://doi.org/10.24245/patrl.v59id.5500>

## ANTECEDENTES

El término "célula madre" apareció por primera vez en la bibliografía científica en 1868, gracias al biólogo alemán Ernst Haeckel. En sus escritos, las células madre tenían dos significados distintos: uno versaba en el origen evolutivo unicelular de todos los organismos multicelulares, y el otro, que a partir del ovocito fertilizado, éste daba lugar a los diversos tipos de células en el cuerpo.<sup>1</sup> Esta última definición ha evolucionado hasta convertirse en el concepto moderno y más conocido de células madre: células que pueden dividirse para autorrenovarse y diferenciarse en otros tipos celulares de cualquier tejido y órgano.<sup>2</sup>

Una clase importante de células madre son las células madre neurales. Durante el desarrollo embrionario forman todo el sistema nervioso, actuando como fuente de múltiples linajes celulares (neuronas, astrocitos, oligodendrocitos, microglía, ependimocitos y células endoteliales;<sup>3</sup> **Figura 1**), y posteriormente se "inactivan" al terminar este proceso. En su progreso de maduración cada una de estas células expresa secuencialmente distintos marcadores que permiten identificar en qué período formativo se encuentran. En la vida adulta, estas células subsisten pero en su mayoría están inactivas. Sin embargo, hay evidencia que respalda su participación en diferentes procesos o padecimientos, por ejemplo: plasticidad cerebral, envejecimiento celular y las enfermedades neurodegenerativas.<sup>1</sup>

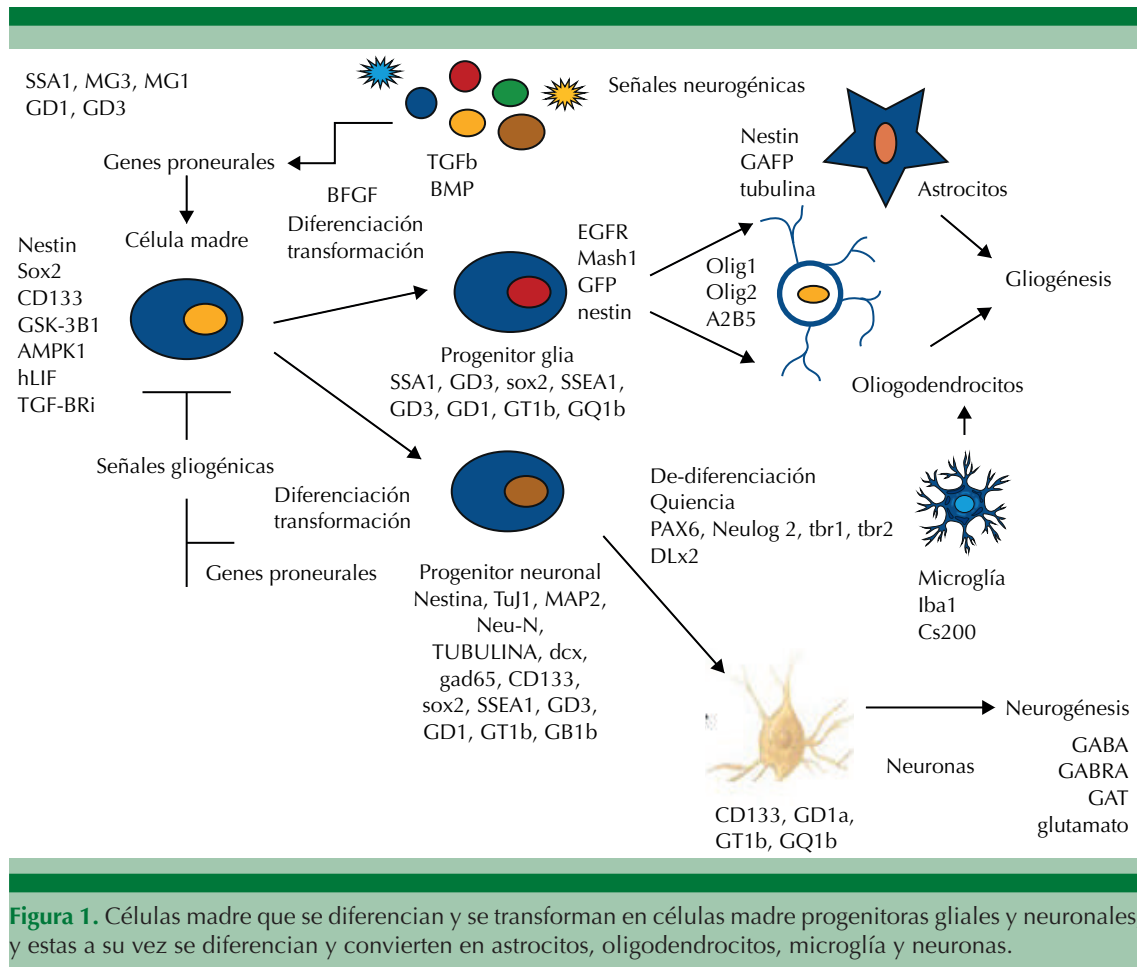
En las últimas décadas, la investigación ha progresado en la comprensión de cómo actúan las células madre neurales. Puesto que están reguladas por mecanismos genéticos y epigenéticos precisos, su alteración puede conducir, en mayor o menor medida, a diversas enfermedades.<sup>1</sup> Pero también, gracias a su capacidad de desarrollarse en diferentes fenotipos dentro y fuera del sistema nervioso y con una capacidad de autorrenova-

ción casi ilimitada, se han propuesto distintas líneas de investigación: pruebas de neurotoxicidad, terapias celulares para tratar enfermedades del sistema nervioso central, bioingeniería y reparación de tejidos neurales, validación y análisis de objetivos de fármacos y medicina personalizada. Es así que desde su descubrimiento, las células madre neurales han sido un punto focal para nuevas estrategias terapéuticas que actúen en el cerebro y la médula espinal.<sup>2</sup>

## Células madre

Hasta la fecha se han propuesto varias categorías básicas de células madre: 1) células madre de tipo embrionario; 2) células madre de transferencia nuclear (derivadas de blastocistos); 3) células madre reprogramadas (obtenidas a partir de la formación de híbridos de células *in vivo*) y; 4) células madre adultas, que se caracterizan por su inmunofenotipo de superficie y capacidad de diferenciación (basado principalmente en estudios de células madre hematopoyéticas). Se incluyen en esta última categoría las células progenitoras adultas multipotenciales de la médula ósea, células madre dérmicas, células madre del oído, células madre hepáticas y pancreáticas, células madre del músculo esquelético y células madre neurales.<sup>2,3</sup> La diferencia elemental entre las células madre neurales embrionarias y adultas es que el proceso de neurogénesis adulta no está orquestado ni progresa masivamente en paralelo como en las etapas de desarrollo embrionario, pero tales etapas pueden ocurrir en cualquier momento.<sup>4</sup>

Debido al creciente interés en el progreso de terapias basadas en células para atacar enfermedades neurodegenerativas, el desarrollo de células madre neurales a partir de células progenitoras adultas multipotenciales parece factible.<sup>5</sup> El objetivo es producir células que puedan clonarse y, desde ahí, renovarse y ser capaces de producir múltiples tipos de células, que expresen marcadores proteicos asociados con la "célula



**Figura 1.** Células madre que se diferencian y se transforman en células madre progenitoras gliales y neuronales, y estas a su vez se diferencian y convierten en astrocitos, oligodendrocitos, microglía y neuronas.

madre<sup>11</sup> y respondan al medio tisular de las señales que reciben.<sup>2-4, 6-10</sup> Por tanto, es importante conocer todos los períodos del desarrollo por los que atraviesan estas células y tener potenciales blancos moleculares de tipificación. Algunos de los marcadores utilizados en la identificación de las células madre neurales, y que pueden estudiarse mediante técnicas de inmunofluorescencia, son: ABCG2; NeuroD1; ASCL1/Mash1; Noggin; Beta-catenin; Notch-1; Notch-2; Brg1; Nrf2; N-Caderina; Nucleostemina; Calcitonina R; Numb; CD15/Lewis X; Otx2; CDCP1; Pax3; COUP-TF I/NR2F1; Pax6; CXCR4; PDGF R alpha; FABP7/B-FABP; PKC zeta; FABP 8/M-FABP; Prominina-2; FGFR2; ROR2; FGFR4; RUNX1/

CBFA2; FoxD3; RXR alpha/NR2B1; Frizzled-9; sFRP-2; GATA-2; SLAIN 1; GCNF/NR6A1; SOX1; GFAP; SOX2; Glut1; SOX9; HOXB1; SOX11; ID2; SOX21; Meteorina; SSEA-1; MSX1; TRAF-4; Musashi-1; Vimentina; Musashi-2; ZIC1; Nestina. De igual manera, para cada tipo celular se hará la descripción de sus potenciales marcadores más adelante.

### Embriogénesis y neurogénesis

Durante la tercera semana de gestación en humanos ocurre un evento importante denominado gastrulación.<sup>7</sup> En este proceso el embrión pasa de ser una estructura organizada en dos capas

(epiblasto e hipoblasto) a una formada por tres (ectodermo, mesodermo y endodermo).<sup>7</sup> Es aquí cuando se presenta el primer indicio de formación del sistema nervioso: el establecimiento de la placa y el tubo neural. El sistema nervioso central se forma a partir de una pequeña cantidad de células madre neurales que recubren el tubo neural.<sup>6</sup> Las células madre neurales tienen la capacidad de generar neuronas y glía, es decir, los componentes fundamentales del sistema nervioso.<sup>8</sup>

Durante la embriogénesis existen dos zonas proliferativas cruciales: la zona ventricular y subventricular, que son las fuentes de las neuronas y glía.<sup>11-14</sup> Después de la formación del tubo neural, las células madre neurales se convierten en células gliales radiales, que se localizan en la zona ventricular y subventricular.<sup>12,14</sup> Por un lado, las células gliales radiales funcionan como un andamio para guiar la migración de las neuronas, y por otro muestran las propiedades de las células madre embrionarias. Durante esta etapa, las células gliales radiales realizan un proceso de autorrenovación (una célula glial radial recién nacida) y generación de neuronas (o un progenitor neuronal) con cada división. Posteriormente se diferencian en células ependimarias, que forman el revestimiento interno del tubo neural, mientras las neuronas migran a lo largo de los filamentos radiales.<sup>13</sup>

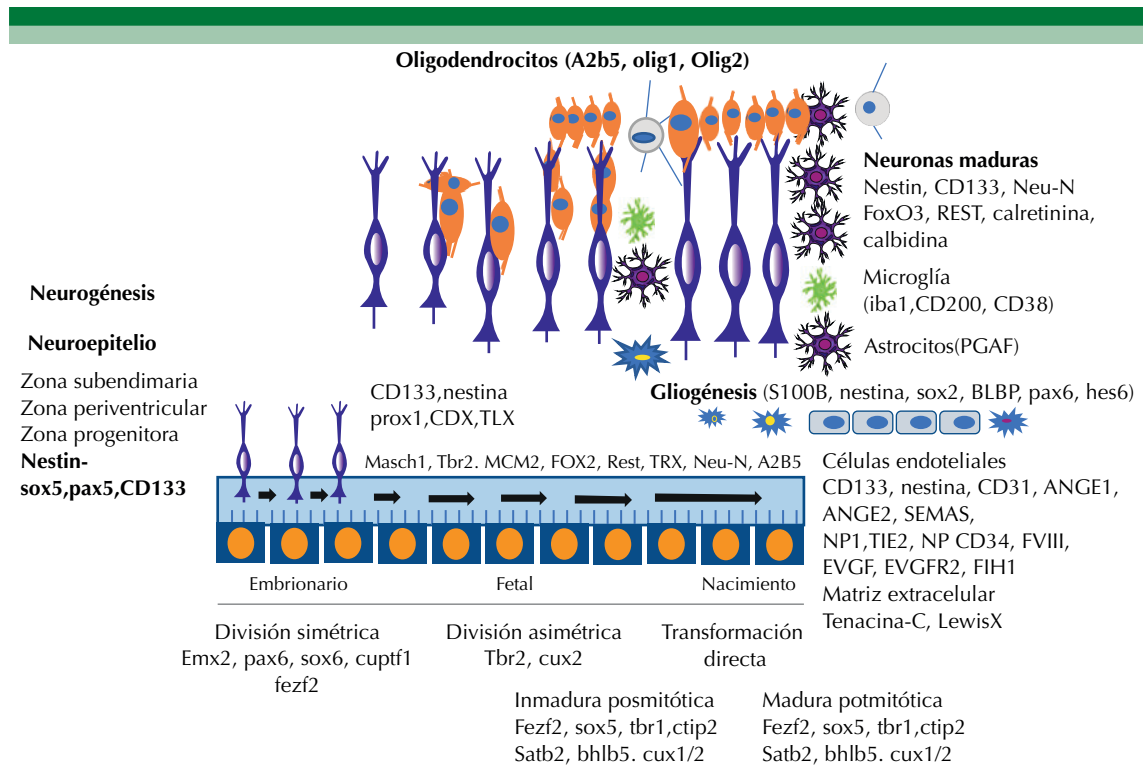
En la etapa tardía de la embriogénesis, las células gliales radiales proliferan para producir oligodendrocitos y, eventualmente, astrocitos. Cerca de la fecha de nacimiento, las células gliales radiales cambian sus características para generar células madre neurales, que sirven como fuentes de nuevas células a lo largo de la vida y cuyos biomarcadores pueden encontrarse durante la neurogénesis adulta.<sup>10</sup>

A lo largo del desarrollo, las zonas ventricular y subventricular del telencéfalo dorsal son tejidos

transitorios que no existen en el adulto. En cambio, la zona subventricular del telencéfalo ventral persiste a lo largo de toda la vida. En el proceso de neurogénesis adulta, las células madre neurales de esta región se someten a numerosas etapas de nuevo crecimiento, que incluyen la autorrenovación de las células madre neurales *per se*, y la renovación de los progenitores intermedios, los neuroblastos, neuronas, astrocitos y oligodendrocitos terminales maduros.<sup>15</sup> **Figura 2**

El factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor beta de crecimiento de fibroblastos (bFGF) promueven la proliferación y determinación del destino de los progenitores neurales a través de interacciones con receptores de tirosina cinasa que activan moléculas de señalización intracelular, incluyendo la familia de la proteína cinasa C. Existen 10 distintas cinasas serina-treonina que constituyen la familia de la proteína cinasa y estas, a su vez, se divide en 3 subfamilias: clásicas ( $\alpha$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  y  $\gamma$ ), noveles ( $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$  y  $\eta$ ) y atípicas ( $\zeta$  y  $\lambda$ ). Las proteínas cinasa C- $\zeta$  y  $\lambda$  atípicas están implicadas en la transición de células madre neurales a neuronas. Varias otras isoformas de proteína cinasa C se expresan en células madre neurales aisladas de la zona subventricular de ratas recién nacidas, entre las que la proteína cinasa C- $\epsilon$  parece ser relevante para la diferenciación astrocítica. Es posible que determinadas isoformas de proteína cinasa C puedan estar implicadas en otros aspectos específicos de la neurogénesis adulta, como autorregeneración de las células neurales, proliferación, supervivencia o diferenciación neuronal.<sup>16</sup>

A través del proceso de diferenciación se exponen cuatro capas o tipos de células que se desarrollan en la zona subventricular. La capa interior contiene una monocapa de células ependimarias (tipo E1 y tipo E2) que revisten la cavidad ventricular; estas células tienen un solo cilio apical y muchas expansiones basales que pueden estar paralelas o perpendiculares



**Figura 2.** Proceso de diferenciación desde células neuroepiteliales, maduración y migración.

a la superficie ventricular. Se ha demostrado que las células endimarias contribuyen al mantenimiento de las condiciones óptimas de la zona subventricular, porque con el movimiento de sus cilios desplazan el líquido cefalorraquídeo, haciendo que los factores tróficos y otras señales moleculares permanezcan en contacto con las células neurogénicas para modular su proliferación y diferenciación.<sup>17</sup> La segunda capa o la capa de astrocitos tipo B2 está formada por astrocitos protoplasmáticos. Estas células suelen ser más pequeñas que los astrocitos del tipo B1. No suelen proliferar. Los astrocitos B1 y B2 son proveedores del bFGF y rodean a los neuroblastos, conformando unas estructuras tubulares a través de las que migran estas neuronas inmaduras. Las conexiones entre astrocitos y las células endimarias pueden regular funciones

neuronales como: homeostasis, metabolismo y proliferación de las células madre, así como su diferenciación.<sup>18</sup> La tercera capa es de neuroblastos. Tienen morfología bipolar, con un núcleo frecuentemente alargado. La forman una cinta de cuerpos celulares de astrocitos que quizá mantienen a una subpoblación de astrocitos capaces de proliferar *in vivo* y formar agregados multipotentes con capacidad de autorrenovarse *in vitro*. Suelen mantener su capacidad de proliferación durante la migración en etapa embrionaria (**Figura 2**).<sup>18</sup> La cuarta y última capa sirve como zona de transición entre la tercera capa y el parénquima cerebral. Se identifica por una alta cantidad de mielina en la región. Contiene precursores de los astrocitos B1 con gran actividad mitótica. Su contorno celular es liso y el núcleo presenta invaginaciones. Suelen

tener contacto con neuroblastos en migración a través de uniones intercelulares. La tasa de proliferación es diez veces mayor a las demás células, así que se les ha dado el nombre de precursores altamente proliferativos.<sup>18</sup> Estas células, en condiciones *in vitro*, pueden reprogramarse y hacerse multipotentes, siempre que se las mantenga en contacto con los factores de crecimiento apropiados. Muestran receptores para EGF y FGF (**Figura 2**).<sup>19</sup>

### Nicho neurogénico

El comportamiento y el destino de las células madre están fuertemente influenciado por su ubicación anatómica específica y los tipos de células circundantes, conjunto llamado "nicho de células madre". El nicho proporciona soporte físico para albergar a las células madre, además de factores para mantenerlas y regularlas mediante cascadas de señalización intrínsecas y mecanismos de transcripción precisos, algunos muy comunes entre todas las células madre y otros exclusivos solo para ciertos tipos de células.<sup>2</sup>

El concepto de "nicho de células madre" fue utilizado por primera vez por Schofield en 1978 para definir entornos locales con características moleculares y celulares específicas que se requieren para el mantenimiento de las células madre hematopoyéticas.<sup>6</sup> Se ha observado que el tejido cerebral, que se pensaba era capaz de autorrenovarse, muestra dos regiones con capacidad proliferativa: una en la zona subventricular de los ventrículos laterales y otra en la zona subgranular del giro dentado del hipocampo. De manera similar al nicho hematopoyético, estas zonas se encontraron estrictamente reguladas por interacciones complejas entre señales intrínsecas y extrínsecas proporcionadas por las células circundantes y algunas otras por fuentes distantes (**Figura 1**).<sup>7</sup> El microambiente del "nicho neurogénico" incluye múltiples poblaciones de células, cuya interacción (incluida la que existe

entre las propias células madre) se desconoce en gran medida, pero se encuentra en exploración activa. Además, los estímulos externos (actividad física, estrés, aspecto ambiental, envejecimiento y factores intrínsecos: citocinas, factores de crecimiento, hormonas o neurotrofinas) influyen en las células madre neurales. Estas características se comparten con todos los demás nichos, incluido el hematopoyético identificado originalmente.<sup>8</sup> **Figura 2**

El nicho neurogénico se refiere, entonces, a la capacidad neurogénica de la zona subventricular y subganglionar durante la etapa adulta. Esta cualidad puede deberse a que las células madre neurales encuentren en ambas zonas el microambiente adecuado para dividirse y generar nuevas neuronas. Por lo tanto, para llevar a cabo el proceso de neurogénesis es necesario que existan células madre capaces de originar neuroblastos y se encuentren inmersas en un nicho neurogénico adecuado, es decir, un microambiente especializado, compuesto por una compleja estructura formada por células ancladas a la membrana basal, factores solubles, vasos sanguíneos que faciliten la exposición de los precursores neurales a factores sistémicos, moléculas unidas a membranas y una matriz extracelular propicia que rodee a las células.<sup>19,20</sup> Para la generación y activación del nicho neurogénico se requiere la participación de diversas moléculas, por ejemplo: factor de crecimiento transformante alfa (TGF $\alpha$ ), proteínas Notch, proteínas morfogenéticas de hueso, Noggin, Sonic Hedgehog, óxido nítrico, entre otras.<sup>20</sup>

### Células madre mesenquimales

Las células madre mesenquimales, también denominadas células estromales mesenquimales multipotentes, han sido un foco de investigación reciente, en parte porque representan un modelo extraordinario para investigar los mecanismos biológicos, que por un lado permiten que una población celular genere diversos tipos de cé-



lulas, y por otra porque son una herramienta potencial en terapias celulares para aplicaciones clínicas. Las células madre mesenquimales son células madre adultas que se aislaron inicialmente en la médula ósea y pueden generar componentes de ésta como: adipocitos, células reticulares y osteoblastos, mientras que en conjunto con componentes celulares adicionales mantienen la hematopoyesis normal.<sup>5</sup> Las células madre mesenquimales proliferan *in vitro* como células adherentes formadoras de colonias, con una alta capacidad de autorrenovación y proliferación. También pueden diferenciarse en linajes mesenquimales y secretar citocinas y factores de crecimiento con efectos paracrinos que favorecen la regeneración de los tejidos dañados y regulación de las respuestas celulares inmunocompetentes, lo que las dota de un importante potencial terapéutico.<sup>6-8</sup>

### Marcadores neuronales

Los marcadores neuronales pueden detectar células nerviosas en diferentes etapas de desarrollo a partir de productos nucleares, citoplasmáticos o de membrana (**Figura 3**). También etiquetan neuronas, específicamente colinérgicas, dopaminérgicas, serotoninérgicas, GABAérgicas o glutamatérgicas.<sup>11</sup> Los marcadores neuronales se utilizan para estudiar la morfología de la célula. Tienen múltiples objetivos (proteínas somáticas, nucleares, dendríticas y axonales) y, en consecuencia, marcan a toda la célula, aunque existen marcadores más específicos que etiquetan regiones particulares de la neurona.<sup>10</sup>

La doblecortina es una proteína relacionada con microtúbulos, que se expresa ampliamente en el soma de las neuronas migratorias y en los axones de las neuronas de diferenciación. Su expresión se regula a la baja con la maduración celular. La  $\beta$ -tubulina de clase III específica de neuronas (TuJ1) se localiza en neuronas posmitóticas inmaduras recién generadas y neuronas diferenciadas, incluso en algunos precursores

neuronales mitóticamente activos. La proteína 2 asociada con microtúbulos (MAP-2) es una molécula citoesquelética. Su expresión es débil en precursores neuronales, pero aumenta durante el proceso de desarrollo neuronal. En general, su expresión se limita a neuronas y astrocitos reactivos. **Figuras 3 y 4**

La enolasa específica de neuronas, también llamada gamma-enolasa o enolasa 2, es una proteína citosólica que se expresa en neuronas maduras. Su concentración aumenta durante el desarrollo de las neuronas y alcanza su límite máximo en etapas posteriores.<sup>2-4</sup> Puede expresarse en células gliales durante la diferenciación de oligodendrocitos con las mismas concentraciones que se han encontrado en el cultivo de neuronas, pero se reprime cuando las células maduran. En condiciones patológicas también se ha informado que los pacientes con neoplasias gliales y con células gliales reactivas expresan este marcador.<sup>10</sup> El antígeno del núcleo neuronal (NeuN) o Fox-3 es una proteína nuclear localizado en las células posmitóticas, en el punto de diferenciación en células maduras. Puede usarse para detectar casi todos los tipos de células neuronales, excepto las células de Purkinje, las mitrales del bulbo olfatorio, los fotorreceptores retinianos y las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra. La calretinina se distribuye ampliamente en diferentes poblaciones neuronales de la retina de vertebrados, y es un marcador valioso para las neuronas posmitóticas inmaduras. La calbindina se expresa en las células de Purkinje del cerebelo y en las células granulares del hipocampo.<sup>11</sup> La reorganización y migración de neuronas de Purkinje, teñidas con calbindina en el cerebelo de rata después de una lesión del nervio periférico, sugiere que la calbindina puede ser un marcador de neuronas posmitóticas inmaduras, similar a la calretinina. La tirosina hidroxilasa es una enzima implicada en la síntesis de dopamina y norepinefrina. Generalmente se utiliza como marcador de neuronas dopaminérgicas, y también puede encontrarse

<b>Células madre</b>	ABCG2; NeuroD1; ASCL1/Mash1; Noggin; Beta-catenina; Notch-1; Notch-2; Brg1 ; Nrf2 ; N-Cadherina; Numb; Nucleostemina; Calcitonina R; CD15/Lewis X; Otx2; CDCP1; Pax3; COUP-TF I/NR2F1; Pax6; CXCR4; PDGF R alpha; FABP7/B-FABP; PKC zeta; FABP 8/M-FABP; Prominina-2; FGFR2; ROR2; FGFR4; RUNX1/CBFA2; FoxD3; RXR alpha/NR2B1; Frizzled-9; sFRP-2; GATA-2; SLAIN 1; GCNF/NR6A1; SOX1; GFAP; SOX2; Glut1; SOX9; HOXB1; SOX11; ID2; SOX21; Meteorina; SSEA-1; MSX1; TRAF-4; Musashi-1; Vimentina; Musashi-2; ZIC1; Nestina
<b>Células progenitoras neuronales</b>	A2B5; AP-2 Alpha; ATPase Na+/K+ transporting alpha 1; Activin RIIA; Brg1; CD168/RHAMM; CD4; Doublecortin/DCX; Frizzled 4/CD344; GAP43; Jagged1; Laminina; MSX1/HOX7; Mash1; Musashi-1; Nestina; Netrina-1; Netrina-4; Neuritina; NeuroD1; Neurofilamentos alfa-internexina/NF66; Notch1; Notch2; Notch3; Nucleostemina; Otx2; PAX3; S100B; SOX2; Semaforina 3C; Semaforina 6 <sup>a</sup> , 6B, 7 <sup>a</sup> ; TROY/TNFRSF19; Tubulina βII; Tuj 1; Vimentina.
<b>Neuronas tempranas</b>	ATOH1/MATH1; ASH1/MASH1; HES5; HuC/Hu; HuD; Internexina α; L1 molécula de adhesión neural MAP1B/MAP5; MAP2A; MAP2B; factor de crecimiento neural NGFR; Nestina; NeuroD Neurofilamentos L 68 kDa, ENE NeuN, Nkx-2.2/NK-2, Noggin; Pax-6, PSA-NCAM; Tbr1, Tbr2, Tubulina βIII, TUC-4, Tiroxina hidroxilasa/TH
<b>Neuronas inmaduras</b>	Calbindina; Calretinina; Collapsina, respuesta mediada por proteína/CRMP1; Colapsina Response Mediated Protein 2/CRMP2; Colapsina Response Mediated Protein 5/CRMP5; Contactina-1; neuronas ricas en Cisteine-/CRIM1; c-Ret phosphor Serine 696; Doblecortina/DCX; Efrina A2; Efrina A4; A5; B1; B2; GAP-43; HuC; HuD; Internexina alfa; Laminina-1; LINGO-1; MAP1B/MAP5; Mical-3; NAP-22; NGFR; Nestina; Netrin-1; Neuropilina; Plexina-A1; RanBPM; Semaforina 3A; 3F; 4D; Slit2; Slit3; Staufén; Tbr 1; Tbr 2; Trk A; Tubulina βIII; TUC-4
<b>Neuronas diferenciadas</b>	NeuN; NF-L; NF-M; GAD; TH; PSD-95; Sinaptofisina; VAMP; ZENON
<b>Neuronas motoras</b>	ChAT/acetiltransferasa colinétera/ChAT; Chox10; En1; Even-skipped/Eve; Evx1; Evx2; factor de crecimiento de fibroblastos/FGF1; HB9; Isl1; Isl2; Lim3; Nkx6; p75 receptor deneurotrofina receptor; REG2; Sim1; SMI32; Zfh1
<b>Neuronas presinápticas</b>	4.1G; Acetilcolinesterasa; Ack1; AMPA Receptor Binding Protein/ABP; ARG3.1; Arp2; E-Cadherin; N-Cadherin; Calcyon; alfa y beta Catenina beta; Caveolina; CHAPSYN-110/PSD93; Cromogranina A; Clathrin light chain; Cofilina; Complexina 1/CPLX1/Synaphin 2; Contactin-1; CRIPT; Cysteine String Protein/CSP; Dynamin 1; Dymanin 2; Flotillin-1; Fodrin; GRASP; GRIP1; Homer; Mint-1; Munc-18; NSF; PICK1; PSD-95; RAB4; Rabphilin 3A; SAD A; SAD B; SAP-102; SHANK1a; SNAP-25; Snapin; Spinophilin/Neurabin-1; Stargazin; Striatin; SYG-1; Synaptic Vesicle Protein 2A; Synaptic Vesicle Protein 2B; Synapsin 1; Synaptobrevin/VAMP; Synaptotagmin 1; Synaptophysin; Synaptotagmin; synGAP; Synphilin-1; Syntaxin 1; Syntaxin 2; Syntaxin 3; Syntaxin 4; Synuclein alpha; VAMP-2; Vesicular Acetylcholine Transporter/VACHT; Vesicular GABA transporter/VGAT/VIAAT; Vesicular Glutamate Transporter 1, 2, 3/VGLUT; Vesicular monoamine transporter 1, 2

Figura 3. Marcadores neuronales durante los diferentes estadios de maduración.



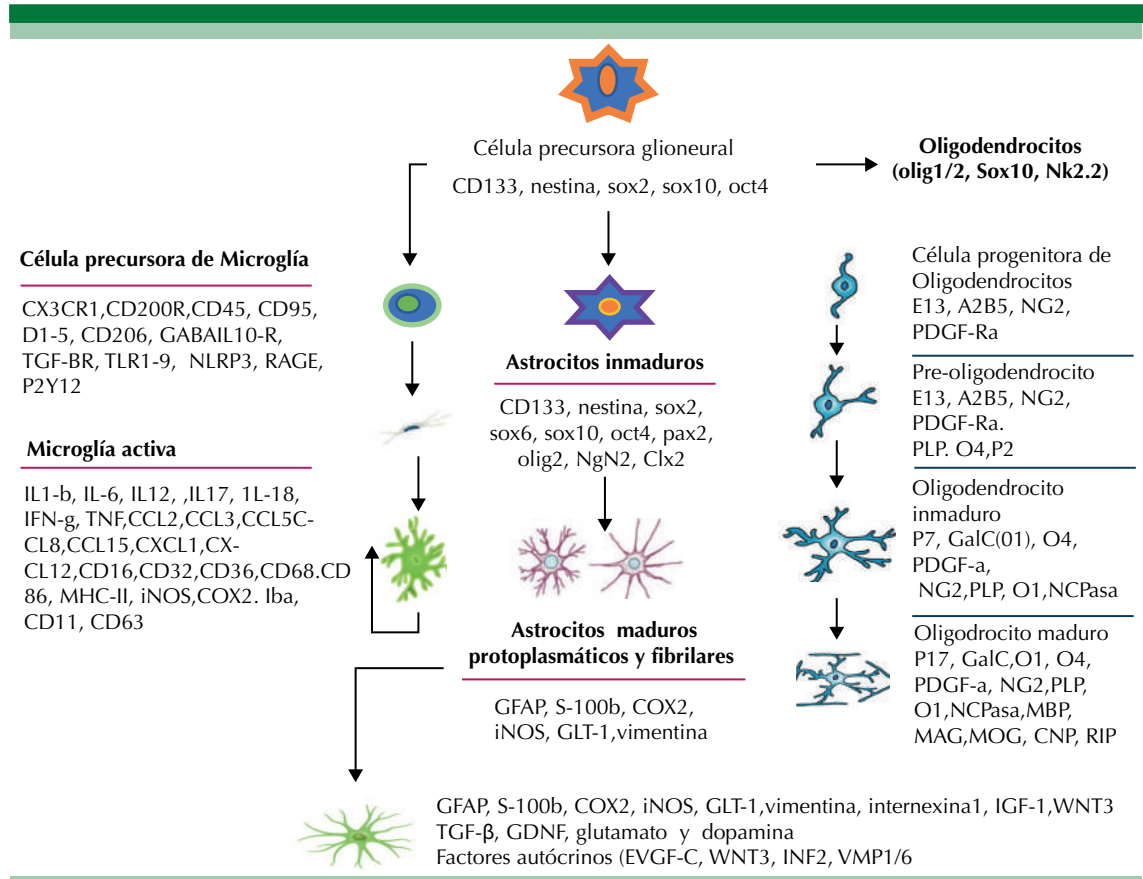
en algunas neuronas del prosencéfalo que producen noradrenalina (que es el producto de la dopamina y la enzima dopamina β-hidroxilasa). La colinacetiltransferasa (ChAT) se expresa en neuronas colinérgicas del sistema nervioso central y del sistema nervioso periférico. En el sistema nervioso central, la ChAT se expresa en neuronas motoras y autónomas preganglionares de la médula espinal, un subconjunto de neuronas en el neocórtex y el prosencéfalo basal. En el sistema nervioso periférico aparece en un pequeño grupo de neuronas simpáticas y en todas las neuronas parasimpáticas.

GABA es un marcador neuronal expresado en interneuronas GABAérgicas. GAD 65/67 son

dos enzimas implicadas en la síntesis de GABA por las interneuronas GABAérgicas.<sup>18-20</sup> **Figura 4**

**Marcadores de oligodendrocitos**

En las fases iniciales del desarrollo del sistema nervioso central no puede distinguirse algún progenitor específicamente oligodendroglial, sino sólo de manera general, progenitores neurales. Es a partir de progenitores indiferenciados de los que se originará la primera célula específica del linaje oligodendroglial y, a partir de ella todas las demás en sucesivas etapas de diferenciación celular. Cada etapa se caracteriza por cambios en la morfología celular, una expresión génica diferencial, la expresión de diferentes marca-



**Figura 4.** Diferentes marcadores celulares en la neurogénesis y gliogénesis.

dores inmunohistoquímicos y diferencias en las capacidades migratoria y proliferativa de las células, que van disminuyendo conforme avanza el proceso de maduración. La primera etapa de diferenciación del linaje oligodendroglial descrita, caracterizada por su gran capacidad proliferativa, es la de progenitor de oligodendrocitos (PO), que expresa marcadores tempranos (Nestina, plp/dm20 o receptor PDGFR $\alpha$ ). Los PO se diferencian de los progenitores indiferenciados por su morfología bipolar, facilitando su movimiento, puesto que son células con gran capacidad migratoria y, además, mantienen una importante capacidad de proliferar. En su membrana citoplasmática muestran diferentes tipos de gangliósidos: GD3, A2B5 o NG2. Los PO expresan; PDFG, NG2, MD20, PSA/NCAM, olig1/2, sox10 y FABP7. La siguiente fase de diferenciación es la de pre-oligodendrocitos, en el que las células contienen un citoplasma más ramificado e inician la expresión de sulfátido O4, con capacidades de movimiento y proliferación menores.<sup>23</sup> Estos, a su vez, expresan: PDFG, NG2, md20, O4, Knk2.2, A2B5, PSA/NCAM, olig1/2, sox10 y GPR17. Posteriormente se diferencian a oligodendrocitos inmaduros, células posmitóticas mucho más ramificadas y que ya comienzan a expresar GalC, un glucolípidio de mielina y CNPasa; además, pueden expresar: O4, SOX10 y GPR17. Los oligodendrocitos inmaduros ya no retienen capacidad proliferativa y apenas se mueven. En la última etapa de diferenciación, los oligodendrocitos maduros expresan componentes de la mielina, como PLP y MBP además de MAG, MOG, PLP, CNPasa, GalC, olig1/2, sox10, MRF/Gm98, zfp488 y FABP5. Los oligodendrocitos maduros ya son capaces de mielinizar axones y muestran una estructura mucho más ramificada que en las etapas anteriores.<sup>23,24</sup>

Otro grupo importante de moléculas secretoras que participan en la migración de los progenitores de oligodendrocitos son las moléculas quimiotácticas; las más estudiadas son: Netrina-1 y semaforinas secretables tipo III. La Netrina-1

tiene doble efecto: repelente en la dispersión inicial de los progenitores de oligodendrocitos en la zona ventral de la médula espinal y en el nervio óptico, sólo en etapas posnatales. Las semaforinas tipo III participan en la migración de los progenitores de oligodendrocitos, mediante la unión con sus receptores Neuropilinas 1 y 2, expresados en este tipo celular. Finalmente, otra familia de moléculas secretoras implicadas en la migración de los progenitores de oligodendrocitos son las quimiocinas. Otro miembro de esta familia es el CXCL12 o SDF1, que al estimular su receptor CXCR4, presente en los progenitores de oligodendrocitos, afecta a la proliferación, diferenciación y capacidad de mielinización de estas células, produciendo también la inhibición en su migración. Además, la activación del receptor CXCR4 está regulada por el receptor CXCR7, también localizado en los progenitores de oligodendrocitos.<sup>24-26</sup> **Figura 4**

La migración de los oligodendrocitos dependiente de FGF-2 está modulada por la proteína Anosmina-1, aunque también participa de manera independiente de FGF-2, reduciendo la capacidad migratoria de los progenitores de oligodendrocitos.<sup>2,4,11</sup> Otro factor que favorece la migración y proliferación de los progenitores de oligodendrocitos en el nervio óptico es la proteína Sonic hedgehog.<sup>23</sup> El único factor de crecimiento con efecto en los progenitores de oligodendrocitos del nervio óptico plp/dm20+ es el VEGF-C, que ejerce un estímulo atrayente. Como moléculas secretables que ejercen efecto en los progenitores de oligodendrocitos del nervio óptico se encuentra la netrina-1 y la Semaforinas tipo III. La netrina-1 tiene un efecto atrayente cuando se une con el receptor DCC, expresado en estadios embrionarios, y un efecto repelente cuando se une con su receptor. La implicación de la podocalixina en la ruta CXCR4/CXCL12 es de gran importancia, habiendo estudiado tan sólo la migración de progenitores de oligodendrocitos, pero muestra un papel fundamental de CXCR4 en la diferenciación

de estas células. CXCR4 está expresado en los progenitores de oligodendrocitos que expresan PDGFR $\alpha$ , incrementando su diferenciación a oligodendrocitos maduros en presencia de CXCL12, proceso de gran importancia para la correcta formación de la mielina, es crítica para el proceso de remielinización en el sistema nervioso central adulto dañado.<sup>23-26</sup>

La PSA-NCAM se encuentra en células madre neurales que forman diferentes precursores y progenitores celulares, por ejemplo: oligodendrocitos, células precursoras de astrocitos, astroblastos, neuroblastos y precursores gliales. La PSA-NCAM también se expresa en diversos tumores, donde puede funcionar como desarrollador antigénico y contribuir con la metástasis.<sup>22-23</sup>

### Marcadores de astrocitos

Los sinantocitos comparten diversas características con los astrocitos, no expresan proteínas marcadoras de astrocitos maduros *in vivo* como: proteína ácida glial fibrilar (GFAP), vimentina, proteína de unión a calcio S-100 y glutamina sintetasa; sin embargo, expresan el marcador NG2 condroitín sulfato proteoglicano (CSPG), que representa un blanco antigénico para el fenotipo de precursores de oligodendrocitos, incluso se consideran células O-A2 (precursoras oligodendrocito-astrocito tipo 2), no obstante, los sinantocitos tienen características morfológicas del fenotipo de los astrocitos y no de precursores de oligodendrocitos.<sup>2-5,11</sup> Además, estudios *in vitro* de cerebro posnatal y adulto de ratas muestran que los precursores de oligodendrocitos tienen una morfología unipolar y son mitóticamente activos, mientras que las células que expresan NG2 muestran una morfología compleja y son posmitóticas. Los marcadores celulares de astrocitos tempranos son: nestina, P0, MBP, GFAP, NCAM, marcador de linaje glial, que es una proteína de superficie celular (A5E3), ancladas a glicosilfosfatidilinositol (Ran-2),<sup>24</sup> receptor del

factor de crecimiento neuronal (NGFR), proteína de unión a calcio S-100, galactocerebrósido, receptor ErbB (ligando de Nrg-1), glutamato, ATP, adenosina, D-serina, prostaglandinas, sustancia P y neuropéptido Y.<sup>27</sup> Microvesículas similares a las vesículas sinápticas (SLMV), proteína 2 de membrana asociada con la vesícula (VAMP2), también conocida como sinaptobrevina II, VAM3 o celubrevina y VAMP8, Munc18a, bradiginina, histamina y sustancia P.<sup>25</sup> **Figura 4**

### Marcadores de microglía

La microglía es la población de macrófagos residentes del sistema nervioso central donde la infiltración de monocitos y linfocitos periféricos es limitada. La microglía deriva del saco vitelino, cuyos precursores mieloides migran desde la médula ósea al sistema nervioso central de forma temprana durante el desarrollo. Estas células se encuentran inactivas en el sistema nervioso central, es decir, son incapaces de realizar funciones efectoras y de presentación de antígenos hasta que se activan por una lesión o infección. Una de las funciones más representativas de la microglía es la actividad fagocítica, con función eficaz en la limpieza de restos celulares. Además, la microglía participa en la programación de la apoptosis en células dañadas.<sup>1-6,12,13</sup> Los mecanismos implicados en la apoptosis son: producción de factores que activan la apoptosis neuronal (factor de necrosis tumoral alfa, fas-ligando) y formación de especies reactivas del oxígeno (glutamato, óxido nítrico, entre otras). Sin embargo, además de su rol en la muerte celular, se ha encontrado nueva evidencia de que la microglía tiene función importante en la supervivencia celular, proliferación y diferenciación de células neurales en el desarrollo del sistema nervioso central del adulto. Se ha sugerido que una de las formas por las que ocurre esta activación es la interacción con las neuronas a través del ligando CD200, una glicoproteína de membrana localizada en la neurona, con receptores en la microglía. Los receptores Toll<sup>20</sup> se relacionan con

la respuesta inmune innata, porque son capaces de reconocer productos microbianos (PAMPs, Pathogen-Associated Molecular Patterns) y de daño celular (DAMPs, Damage-Associated Molecular Patterns), expresión de citoquinas proinflamatorias y quimioquinas (por ejemplo, TNF $\alpha$ ), incluso del aumento en la concentración de moléculas del MHC-II. Otros estímulos bioquímicos que regulan la actividad de la microglía incluyen: citoquinas proinflamatorias (IL-2, IL-6, IL-15, interferón gamma y TNF $\alpha$ ); citoquinas antiinflamatorias (IL-4, IL-10 e IL-13) y otras señales celulares, como nucleótidos (especialmente ATP) y fractalquina (CX3CL1). Actividad de quimiotaxis, mediante proteínas proinflamatorias (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ );<sup>27</sup> compuestos oxidantes (especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico),<sup>28-30</sup> y aminoácidos excitatorios (glutamato). Los marcadores de microglía son: Iba1, CD200, CD11b, CD11c, CD45, CD68, fractalquina, producción de citoquinas proinflamatorias. Los nucleótidos ATP/ADP y UTP/UDP actúan como señales que pueden estimular la quimiotaxis y quimiocinesis de las células de la microglía, atrayéndolas hacia los sitios de daño neuronal en el cerebro del adulto.<sup>29-33</sup> **Figura 4**

## REFERENCIAS

1. Fuentealba LC, Rompani SB, Parraguez JI, Obernier K, et al. Embryonic Origin of Postnatal Neural Stem Cells. *Cell*. 2015; 161: 1644-1655. doi: 10.1016/j.cell.2015.05.041
2. Li L, Chao J, Shi Y. Modeling neurological diseases using iPSC-derived neural cells. *Cell Tiss Res*. 2018; 371 (1): 143-151. doi: 10.1007/s00441-017-2713-x.
3. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. 1981; 292:154-156. doi: 10.1038/292154a0
4. Kriegstein A, Alvarez-Buylla A. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annual review of neuroscience*. 2009; 32:149-184. doi: 10.1146/annurev.neuro.051508.135600
5. Gage FH, Temple S. Neural stem cells: generating and regenerating the brain. *Neuron* 2013; 80 (3): 588-601. doi: 10.1016/j.neuron.2013.10.037
6. Taupin P. Adult neurogenesis and neuroplasticity. *Restorat Neurol Neurosci* 2006; 24 (1): 9-15.
7. Kempermann G, Jessberger S, Steiner B, Kronenberg G. Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci* 2004; 27 (8); 447-452. doi: 10.1016/j.tins.2004.05.013
8. Alvarez-Buylla A, García-Verdugo JM, Tramontin AD. A unified hypothesis on the lineage of neural stem cells. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2 (4): 287-293. doi: 10.1038/35067582
9. Fujita S. The discovery of the matrix cell, the identification of the multipotent neural stem cell and the development of the central nervous system. *Cell Struct Funct*. 2003; 28 (4): 205-228. doi: 10.1247/csf.28.205
10. Kageyama R, Hatakeyama J, Ohtsuka T. Roles of Hes bHLH factors in neural development. In: *Transcription Factors in the Nervous System: Development, Brain Function, and Diseases* 2006; 3-22, Wiley.
11. Gleason D, Fallon JH, Guerra, Liu JC, et al. Ependymal stem cells divide asymmetrically and transfer progeny into the subventricular zone when activated by injury. *Neuroscience* 2008; 156 (1): 81-88. doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.06.065
12. Pevny L, Rao MS. The stem-cell menagerie. *Trends Neurosci* 2003; 26 (1): 351-359. doi: 10.1016/S0166-2236(03)00169-3
13. de Filippis L, Lamorte G, Snyder EY, Malgaroli A, et al. A novel, immortal, and multipotent human neural stem cell line generating functional neurons and oligodendrocytes. *Stem Cells* 2007; 25 (9): 2312-2321. doi: 10.1634/stemcells.2007-0040
14. Geribaldi-Doldán N, Flores-Giubi E, Murillo-Carretero M, García-Bernal F, et al. 12-Deoxyphor- promote adult bold promote adult's neurogenesis by inducing neural progenitor cell proliferation via PKC activation. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2015; 19 (1): 91-11. doi: 10.1093/ijnp/pyv085
15. Sawamoto K, Wichterle H, González-Pérez O, Cholfin JA, et al. New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain. *Science*. 2006; 311: 629-32. doi: 10.1126/science.1119133
16. Mirzadeh Z, Merkle FT, Soriano-Navarro M, García-Verdugo JM, et al. Neural stem cells confer unique pinwheel architecture to the ventricular surface in neurogenic regions of the adult brain. *Cell Stem Cell*. 2008; 3: 265-78. doi: 10.1016/j.stem.2008.07.004
17. Cesetti T, Obernier K, Bengtson CP, Fila T, et al. Analysis of stem cell lineage progression in the neonatal subventricular zone identifies EGFR+/NG2- cells as transit-amplifying precursors. *Stem Cells*. 2009; 27: 1443-54. doi: 10.1002/stem.74
18. Álvarez-Buylla A, Lim DA. For the long run: maintaining germinal niches in the adult brain. *Neuron*. 2004; 41: 683-6. doi: 10.1016/s0896-6273(04)00111-4
19. Youssef M, Krish VS, Kirshenbaum GS, Atsak P, et al. Ablation of proliferating neural stem cells during early life is sufficient to reduce adult hippocampal neurogenesis. *Hippocampus*. 2018; 28 (8): 586-601. doi: 10.1002/hipo.22962

20. Kreuzberg M, Kanov E, Timofeev O, Schwaninger M, et al. Increased subventricular zone-derived cortical neurogenesis after ischemic lesion. *Exp Neurol*. 2010; 226: 90-9. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.08.006
21. Neradil J, Veselska R. Nestin as a marker of cancer stem cells. *Cancer Sci*. 2015; 106: 803-811. doi: 10.1111/cas.12691
22. Behrooz AB, Syahir A, Ahmad S. CD133: beyond a cancer stem cell biomarker. *J Drug Target*. 2019; 27: 257-269. doi: 10.1080/1061186X.2018.1479756
23. Shevchenko V, Arnotskaya N, Korneyko M, Zaytsev S, et al. Proteins of the Wnt signaling pathway as targets for the regulation of CD133+ cancer stem cells in glioblastoma. *Oncol Rep*. 2019; 41: 3080-3088. doi: 10.3892/or.2019.7043
24. Livesey M, Magnani D, Cleary EM, Vasistha NA, et al. Maturation and electrophysiological properties of human pluripotent stem cell-derived oligodendrocytes. *Stem Cells*. 2016; 34 (4): 1040-1053. doi: 10.1002/stem.2273
25. Agrelo IS, Schira-Heinen J, Beyer F, Groh J, et al. Secretome Analysis of Mesenchymal Stem Cell Factors Fostering Oligodendroglial Differentiation of Neural Stem Cells In Vivo. *Int J Mol Sci*. 2020; 21 (12): 4350. doi: 10.3390/ijms21124350
26. Assetta B, Tang C, Bian J, O'Rourke R, et al. Generation of Human Neurons and Oligodendrocytes from Pluripotent Stem Cells for Modeling Neuron-oligodendrocyte Interactions. *J Vis Exp*. 2020; (165): 10.3791/61778. doi: 10.3791/61778
27. Liu Y, Song Z, Zhao Y, Qin H, et al. A novel chemical-defined medium with bFGF and N2B27 supplements supports undifferentiated growth in human embryonic stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 346: 131-9. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.05.086
28. Kilic N, Oliveira-Ferrer L, Neshat-Vahid S, Irmak S, et al. Lymphatic reprogramming of microvascular endothelial cells by CEA-related cell adhesion molecule-1 via interaction with VEGFR-3 and Prox1. *Blood*. 2007; 110: 4223-33. doi: 10.1182/blood-2007-06-097592
29. Redwine JM, Evans, CF. Markers of central nervous system glia and neurons in vivo during normal and pathological conditions. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2002; 265: 119-40. doi: 10.1007/978-3-662-09525-6\_6
30. Rao MS, Noble M, Mayer-Pröschel A. tripotential glial precursor cell is present in the developing spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1998; 95 (7): 3996-4001. doi: 10.1073/pnas.95.7.3996
31. Neumann H. Control of Glial Immune Function by Neurons. *Glia*. 2001; 191-199. doi: 10.1002/glia.1108
32. Marín-Teva L, Cuadros M, Martín-Oliva D, Navascués J. Microglia and neuronal cell death. *Neuron Glia Biol*. 2011; 7 (1): 25-40. doi: 10.1017/S1740925X12000014
33. Bessis A, Bechade C, Bernard D, Roumier A. Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia*. 2007; 55: 233-238. doi: 10.1002/glia.20459