



que el núcleo parabraquial del tronco juega un papel importante en el caso de la estimulación con frecuencias altas.

La figura 2 muestra un esquema simplificado de las posibles vías nerviosas (y neuropéptidos) que median la analgesia inducida por la electroacupuntura de baja y alta frecuencia. Los impulsos aferentes inducidos por la acupuntura serían transmitidos desde la superficie del cuerpo a través de fibras mielínicas (del tipo Ab y Ad; no mostrado en el esquema) hacia el hipotálamo o el núcleo parabraquial, según la frecuencia de la estimulación. Ambas regiones conectarían con PAG, que ocupa un lugar central y es común para ambos sistemas descendentes. El incremento en la liberación de encefalina o dinorfina a nivel del asta dorsal de la médula espinal provocaría la inhibición de las neuronas de proyección de la médula, disminuyendo de esta forma la percepción del dolor.

A pesar de que existen todavía ciertos aspectos de la acupuntura que son difíciles de

receptores), lo que venía a demostrar que el efecto analgésico estaba mediado por dichos opioides.

Se ha sugerido que en la analgesia inducida por la electroacupuntura de baja o de alta frecuencia están implicadas diferentes regiones del encéfalo. Ciertos núcleos hipotalámicos (como el núcleo arqueado) parecen estar involucrados en el caso de la estimulación con frecuencias bajas, mientras

encajar en nuestros esquemas tradicionales, las investigaciones sobre los mecanismos moduladores del dolor parecen demostrar que es posible facilitar la liberación de ciertos neuropéptidos en el sistema nervioso central mediante la estimulación eléctrica periférica, activando de esta forma los mecanismos de control del organismo.

SEÑALES WNT PARA LA INDUCCIÓN DE LA CRESTA NEURAL

Ramón Muñoz-Chápuli

Uno de los rasgos más característicos de los vertebrados, más incluso que las vértebras que dan nombre al grupo, es la cresta neural. Se ha llegado a decir, con cierta exageración, que la cresta neural es lo único realmente interesante que tienen los vertebrados. También se la ha llamado la «cuarta hoja blastodérmica», colocándola en pie

de igualdad con ectodermo, mesodermo y endodermo. La verdad es que este conjunto de células embrionarias resulta fascinante por su origen, en la zona límite entre el ectodermo y la placa neural, por su capacidad migradora, que las hace extenderse rápidamente por todo el cuerpo, y sobre todo por su pluripotencialidad. Las células de

la cresta neural no sólo se diferencian en las neuronas del sistema nervioso periférico (simpático y parasimpático) y en las de los ganglios sensoriales de la raíz dorsal, sino que también dan lugar a la glía correspondiente, a los cromatóforos (los melanocitos de la piel en nuestro caso), a buena parte del tejido conectivo y del esqueleto facial, incluyendo las papilas dentarias, al esqueleto visceral (branquial), a la musculatura lisa de algunos grandes vasos como la aorta, al septo aorticopulmonar que divide el tracto de salida cardiaco, y a células endocrinas como las de la médula adrenal o las células C del tiroides, productoras de calcitonina. Desde el punto de vista de los derivados a los que da lugar, la cresta neural desempeña por tanto un papel intermedio entre el neuroectodermo (neuronas, glía) y el mesodermo (esqueleto, musculatura). En cualquier caso la cresta neural es un sistema excelente para estudiar procesos celulares fundamentales, como son los de la transición epitelio-mesénquima, la adquisición de propiedades migratorias, la diferenciación en respuesta a señales del entorno y la formación de patrones.

Se conocen relativamente poco los mecanismos que inducen la cresta neural a partir de sus precursores localizados en los márgenes de la placa neural. Recordemos que la placa neural es la zona más dorsal del ectodermo del embrión temprano de vertebrados. Por diversos mecanismos esta placa se curva y se hunde dentro del cuerpo del embrión, dando lugar al tubo neural. En algún momento de este proceso, dependiendo del grupo de vertebrados, las células del margen de la placa pierden su carácter epitelial, adquieren motilidad y migran por dos vías principales, una superficial, entre los somitos y la epidermis, y otra en profundidad. Pero como decíamos, se sabe o se sabía relativamente poco sobre las señales implicadas en el inicio del proceso. Sí se conocía que la participación del ectodermo era fundamental. Una placa neural aislada en un medio de cultivo no produce células de la cresta neural, salvo si se cocultiva con ectodermo. También se sabía que la inducción neural en el ectodermo requiere la inhibición de la vía de señalización por BMPs (*Bone Morphogenetic Proteins*, factores de crecimiento de la superfamilia TGF β). De esta forma antagonistas de BMP como Noggin inducen neuralización del ectodermo. En el embrión de pollo se había mostrado un mecanismo similar de represión de la vía BMP por FGFs (*Fibroblast Growth Factors*) y por Wnts, una familia de glucoproteínas muy importantes en la generación de patrones espaciales, como luego veremos.

Una vez comprobado que las señales de la vía

BMP deben ser reprimidas para la inducción del tejido neural, se planteaba la cuestión de si una represión parcial, en los bordes de la placa, podría inducir la cresta neural. Sin embargo se comprobó que, al menos en embriones de ave y en ensayos *in vitro*, esto no era posible. La inducción de la cresta neural en estos ensayos muestra dos fases, una en la que participa una señal de tipo BMP y otra que puede ser iniciada por FGFs, ácido retinoico o Wnts. También se sabía que es en esta fase en la que se produce la interacción entre la placa neural y el ectodermo. En cualquier caso, los BMPs no bastan para inducir por sí solos la cresta neural. Por si fuera poco, BMP4 y BMP7, los candidatos propuestos, tienen un patrón de expresión que casa mal con un papel inductor, ya que se expresan más en los bordes de la placa neural que en el ectodermo, es decir, más en el receptor de la hipotética señal que en el emisor.

Un trabajo recientemente publicado podría haber resuelto la cuestión acerca de la señal que el ectodermo produce para la inducción de la cresta neural en embriones de pollo [García-Castro et al., *Science* **297**:848-851 (2002)]. El grupo de Marianne Bronner-Fraser en el Caltech de Pasadena comenzó por buscar proteínas de la familia Wnt (se conocen 19 en humanos) que se expresaran en el ectodermo adyacente a la placa neural y en el momento de la diferenciación de la cresta neural. Entre los candidatos ensayados Wnt6 mostró el patrón de expresión más adecuado. A partir de esta evidencia, los experimentos mostraron, uno tras otro, la implicación de Wnt6 y, en general, de la vía de señalización por Wnt, en la inducción de la cresta neural. Por ejemplo cuando se inyectaron en la placa neural o en el tubo en formación células modificadas genéticamente para expresar un Wnt1 dominante negativo (una forma alterada de Wnt1 que bloquea la vía de señalización uniéndose a los receptores, correceptores o a los propios Wnts), se inhibió la expresión de Slug y HNK-1, marcadores de la cresta neural. Cuando se cultivaron explantes aislados de placa neural con BMP no se produjo, como es lógico, la expresión de marcadores de cresta neural ni la migración de células del explante, a menos que el medio estuviera enriquecido con factores de crecimiento. Sin embargo, cuando el medio de cultivo estaba condicionado por células S₂ de *Drosophila*, transfectadas para secretar *Wingless* (el homólogo de *Wnt-1* en la mosca del vinagre), el explante produjo células migradoras que expresaban marcadores de cresta neural. Esto sucedió incluso cuando se utilizaban medios mínimos de cultivo. Este resultado es muy significativo, ya que el medio condicionado por células S₂ de *Drosophila*

dispara el mecanismo de señalización por Wnts en varios sistemas de células de vertebrados. Los experimentos de control, en fin, mostraron que es la activación de este sistema la señal necesaria y suficiente para poner en marcha la diferenciación de la cresta neural.

Recordemos que la vía canónica de señalización por Wnts implica la activación de receptores Frizzled, la estabilización de la β -catenina citoplasmática cuya degradación es inhibida, su traslocación al núcleo y su unión a cofactores TCF/LEF para actuar como factor de transcripción. De hecho, β -catenina se localiza en el núcleo de las células de la placa neural inducidas para formar cresta neural y se sabe además que, en *Xenopus*, la sobreexpresión de β -catenina produce un exceso de formación de

cresta neural.

En resumen, la importantísima vía de señalización por Wnts, en concreto la mediada por Wnt6, parece ser clave en la inducción de la cresta neural, uno de los procesos fundamentales del desarrollo de vertebrados. Esto se añade a una larga lista de procesos de desarrollo regulados por Wnts, que van desde la polaridad de segmentos en *Drosophila* al establecimiento de patrones dorsoventrales en vertebrados pasando por la formación del patrón anteroposterior del tubo nervioso. Resulta realmente fascinante que un mismo sistema de señales sea reclutado por procesos tan distantes entre sí, en una nueva muestra de «economía de la naturaleza».