

# El control neurotrófico en el desarrollo y la función de dos órganos endocrinos: el ovario y el páncreas

Siraam Cabrera-Vásquez\*

\* Departamento de Biofísica, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México.

***Neurotrophic control in the development and function of two endocrine organs: The ovary and the pancreas***

## ABSTRACT

*Neurotrophins (NTs) are important for the survival, differentiation and function of sympathetic and sensorial neurons of central and peripheral nervous system. However, similar functions have been described of NTs in non-neuronal organs. Nerve Growth factor (NGF) participates in the folliculogenesis and ovulation in the ovary, as well as in the islet morphogenesis and insulin secretion of the pancreatic  $\beta$  cell. The NTs act by binding to two distinct classes of transmembrane receptors: p75 and Trks. Both receptor types lead to activation of intracellular signaling cascades that end with cell survival or apoptosis. In this review different actions of the NTs in the ovarian and the pancreas are described.*

**Key words.** Neurotrophins. Ovary. Pancreas. Innervation.

## RESUMEN

Las neurotropinas (NTs) son indispensables para la sobrevivencia, la diferenciación y la función de neuronas simpáticas y sensoriales del sistema nervioso central y periférico. Sin embargo, se han descrito funciones similares de las NTs en órganos no neuronales. El factor de crecimiento neuronal (NGF) participa en la foliculogénesis y la ovulación en el ovario, así como en la morfogénesis del islote y en la secreción de insulina por la célula  $\beta$  pancreática. Las NTs median sus funciones al unirse a dos diferentes tipos de receptores transmembranales: los Trks y el p75. Ambos tipos de receptores inducen la activación de cascadas de señalización que finalizan con sobrevivencia celular o apoptosis. En esta revisión se describen diferentes acciones de las NTs en el ovario y el páncreas.

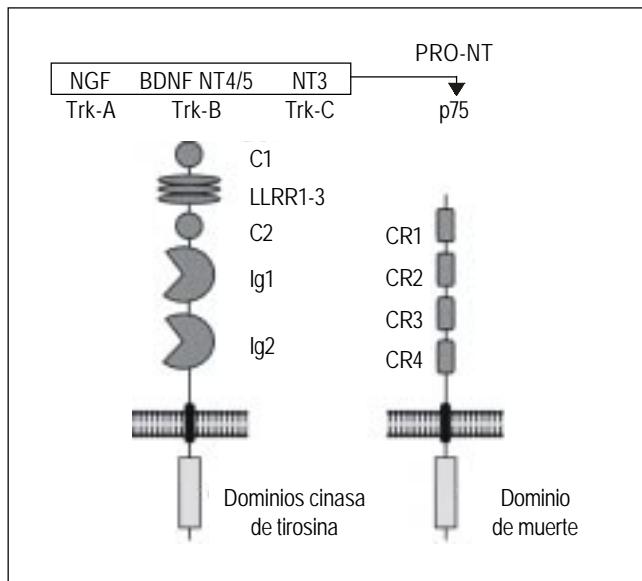
**Palabras clave.** Neurotropinas. Ovario. Páncreas. Inervación.

## INTRODUCCIÓN

Las NTs pertenecen a la familia de los factores neurotróficos, de la que destacan cuatro miembros: el factor de crecimiento neuronal (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), la neurotropina 3 (NT3) y la neurotropina 4/5 (NT 4/5).<sup>1</sup> Los cuatro factores son derivados de un gen ancestral común y son similares en secuencia y estructura. El NGF fue la primera neurotropina en ser caracterizada. Su descubrimiento se debe al trabajo de Rita

Levi-Montalcini, Victor Hamburger y Elmer Bueker.<sup>2</sup> Ellos describieron que los sarcomas de ratón implantados en embriones de pollo producían una molécula que inducía su propia inervación. Posteriormente, los primeros dos autores junto con Stanley Cohen la purificaron en este tipo de sarcomas, en el veneno de víbora y en la glándula maxilar del ratón. A esta molécula le nombraron NGF.<sup>2</sup>

Las NTs juegan un papel importante en el desarrollo y función del sistema nervioso. Participan en una amplia gama de funciones como el crecimiento



**Figura 1.** Las dos clases de receptores para las NTs: el Trk y el p75: El receptor Trk, presenta en su porción extracelular motivos ricos en leucinas (LRR1-3), dos grupos de cisteínas (C1 y C2) y dos dominios parecidos a inmunoglobulinas (Ig1 e Ig2). El NGF se une al Trk-A, el BDNF y la NT 4/5 se unen al Trk-B y la NT3 se une al Trk-C. Los Trks se unen a sus ligandos con alta afinidad. La unión específica de cada Trk es proporcionada por el dominio 2 parecido a la inmunoglobulina. En su porción intracelular se localizan los dominios de cinasa de tirosinas. El receptor p75 contiene en su dominio extracelular cuatro repeticiones de cisteína (CR1, CR2, CR3 y CR4). También contiene un dominio de muerte intracitoplasmático. Este receptor tiene la capacidad de unir a las cuatro NTs: NGF, BDNF, NT4/5 y a NT3 con baja afinidad y a las proneurotropinas (PRO-NT) con alta afinidad (modificado de *Genes and Development* 2000;14: 2919-2937).

de los axones y su guía hacia los órganos blanco, la estructura y la arborización de las dendritas, la formación y la plasticidad sináptica.<sup>3</sup> Asimismo, participan en la sobrevivencia neuronal; además de ejercer otras funciones en órganos no neuronales como el desarrollo del corazón, la función del sistema inmunológico<sup>3</sup> y de algunos órganos endocrinos como el ovario,<sup>4</sup> el testículo<sup>5</sup> y el páncreas.<sup>6,7</sup> Las NTs son las formas maduras de las proneurotropinas, mismas que son procesadas por proteasas extracelulares como la metaloproteinasa de matriz<sup>7</sup> y la plasmina.<sup>8</sup>

Ejercen sus funciones biológicas a través de su unión a dos tipos de receptores transmembranales, unos de alta afinidad denominados Trks y otro tipo de baja afinidad, que es compartido por todas las NTs, denominado p75.<sup>9,10</sup> Los Trks son receptores con actividad intracelular de cinasa de tirosinas.<sup>11</sup> En los mamíferos se han descrito tres genes que expresan los diferentes receptores Trks. El Trk-A, el

Trk-B y el Trk-C, que unen respectivamente NGF, BDNF y NT 4/5 (Figura 1).<sup>11</sup> El receptor p75 es un miembro de la familia del receptor del factor de necrosis tumoral,<sup>12</sup> al cual se unen las NTs con menor afinidad que a los Trks. Puede interactuar con los Trks a través de ciertos dominios de unión<sup>13</sup> y se une con mayor afinidad a las proneurotropinas.<sup>8,14</sup>

La interacción de las NTs con los receptores Trks induce una serie de cascadas de fosforilaciones intracelulares que conducen a la sobrevivencia celular, mientras que la unión de proneurotropinas a p75 conduce a la apoptosis celular.<sup>8</sup>

### Señales intracelulares inducidas por los receptores Trks

La unión de las NTs a los receptores Trks induce su transfosforilación y el reclutamiento de proteínas adaptadoras que presentan dominios de unión a la porción citoplasmática del receptor. Algunas de estas proteínas adaptadoras contienen un dominio Shc (dominio de homología a la proteína Src). Otras proteínas adaptadoras son la Grb-2, la proteína intercambiadora de nucleótidos de guanina SOS (Son of Sevenless) y proteínas de la familia de Gab-1/sustrato de receptor de la insulina 1 y 2 (IRS-1 y 2).<sup>15</sup> El reclutamiento de SOS induce la activación de la proteína G pequeña Ras. Ras activa la vía de señalización de la cinasa de la proteína MAPK / cinasa de la proteína activada por mitógeno (raf/MEK/MAPK) y la de la cinasa de fosfatidilinositol-3 / cinasa de la proteína B (PI-3K/Akt). Ambas vías regulan la sobrevivencia celular.

La vía raf/MEK/MAPK activa a la cinasa S6 ribosomal (Rsk) y a la proteína de unión a elementos de respuesta de AMPc (CREB), este factor de transcripción induce la expresión de genes antiapoptóticos como el que codifica para Bcl-2. La transfosforilación de los Trks prolonga la actividad de la MAPK al fosforilar a la proteína transmembranal rica en anquirinas (ARMS).<sup>16</sup>

La vía PI-3K/Akt es activada por tres proteínas adaptadoras: Shc, Grb-2 y Gab-1. La PI-3K activa directamente a las proteínas inhibidoras de la apoptosis (IAPs) y estimula la actividad de cinasa dependiente de fosfoinosítidos 1 y 2 (PDK1 y 2), las cuales a su vez activan a Akt.

Akt activada induce la fosforilación de la proteína Bad promoviendo su asociación con otra llamada 14-3-3, previniendo de esta manera su unión con la proteína antiapoptótica Bcl-2. Además, Akt fosforila e inhibe a Forkhead y a p53, factores transcripcionales que inducen la transcripción de algunos genes

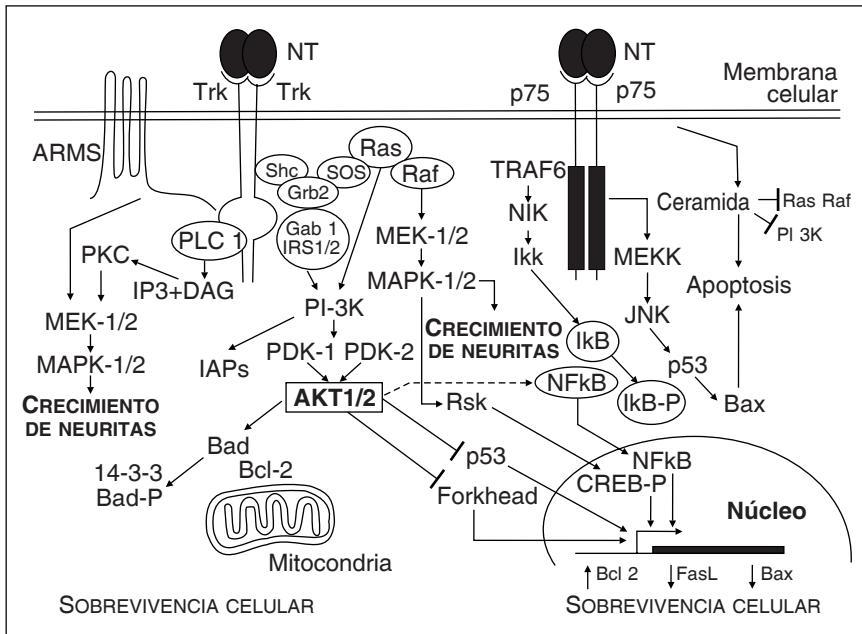


Figura 2. Vías de señalización celular de Trk y de p75. Las vías de PI-3K/Akt y la de Raf/MEK/MAPK inducidas por los Trks regulan la supervivencia celular y el crecimiento de neuritas en algunos tipos de neuronas. Mientras que p75 puede regular la supervivencia celular y la apoptosis. La activación de los receptores Trk y p75 pueden converger en la activación de NF- $\kappa$ B induciendo un sinergismo para la supervivencia celular (flecha discontinua). NT: Neurotropina.

como los que codifican para el ligando de Fas y para Bax, respectivamente (Figura 2).<sup>15</sup> Todos estos eventos evitan la apoptosis celular.

La fosfolipasa C- $\gamma$ 1 (PLC- $\gamma$ 1) se une al dominio citoplasmático del receptor a través de su dominio SH2. Esta enzima hidroliza fosfoinosítidos de membrana y genera inositol trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). El IP3 induce liberación de calcio de los depósitos intracelulares y el incremento del calcio citoplasmático. El DAG estimula la actividad de PKC reguladas por calcio. Ambas moléculas pueden participar en el crecimiento de neuritas (Figura 2).<sup>15</sup>

### Señales intracelulares inducidas por p75

La activación de p75 promueve la supervivencia en algunos tipos de neuronas y la apoptosis en otros.<sup>17</sup> Una vía importante que promueve la supervivencia celular de algunas poblaciones neuronales se lleva a cabo por la activación del factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B). La activación de p75 induce la fosforilación del factor inhibidor B (I $\kappa$ B), resultando en la liberación del factor de transcripción NF- $\kappa$ B. En esta vía de señalización, p75 colabora con Trk para inducir la supervivencia de neuronas simpáticas<sup>18</sup> y sensoriales (Figura 2).<sup>19</sup>

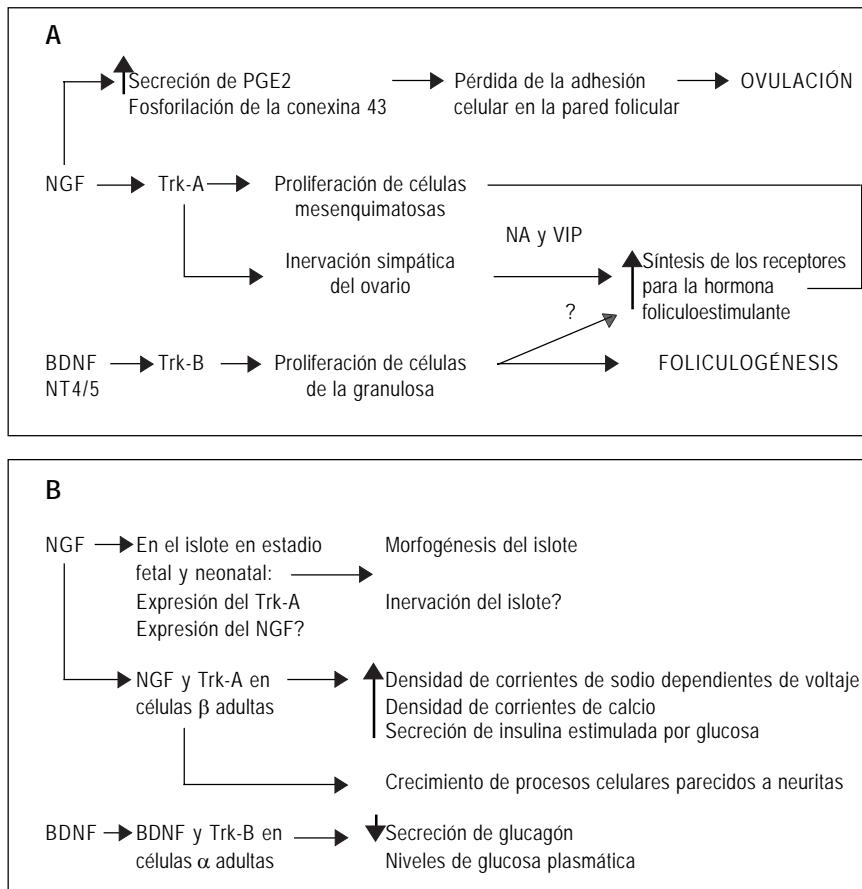
Sin embargo, la unión de las NTs con el receptor p75 también puede inducir apoptosis al activar la hidrólisis de la esfingomielina y la producción de ceramida. La ceramida se une a Raf e induce la formación de complejos Raf-Ras inactivos que inhiben

la cascada de señalización de la cinasa regulada por señales extracelulares (ERK).<sup>20</sup> Además, la ceramida también inhibe a la vía de PI-3K/Akt.<sup>21</sup> La inhibición de ambas vías promueve la apoptosis celular. Otra forma de inducción de apoptosis por p75 se lleva a cabo por la activación de la vía de la cinasa del amino terminal de jun (JNK)-p53-Bax (Figura 2). Se ha sugerido que la presencia o ausencia de sortilina, un correceptor de p75, determina si las proneurotropinas inducen o no a la apoptosis celular.<sup>8</sup> Las señales apoptóticas de p75 se inducen sólo si Trk está inactivo. La activación de PI-3K por NGF inhibe la hidrólisis de la esfingomielina dependiente de p75 en células PC-12, lo que sugiere que el Trk-A puede contrarrestar las señales de apoptosis que resultan de la unión de NGF con p75.<sup>22</sup>

Como hemos mencionado, las NTs también participan en el desarrollo y la función del ovario<sup>4</sup> y del páncreas.<sup>6,7</sup> El propósito de esta revisión es describir los mecanismos celulares inducidos por las NTs para llevar a cabo ambas acciones.

### EL CONTROL NEUROTRÓFICO EN EL DESARROLLO DEL OVARIO

Estudios en ratas y ratones han demostrado que los genes que codifican para las cuatro NTs: NGF, BDNF, NT3 y NT4/5, y sus receptores TrkA, TrkB, TrkC y p75, se expresan en el ovario de rata en el estadio fetal y posnatal antes del inicio de la foliculogénesis.<sup>23,24</sup> Además se demostró, mediante la técni-



**Figura 3.** El control neurotrófico en el desarrollo y la función del ovario y del páncreas. **A.** En el ovario el NGF induce la proliferación de células mesenquimatosas y el desarrollo de su inervación simpática, además de participar en la ovulación. Mientras que el BDNF y la NT 4/5 inducen la proliferación de las células de la granulosa. El NGF participa en la foliculogénesis incrementando la síntesis de los receptores para la hormona foliculoestimulante, aunque esto no está muy claro para el BDNF y la NT 4/5. **B.** En el páncreas, se sugiere que el NGF contribuye a la morfogénesis del islote. Su papel en la inervación aún no se conoce claramente. A su vez, el NGF participa en la fisiología de la célula  $\beta$  adulta al incrementar la secreción de la insulina estimulada con glucosa e inducir el crecimiento de neuritas. El papel de BDNF en la disminución de la secreción de glucagón y los niveles de glucosa plasmática requiere mayores estudios. **NA:** Noradrenalina. **VIP:** Péptido intestinal vasoactivo.

ca de reacción de la cadena de la polimerasa acoplada a la transcriptasa reversa (RT-PCR), que también se expresan en ovarios de fetos humanos de 13 y 21 semanas de gestación.<sup>25</sup>

### El NGF en el desarrollo del ovario

Mediante ensayos de protección de RNAsa se ha demostrado que los RNAs para el NGF y su receptor Trk-A se expresan en el ovario de la rata durante el desarrollo fetal tardío. Los niveles de ambos, disminuyen entre las 24 y 48 horas posnatal, durante la foliculogénesis. Posteriormente, se mantienen en bajos niveles hasta la pubertad.<sup>23</sup> Además, mediante hibridación *in situ* e inmunofluorescencia se ha detectado el RNAs y la proteína del receptor Trk-A en las células de la granulosa y en los ovocitos en la etapa posnatal.<sup>26</sup>

El NGF participa en el desarrollo del ovario por dos mecanismos funcionalmente relacionados: a) la maduración de las células ováricas y b) la inducción de su inervación. Se ha propuesto también que el NGF participa en la proliferación de las células me-

senquimatosas del ovario durante la etapa fetal.<sup>27</sup> Los ratones neonatales “knock-out” (KO) o deficientes de NGF (KO-NGF) presentan una disminución de cerca de la mitad en la proliferación de estas células, con respecto a los ratones silvestres.<sup>26</sup>

El NGF es necesario para la foliculogénesis temprana. Los ratones KO-NGF de una semana de edad posnatal presentan una disminución en el número de folículos primarios y secundarios comparados con ovarios de ratones silvestres.<sup>26</sup> Esta disminución no es causada por deficiencia de gonadotrofinas, ya que los ratones KO-NGF presentan niveles séricos de la hormona foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) similares a los ratones silvestres.<sup>26</sup>

Por otro lado, se ha demostrado que al neutralizar durante los primeros tres días de vida posnatal el efecto del NGF con un anticuerpo anti-NGF en ratas, el ovario sufre una pérdida completa de la inervación simpática, lo cual se observa en la etapa prepuberal.<sup>4</sup> La inervación simpática del ovario participa en la foliculogénesis temprana al inducir la síntesis de receptores para gonadotropinas en los folículos en desarrollo, lo que aumenta su sensibili-

dad a estas hormonas.<sup>27</sup> Se ha sugerido que este efecto es mediado por un aumento de la concentración de AMPc por neurotransmisores como la norepinefrina (NA) y el péptido intestinal vasoactivo (VIP), presentes en los ovarios antes de la foliculogénesis.

Resultados alternos *in vitro*, demostraron que la exposición de ovarios de ratas neonatas a agonistas beta-adrenérgicos o VIP incrementan los niveles de RNAm y de la proteína para el receptor de la FSH (FSHr).<sup>28</sup> Además, los ovarios de ratones KO-NGF en el estadio posnatal, presentan una disminución en los niveles de RNAm de FSHr con respecto a los ratones silvestres.<sup>29</sup> Estos resultados, demuestran la participación del NGF en la foliculogénesis temprana y en la inervación simpática del ovario (Figura 3a).

Por último, el tratamiento con NGF a células de la granulosa de humano en cultivo, induce un incremento en la secreción de estradiol (E2), en los niveles del RNAm del FSHr y en su biosíntesis. Además de una inhibición de la secreción de progesterona.<sup>30</sup> Estos resultados sugieren que el NGF podría prevenir la luteinización temprana en los ovarios preovulatorios.

### **El BDNF y la NT 4/5 en el desarrollo del ovario**

El BDNF y la NT 4/5 también participan en la foliculogénesis.<sup>31</sup> Mediante técnicas de inmunohistoquímica se detectó al receptor TrkB en la membrana de los ovocitos de folículos primarios y secundarios de ratones de siete días posnatal. Sus ligandos, el BDNF y la NT4/5, se observaron predominantemente en las células de la granulosa.<sup>32</sup> Los ratones KO-TrkB y dobles KO-BDNF y KO-NT4/5 presentan una reducción significativa en el número de folículos secundarios con respecto a los ratones silvestres. Esta reducción es secundaria a una disminución en la proliferación y no en la apoptosis de las células de la granulosa.<sup>32</sup> En células mesenquimatosas de ratones KO-NGF neonatos se observan estos mismos cambios, lo que sugiere que la proliferación celular representa un mecanismo general usado por las NTs para regular la foliculogénesis.

Los ratones KO-TrkB, también presentan una disminución significativa en los niveles de RNAm de los FSHr, degeneración de los oocitos y pérdida de la organización folicular en el estadio posnatal.<sup>32</sup> Los ratones KO-TrkC no presentan defectos en la foliculogénesis.<sup>24</sup>

## **EL CONTROL NEUROTRÓFICO EN LA FUNCIÓN DEL OVARIO**

El NGF participa en la ovulación.<sup>4</sup> La maduración del folículo es inducida por diferentes estímulos hormonales como la LH, que induce la ruptura de la pared folicular. Además, participan una serie de moléculas como las interleucinas,<sup>33</sup> las prostaglandinas y la desintegrina y metaloproteína con motivos de trombospondina-1 (ADAMTS-1).<sup>34</sup> En la etapa preovulatoria existe un incremento en los niveles del RNAm del NGF y de su receptor Trk-A, posterior a un aumento en los niveles de LH.<sup>35</sup>

La secreción de LH estimula la síntesis de la interleucina 1b (IL-1 $\beta$ ) en el ovario.<sup>36</sup> Por su parte, la IL-1 $\beta$ , incrementa la expresión de los genes de NGF y Trk-A en las células ováricas. Este aumento es inhibido por un antagonista natural de los receptores para IL-1 $\beta$ , el IL-1ra.<sup>35</sup> IL-1 $\beta$  incrementa la secreción de prostaglandina E2 (PGE2) de células ováricas aisladas en cultivo. Este efecto se atenúa cuando las células se tratan con anticuerpos anti-NGF o con un inhibidor de la actividad cinasa de tirosinas de Trk-A como es el K252a. Además, la administración de anticuerpos anti-NGF o de K252a a ratas, bloquea la ovulación inducida por gonadotrofina sérica de yegua preñada (PMSG).<sup>35</sup> Estos datos también sugieren que el NGF participa en la ovulación.

Utilizando células de la teca de folículos preovulatorios de bovino y transfectadas con el gen del Trk-A,<sup>37</sup> se observó que el NGF induce la fosforilación en serinas de la conexina 43 en estas células. La conexina 43 es la principal proteína constituyente de las uniones comunicantes en los folículos preovulatorios. La fosforilación de la conexina 43 por NGF induce una ruptura de la comunicación entre las células de la teca. Lo anterior se observó al reducirse la habilidad de estas células para transferir marcadores fluorescentes entre ellas por las uniones comunicantes.<sup>38</sup> Estos resultados sugieren que la activación de los receptores Trk-A por el NGF induce pérdida de la adhesión celular que ocurre en la pared folicular antes de la ovulación (Figura 3A).

## **EL CONTROL NEUROTRÓFICO EN EL DESARROLLO DEL PÁNCREAS**

El páncreas es una glándula mixta, es decir, está constituida por una porción exocrina y una endocrina. La porción exocrina incluye a las células de los conductos y a las células acinares. Mientras que la porción endocrina está formada por los islotes pan-

creáticos, que son agregados formados por cuatro tipos celulares distintos, que incluyen:

- Células  $\beta$  productoras de insulina.
- Células  $\alpha$  productoras de glucagón.
- Células  $\delta$  productoras de somatostatina.
- Células PP productoras de polipéptido pancreático.

### **El NGF en el desarrollo del páncreas**

No se conoce mucho sobre el papel del NGF en el desarrollo del páncreas. Se sabe que el Trk- A, receptor del NGF, se expresa en los islotes de rata fetal y en las células del conducto pancreático durante el desarrollo fetal.<sup>39</sup> Esta expresión persiste al nacimiento y en la edad adulta sólo se expresa en las células  $\beta$ .<sup>39</sup> El NGF participa en la morfogénesis del islote, ya que el uso del K252a retarda significativamente la morfogénesis de islotes *in vitro*.<sup>6</sup> Sin embargo, se desconoce si las células del islote fetal sintetizan y secretan el NGF o si este factor proviene de algún otro tejido.

Por otro lado, existen evidencias de que el NGF incrementa la inervación simpática del páncreas bajo circunstancias no fisiológicas. En un modelo de ratón transgénico de NGF específico de las células  $\beta$  pancreáticas, se observó desde la etapa fetal de la rata una hiperinervación simpática de los islotes pancreáticos.<sup>40</sup> Además, el tratamiento local con NGF incrementa la inervación simpática en islotes transplantados a ratas diabéticas.<sup>41</sup> Estos datos sugieren que el NGF podría tener una participación en la ontogenia del páncreas y en el desarrollo de su inervación simpática (Figura 3B).

### **EL CONTROL NEUROTRÓFICO EN LA FUNCIÓN DEL PÁNCREAS**

#### **El NGF en la función de la célula $\beta$ pancreática**

Resultados de nuestro laboratorio han demostrado que las células  $\beta$  de rata adulta sintetizan y secretan NGF, en respuesta al aumento en la concentración de glucosa extracelular.<sup>7</sup> Además, el NGF también se expresa en las células  $\beta$  de islotes de humano adulto.<sup>42</sup> Las células  $\beta$  adultas cultivadas por cinco días y tratadas con NGF, secretan más insulina en respuesta a la estimulación con 20.6 mM de glucosa que con 5.6 mM.<sup>43</sup> Esto se explica, al menos en parte, porque el tratamiento a largo plazo de las células  $\beta$  adultas con NGF, incrementa la densidad de las corrientes de sodio y calcio tipo L sensibles al voltaje<sup>44,45</sup> y

las corrientes de calcio ( $Ca^{2+}$ ) a través de los canales de  $Ca^{2+}$ .<sup>46</sup>

Cuando se cultivan células  $\beta$  con K252a hay una disminución del RNAm de insulina, así como de su secreción,<sup>47</sup> lo que demuestra que el NGF modula positivamente su biosíntesis y su secreción. Otros resultados de nuestro laboratorio y de otros autores demuestran que el NGF es un importante regulador de la sobrevivencia de las células  $\beta$  aisladas,<sup>47</sup> así como de islotes *in vitro*.<sup>48</sup> Además, ratas tratadas con estreptozotocina (un fármaco que puede inducir apoptosis de las células  $\beta$ ) presentan un incremento en la expresión del gen del NGF y en su secreción por las células  $\beta$ .<sup>49</sup> Esto sugiere que el NGF induce efectos protectores en la sobrevivencia de las células  $\beta$  tanto *in vitro* como *in vivo*.

Por último, nuestro grupo también ha demostrado que el NGF es capaz de modular la plasticidad de la célula  $\beta$ , ya que promueve el crecimiento de procesos celulares parecidos a neuritas en cultivos primarios de células insulares adultas y fetales, efecto que se potencia con un análogo permeable del AMPc, el dibutiril AMPc (dbcAMP).<sup>43</sup>

### **El BDNF en la función de células insulares**

Estudios de inmunohistoquímica en cortes de páncreas de ratón, pato y lagartija, han demostrado que el BDNF se colocaliza con el glucagón en las células  $\alpha$  del islote pancreático.<sup>50</sup> Asimismo, el receptor Trk-B ha sido observado específicamente en las células  $\alpha$  de islotes pancreáticos de ratón<sup>51</sup> y de humanos.<sup>52</sup>

La inyección subcutánea de BDNF a ratones obesos y diabéticos (db/db) reduce los niveles de glucosa plasmática.<sup>53</sup> Se postula que este efecto se lleva a cabo, al incrementar la concentración de insulina pancreática y disminuir la de glucagón. Además, en estos mismos ratones inyectados, el BDNF induce una organización de la arquitectura del islote (células  $\beta$  en el centro y  $\alpha$  en la periferia), misma que no se observa en los ratones db/db controles. También, incrementa la masa de células  $\beta$ , así como el número de sus gránulos secretorios y disminuye la masa de células no  $\beta$  (células  $\alpha$  y  $\delta$ ). Todo esto sugiere que el BDNF previene el mal funcionamiento del páncreas en el ratón db/db al mantener una mejor organización histológica del islote y restaurar los niveles de gránulos secretorios en las células  $\beta$ .<sup>54</sup>

Por último, cultivos de islotes aislados de páncreas de ratones silvestres durante siete días y tratados con 10 ng/mL de BDNF demostraron una disminución significativa en la secreción de gluca-

gón al compararla con sus controles.<sup>51</sup> Esto sugiere que el BDNF es uno de los reguladores negativos de la secreción de glucagón, hormona contrarreguladora de las acciones de la insulina (Figura 3B).

## CONCLUSIONES

La maduración del ovario requiere la participación del NGF, el BDNF y la NT 4/5. Estas NTs parecen tener funciones complementarias en la foliculogénesis al regular la proliferación y la diferenciación de las células que constituyen el folículo ovárico, las cuales incluyen a las células mesenquimatosas, a las células de la granulosa y al ovocito. Observaciones tanto en ovarios de roedores como ovarios humanos, así lo sugieren. En los folículos preovulatorios humanos se ha observado mediante inmunohistoquímica la presencia de las NTs NGF, BDNF, NT3 y NT4; además de sus receptores Trk-A, Trk-B y Trk-C en las células de la granulosa y óvulos de estos folículos.<sup>55</sup>

Asimismo, es clara la participación del NGF en la ovulación al inducir la pérdida de la adhesión celular en la pared del folículo ovárico.<sup>38</sup> Por otro lado, estudios recientes *in vitro* e *in vivo* en cultivos, han demostrado que el NGF incrementa la biosíntesis del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) promoviendo así la angiogénesis en los ovarios.<sup>56</sup>

Las evidencias descritas anteriormente establecen con claridad la participación de las NTs en el desarrollo y la función del ovario. Estas acciones son ejercidas por la unión de la NTs a sus receptores, los Trk y el p75. La activación de estos receptores induce una serie de señales intracelulares de sobrevivencia y desarrollo de las células que los expresan, además de señales de apoptosis celular.

En el páncreas adulto, la participación de las NTs en su función también es clara. Sin embargo, su participación en su desarrollo y función durante etapas tempranas aún requiere de muchos estudios. Kanaka y cols. observaron que islotes en etapa embrionaria cultivados y tratados con K252a (inhibidor del receptor TrkA), retardan significativamente su morfogénesis, lo que demuestra la participación del NGF en este proceso.<sup>6</sup>

Dos estudios sugieren que el desarrollo de la inervación simpática del islote está bajo la influencia del NGF. En un estudio los autores utilizaron un transgénico para el NGF específico de las células  $\beta$ <sup>40</sup> y en otro, los islotes transplantados a ratas diabéticas contienen un disco de liberación prolongada de NGF.<sup>41</sup> En ambos estudios se observó hiperinervación simpática, pero ninguno deja claro si las células insulares duran-

te las etapas fetal, posnatal ya secretan fisiológicamente el NGF, como lo hace las células  $\beta$  adultas.<sup>7</sup> Esto no permite esclarecer si la fuente endógena del NGF es la que interviene en la hiperinervación. En nuestro laboratorio estamos muy interesados en estudiar si en condiciones fisiológicas las células insulares desde las etapas fetal y posnatal sintetizan y secretan NGF. En caso de hacerlo, estudiaremos el papel del NGF en el desarrollo de inervación simpática del islote y si esta inervación participa en su morfogénesis.

Es interesante saber que en los islotes pancreáticos de humano también se expresa el NGF.<sup>42</sup> Esto sugiere que las funciones en la biosíntesis de la insulina y en su secreción, también estarían moduladas por el NGF como se ha visto en la rata. En los últimos años ha incrementado el interés por estudiar a las NTs en el humano, ya que su deficiencia o incremento tisular esta relacionada a algunas enfermedades.

Se han observado elevados niveles de NGF y BDNF séricos en fluido alveolar en pacientes con asma bronquial.<sup>57,58</sup> Los niveles incrementados de NGF en este fluido pueden estimular la producción de neuropéptidos como la sustancia P o la neurocina A y B, que inducen la activación de linfocitos, eosinófilos, basófilos y macrófagos, potenciando la respuesta inflamatoria. A este fenómeno se le denomina inflamación neural.<sup>57</sup> También, en pacientes con rinitis alérgica se ha observado una fuerte asociación entre la inflamación eosinofílica y los niveles de NGF, no así con los de NT-3.<sup>59</sup>

Los niveles séricos de NGF están elevados en niños con lupus eritematoso sistémico y se correlacionan con la actividad de la enfermedad.<sup>60</sup> Estos resultados sugieren que el NGF juega un papel en la patogénesis de la enfermedad y puede ser de valor pronóstico para evaluar el curso de la enfermedad. Por otro lado, se ha observado una correlación entre los niveles bajos de NGF séricos y una disminución en la velocidad de conducción nerviosa motora en pacientes con neuropatía diabética.<sup>61</sup> Otros estudios han relacionado un polimorfismo en donde hay un cambio de un aminoácido valina por un metionina (Val66Met) en el gen que codifica para BDNF con depresión geriátrica,<sup>62</sup> desorden bipolar<sup>63</sup> y esquizofrenia.<sup>64</sup>

Existen muchas evidencias de que las NTs participan en el desarrollo, mantenimiento y sobrevivencia de neuronas del sistema nervioso autónomo, células de la glía y ologodendrocitos. Un decremento en su concentración podría inducir muerte neuronal y participar en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson, Huntington y esclerosis lateral amiotrófica. Algunos modelos ani-

males de este tipo de padecimientos han demostrado un mejoramiento de los síntomas cuando son tratados con NTs, lo que sugiere que podrían ser candidatos de uso como tratamiento en humanos con estas patologías.

Sin embargo, el uso de la NTs en la práctica clínica es muy limitado dada toda la serie de señales inducidas por estos factores. Resultados de un estudio clínico en fase 1 en pacientes con Alzheimer tratados con NGF, no son muy alentadores. A estos pacientes les implantaron fibroblastos autólogos modificados genéticamente para expresar NGF humano en la región de los núcleos basales. Sólo dos de seis pacientes tratados con NGF mejoraron parcialmente algunos aspectos de sus funciones cognitivas.<sup>65</sup>

Asimismo, una desregulación de las señales celulares inducidas por las NTs puede contribuir al desarrollo de algunos tipos de cánceres. Mientras que la sobreexpresión de NGF, NT3, p75 y TrkC en ciertos melanomas y de NGF y TrkA en cáncer de mama induce el crecimiento del tumor; la sobreexpresión de NGF y de p75 en el cáncer de próstata lo inhibe. Por lo tanto, el uso de las NTs en la terapia de ciertos cánceres puede ser benéfico o perjudicial dependiendo del tipo histológico del tumor.<sup>66</sup>

En esta revisión he descrito algunos mecanismos celulares y moleculares que demuestran un papel importante de las NTs en el desarrollo y la función del ovario y del páncreas. Además, los datos descritos muestran la importancia de realizar mayores estudios de la participación de las NTs en la fisiología y la fisiopatología de órganos del sistema neuroinmunoendocrino; así como de sus posibles, aunque por el momento limitados usos terapéuticos en enfermedades neurodegenerativas y cánceres.

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Marcia Hiriart, por su apoyo académico y en la revisión y comentarios de este artículo. Al Dr. Gabriel Gutiérrez O., por su apoyo académico. A la UABJO, a PROMEP, a la DGEPE y a CONACYT, por su apoyo económico (beca de Doctorado No. 185762, 2005-2008). Al IFC de la UNAM. A mis compañeros de laboratorio, Cristina Aguayo M, Víctor Navarro T, Carmen Sánchez S, Félix Sierra R. Al servicio de Medicina Transfusional del INCMNSZ. A Araceli, a Dafne, a Emiliano y a Manuel por su cariño.

## REFERENCIAS

1. Bibel M, Barde YA. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes and Development* 2000; 14: 2919-37. Review.
2. Aloe L, Levi MR. The discovery of nerve growth factor and modern neurobiology. *Trends Cell Biol* 2004; 14(7): 395-9.
3. Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006; 361(1473): 1545-64. Review.
4. Dissen GA, Romero C, Paredes A, Ojeda SR. Neurotrophic control of ovarian development. *Microscopy Research and Technique* 2002; 59: 509-15. Review.
5. Muller D, Davidoff MS, Bargheer O, Paust HJ, Pusch W, Koeva Y, et al. The expression of neurotrophins and their receptors in the prenatal and adult human testis: evidence for functions in Leydig cells. *Histochem Cell Biol* 2006; 126(2): 199-211.
6. Kanaka GC, Dicou E, Czernichow P, Scharfmann R. Presence of nerve growth factor and its receptors in an *in vitro* model of islet cell development: Implication in normal islet morphogenesis. *Endocrinology* 1995; 136(7): 3154-62.
7. Rosenbaum T, Vidaltamayo R, Sánchez SMC, Zentella A, Hiriart M. Pancreatic β cells synthesize and secrete nerve growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 7784-88.
8. Lu Bai, Pang PT, Woo NH. The yin and yang of neurotrophin action. *Nature Reviews Neuroscience* 2005; 6: 603-14.
9. Kalb R. The protean actions of neurotrophins and their receptors on the life and death of neurons. *Trends Neurosci* 2005; 28(1): 5-11. Review.
10. Patapoutian A, Reichardt LF. Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Current Opinion in Neurobiology* 2001; 11: 272-80. Review.
11. Chao MV. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signaling pathways. *Nature reviews Neuroscience* 2003; 4: 299-309.
12. Yamashita T, Fujitani M, Hata K, Mimura F, Yamagishi S. Diverse functions of the p75 neurotrophin receptor. *Anat Sci Int* 2005; 80(1): 37-41. Review.
13. Hempstead BL. The many faces of p75NTR. *Curr Opin Neurobiol* 2002; 12(3): 260-7. Review.
14. Lee R, Kermani P, Teng KK, Hempstead BL. Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science* 2001; 294(5548): 1945-8.
15. Kaplan DR, Miller FD. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Current Opinion in Neurobiology* 2000; 10: 381-91. Review.
16. Arevalo JC, Pereira DB, Yano H, Teng KK, Chao MV. Identification of a switch in neurotrophin signaling by selective tyrosine phosphorylation. *The Journal of biological chemistry* 2006; 281(2): 1001-07.
17. Mamidipudi V, Wooten MW. Dual role for p75 (NTR) signaling in survival and cell death: can intracellular mediators provide an explanation? *J Neurosci Res* 2002; 15; 68(4): 373-84. Review.
18. Maggiwar SB, Sarmiere PD, Dewhurst S, Freeman RS. Nerve growth factor-dependent activation of NFkB contributes to survival of sympathetic neurons. *J Neurosci* 1998; 18: 10356-65.
19. Hamanoue M, Middleton G, Wyatt S, Jaffray E, Hay RT, Davies AM. p75-mediated NFkB activation enhance the survival response of developing sensory neurons to nerve growth factor. *Mol Cell Neurosci* 1999; 14: 28-40.
20. Muller G, Storz P, Bourtelle S, Doppler H, Pfizenmaier K, Mischnak H, et al. Regulation of Raf-1 kinase by TNF via its second messenger ceramide and crosstalk with mitogenic signalling. *EMBO J* 1998; 17: 732-42.
21. Zundel W, Swiersz LM, Giaccia A. Caveolin 1-mediated regulation of receptor tyrosine kinase-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity by ceramide. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 1507-14.
22. Bilderback TR, Gazula VR, Dobrowsky RT. Phosphoinositide 3-kinase regulates crosstalk between Trk A tyrosine kinase and

- p75 (NTR)-dependent sphingolipid signaling pathways. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; 76(5): 1540-51.
23. Dissen GA, Newman Hirshfield A, Malamed S, Ojeda SR. Expression of neurotrophins and their receptors in the mammalian ovary is developmentally regulated: changes at the time of folliculogenesis. *Endocrinology* 1995; 136: 4681-92.
  24. Spears N, Molinek MD, Robinson LL, Fulton N, Cameron H, Shimoda K, et al. The role of neurotrophin receptors in female germ-cell survival in mouse and human. *Development* 2003; 130: 5481-91.
  25. Anderson RA, Robinson LL, Brooks J, Spears N. Neurotrophins and their receptors are expressed in the human fetal ovary. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 87(2): 890-7.
  26. Dissen GA, Romero C, Newman HA, Ojeda SR. Nerve growth factor is required for early follicular development in the mammalian ovary. *Endocrinology* 2001; 142: 2078-86.
  27. Hirshfield AN. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol* 1991; 124: 43-101. Review.
  28. Mayerhofer A, Dissen GA, Costa ME, Ojeda SR. A role for neurotransmitters in early follicular development: Induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology* 1997; 138: 3320-9.
  29. Romero C, Paredes A, Dissen GA, Ojeda SR. Nerve growth factor induces the expression of functional FSH receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology* 2002; 143: 1485-94.
  30. Salas C, Pieper MJ, Valladares M, Pommer R, Vega M, Mastromandri C, et al. Nerve growth factor-dependent activation of trkB receptors in the human ovary results in synthesis of follicle-stimulating hormone receptors and estrogen secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(6): 2396-403.
  31. Ojeda SR, Romero C, Tapia V, Dissen GA. Neurotrophic and cell-cell dependent control of early follicular development. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 163(1-2): 67-71.
  32. Paredes A, Romero C, Dissen GA, DeChiara TM, Reichardt L, Cornea A, et al. TrkB receptors are required for follicular growth and oocyte survival in the mammalian ovary. *Developmental Biology* 2004; 267: 430-49.
  33. Brannstrom M, Enskog A. Leukocyte networks and ovulation. *J Reprod Immunol* 2002; 57(1-2): 47-60. Review.
  34. Richards JS. Ovulation: new factors that prepare the oocyte for fertilization. *Mol Cell Endocrinol* 2005; 234(1-2): 75-9. Review.
  35. Dissen GA, Hill DF, Costa ME, Dees WL, Lara HE, Ojeda SR. A role for TrkA nerve growth factor receptor in mammalian ovulation. *Endocrinology* 1996; 137: 198-209.
  36. Hurwitz A, Ricciarelli E, Botero L, Rohan RM, Hernandez ER, Adashi EY. Endocrine -and autocrine- mediated regulation of rat ovarian (teca-interstitial) interleukin-1 $\beta$  gene expression: Gonadotropin-dependent preovulatory acquisition. *Endocrinology* 1991; 129: 3427-9.
  37. Dissen GA, Parrott JA, Skinner MK, Hill DF, Costa ME, Ojeda SR. Direct effects of nerve growth factor on thecal cells from antral ovarian follicles. *Endocrinology* 2000; 141: 4736-50.
  38. Mayerhofer A, Dissen GA, Parrott JA, Hill DF, Mayerhofer D, Garfield RE, et al. Involvement of nerve growth factor in the ovulatory cascade: TrkA receptor activation inhibits gap junctional communication between thecal cells. *Endocrinology* 1996; 137(12): 5662-70.
  39. Kanaka GC, Tazi A, Czernichow P, Scharfmann R. In vivo presence of the high affinity nerve growth factor receptor TrkA in the rat pancreas: Differential localization during pancreatic development. *Endocrinology* 1995; 136(2): 761-9.
  40. Edwards RH, Rutter WJ, Hanahan D. Directed expression of NGF to pancreatic beta cells in transgenic mice leads to selective hyperinnervation of the islet. *Cell* 1989; 58(1): 161-70.
  41. Reimer MK, Mokshagundam SP, Wyler K, Sundler, Ahren B, Stagner JI. Local growth factors are beneficial for the autonomic reinnervation of transplanted islet in rats. *Pancreas* 2003; 26(4): 392-7.
  42. Vidaltamayo R, Mery CM, Angeles AA, Robles DG, Hiriart M. Expression of nerve growth factor in human pancreatic  $\beta$  cells. *Growth Factors* 2003; 21(3-4): 103-7.
  43. Vidaltamayo R, Sánchez SMV, Rosenbaum T, Martínez MT, Hiriart M. Neuron-like phenotypic changes in pancreatic  $\beta$ -cells induced by NGF, FGF, and dbcAMP. *Endocrine* 1996; 4(1): 19-26.
  44. Rosenbaum T, Vidaltamayo R, Sánchez HD, Hiriart M. Nerve growth factor increases sodium current in pancreatic  $\beta$  cell. *J Membr Biol* 1996; 153: 53-8.
  45. Rosenbaum T, Castaño DT, López VHE, Hiriart M. Nerve growth factor increases L-type calcium current in pancreatic  $\beta$  cells in culture. *J Membr Biol* 2002; 186(3): 177-84.
  46. Rosenbaum T, Sánchez SMC, Hiriart M. Nerve growth factor increases insulin secretion and barium current in pancreatic  $\beta$ -cells. *Diabetes* 2001; 50: 1755-62.
  47. Navarro TV, Sánchez SMC, García S, Hiriart M. Autocrine regulation of single pancreatic beta-cell survival. *Diabetes* 2004; 53(8): 2018-23.
  48. Miao G, Mace J, Kirby M, Hopper A, Peverini R, Chinnock R, et al. Beneficial effects of nerve growth factor on islet transplantation. *Transplant Proc* 2005; 37(8): 3490-2.
  49. Larrieta ME, Vital P, Mendoza RA, Carbon M, Hiriart M. Nerve growth factor increases in pancreatic  $\beta$  cells after streptozotocin-induced damage in rats. *Exp Biol Med* 2006; 231(4): 396-402.
  50. Lucini C, Maruccio L, De Girolamo P, Castaldo L. Brain-derived neurotrophic factor in higher vertebrate pancreas: immunolocalization in glucagon cells. *Anatomy and Embriology* 2003; 4: 311-8.
  51. Hanyu O, Yamatani K, Ikarashi T, Soda S, Maruyama S, Kamimura T, et al. Brain-derived neurotrophic factor modulates glucagon secretion from pancreatic alpha cells: its contribution to glucose metabolism. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2003; 5: 27-37.
  52. Shibayama E, Koizumi H. Cellular localization of the Trk neurotrophin receptor family in human non-neuronal tissues. *Am J Pathol* 1996; 148(6): 1807-18.
  53. Ono M, Ichihara J, Nonomura T, Itakura Y, Taiji M, Nakayama C, Noguchi H. Brain derived neurotrophic factor reduces blood glucose level in obese diabetic mice but not in normal mice. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 18: 633-7.
  54. Yamanaka M, Itakura Y, Inoue T, Tsuchida A, Nakagawa T, Noguchi H, Taiji M. Protective effect of brain-derived neurotrophic factor on pancreatic islets in obese diabetic mice. *Metabolism* 2006; 55(10): 1286-92.
  55. Seifer DB, Feng Bo, Shelden RM. Immunocytochemical evidence for the presence and location of the neurotrophin-Trk receptor family in adult human preovulatory ovarian follicles. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2006; 194: 1129-36.
  56. Pieper MJ, Lara HE, Bravo JA, Romero C. Effects of nerve growth factor (NGF) on blood vessels area and expression of the angiogenic factors VEGF and TGF $\beta$  in the rat ovary. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2006; 4(57). Published online.
  57. Nockher WA, Renz H. Neurotrophins in allergic diseases: from neuronal growth factors to intercellular signaling molecules. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117(3): 583-9. Review.

58. Rochlitzer S, Nassenstein C, Braun A. The contribution of neurotrophins to the pathogenesis of allergic asthma. *Biochem Soc Trans* 2006; 34: 594-9. Review.
59. Kobayashi H, Gleich GJ, Butterfield JH, Kita H. Human eosinophils produce neurotrophins and secrete nerve growth factor on immunologic stimuli. *Blood* 2002; 99(6): 2214-20.
60. Aalto K, Korhonen L, Lahdenne P, Pelkonen P, Lindholm D. Nerve growth factor in serum of children with systemic lupus erythematosus is correlated with disease activity. *Cytokine* 2002; 20(3): 136-9.
61. Faradji V, Sotelo J. Low serum levels of nerve growth factor in diabetic neuropathy. *Acta Neurol Scand* 1990; 81(5): 402-6.
62. Hwang JP, Tsai SJ, Hong CJ, Yang CH, Lirng JF, Yang YM. The Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic-factor gene is associated with geriatric depression. *Neurobiol Aging* 2006; 27(12): 1834-7.
63. Sklar P, Gabriel SB, McInnis MG, Bennett P, Lim YM, Tsan G, et al. Family-based association study of 76 candidate genes in bipolar disorder: BDNF is a potential risk locus. *Mol Psychiatry* 2002; 7(6): 579-93.
64. Neves PM, Cheung JK, Pasdar A, Zhang F, Breen G, Yates P, et al. BDNF gene is a risk factor for schizophrenia in a Scottish population. *Mol Psychiatry* 2005; 10(2): 208-12.
65. Tuszyński MH, Thal L, Pay M, Salmon DP, U HS, Bakay R, et al. A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease. *Nat Med* 2005; 11(5): 551-5.
66. Kruttgen A, Schneider I, Weis J. The dark side of the NGF family: neurotrophins in neoplasias. *Brain Pathol* 2006; 16(4): 304-10.

*Reimpresos:*

**M. en C. Siraam Cabrera-Vásquez**

Departamento de Biofísica,  
Instituto de Fisiología Celular, UNAM.  
AP 70-253,  
04510, México, D.F.,  
Tel.: 5622-56-65  
Fax: 5622-5607  
Correo electrónico: scabrera@ifc.unam.mx

Recibido el 5 de octubre de 2006.

Aceptado el 22 de marzo de 2007.