

Modelos experimentales de neurodegeneración: Tratamiento restaurativo y factor de crecimiento nervioso

Lorigados Pedre Lourdes,* Pavón Fuentes Nancy,[†] Serrano Sánchez Teresa,[‡]
Blanco Lescano Lisette,[§] Almaguer Melián William,[§] Fernández Verdecia Ivette,[§]
Macías González Raúl,^{||} de la Cuétara Bernal Karelys,[¶] Castillo Díaz Lázara,[¶]
Martínez Martí Lisis,^{**} Robinson Agramonte María de los A,[‡] Bergado Rosado Jorge^{††}

RESUMEN

Objetivos: Evaluar el contenido del NGF en tres modelos experimentales: hemiparkinsonismo, lesión estriatal y envejecimiento con déficit cognitivo en ratas y en pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA), Parkinson (EP) y Huntington (EH). Conocer el efecto que sobre los niveles de NGF tienen el trasplante y la terapia trófica, aplicadas en diferentes paradigmas de neurodegeneración. **Material y métodos:** El contenido del NGF en suero y en tejido nervioso fue medido por un ensayo inmunoenzimático y cada modelo experimental fue analizado conductualmente (prueba de la rotación inducida por D-anfetamina, laberinto acuático de Morris). En los diferentes modelos experimentales fue evaluada además, la afectación que produce en el contenido de NGF la aplicación de técnicas neurorestaurativas como el trasplante neural y la terapia neurotrófica intracerebroventricular. **Resultados:** Se evidenció la disminución en el contenido del NGF en pacientes con EP ($p < 0.01$) y EH ($p < 0.01$), siendo para la EP, menores en los estadios iniciales ($p < 0.01$) y normales en etapas avanzadas de la EP. Se comprobó que estos cambios no dependen del tratamiento antiparkinsoniano. De igual forma se observó un decremento de los niveles de NGF en todos los modelos experimentales estudiados y un incremento ($p < 0.05$) del NGF en el trasplante simultáneo en dos núcleos (estriado y núcleo subtalámico) en el modelo de 6-OHDA, así como en la lesión estriatal donde se observó un efecto protector del NGF en aquellas ratas tratadas dos días antes de la lesión ($p < 0.05$). La terapia restaurativa en el modelo de déficit cognitivo en ratas envejecidas mostró que la combinación del trasplante con la infusión intracerebral de NGF provocó un aumento en los niveles de NGF ($p < 0.001$). **Conclusión:** Existen alteraciones en los niveles de NGF en la EP y EH y están disminuidos en los modelos experimentales de neurodegeneración evaluados, los cuales se modifican por el uso de técnicas neurorestaurativas, especialmente en el caso en que se aplica de forma combinada el trasplante y la terapia trófica.

Palabras clave: enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, factor de crecimiento nervioso, neurodegeneración, trasplante, terapia trófica

Experimental models of neurodegeneration: Restorative treatment and nerve growth factor

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the nerve growth factor (NGF) content in three experimental models: hemiparkinsonian rats (6-OHDA), striatal lesion rats (quinolinic acid) and old rats with cognitive deficit; as well as in patient with Alzheimer's, Parkinson's and Huntington's diseases (AD, PD and HD). To analyze how NGF content is affected by the application of different neurorestorative therapies. **Material and methods:** The content of NGF (serum and central tissue) was measured by means of enzyme immunoassay and in experimental models was evaluated by behavioral methods as rotation induced by D-amphetamine and Morris's task. In each experimental models were evaluated the NGF level after the application of neurorestorative techniques like neural transplantation and the neurotrophic therapy (intracerebral infusion). **Results:** There is a decreased NGF level in PD and HD patients ($p < 0.01$). In the PD the NGF amount is related to the state of the diseases. The smaller NGF levels were observed in the initial stadiums of the disease ($p < 0.01$). We proved that these changes don't depend on the antiparkinsonian treatment. We also observed a decrement of the NGF levels in all experimental models while an increment ($p < 0.05$) of NGF in the simultaneous transplant in two nuclei (striatum and subthalamic nucleus) in the pattern of 6-OHDA was observed, as well as in the striatal lesion where a protective effect of the NGF was evidenced in rats treated two days before lesion ($p < 0.05$). The neurorestorative therapy in aged rats with cognitive deficit showed increase in the levels of NGF ($p < 0.001$) when was used the combination of the transplant with the NGF intracerebral infusion. **Conclusion:** There are alterations in the levels of NGF in the PD and HD. The NGF levels are diminished in the experimental models of neurodegeneration and these levels are modifying by the use of neurorestorative techniques, especially in the case that it is combined way the transplant and the trophic therapy.

Key words: Alzheimer's, Huntington's disease, Parkinson's disease, nerve growth factor, neurodegeneration, transplantation trophic therapy.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por un síndrome clínico definido, etiología, en la mayoría de los casos aún desconocida, tienen como factor de riesgo las edades avanzadas y se manifiestan con un curso progresivo y crónico.¹ El marcador patológico común para estos

* Jefe Dpto. de Neuroinmunoquímica, CIREN, Cuba.

† Jefe Lab. Neuroinmunología, CIREN, Cuba.

‡ Lab. Neuroinmunología, CIREN, Cuba.

§ Lab. Biomodelos, CIREN, Cuba.

|| Subdirector Ciencia y Tecnología, CIREN, Cuba.

¶ Lab. Cultivo, CIREN, Cuba.

** Lab. Morfología, CIREN, Cuba.

†† Jefe Dpto. Biomodelos, CIREN, Cuba.

trastornos es la pérdida de grupos de neuronas específicas, por ejemplo: la degeneración de las neuronas dopaminérgicas nigrales es un factor clave en la enfermedad de Parkinson;² en la enfermedad de Alzheimer lo es la pérdida degenerativa de neuronas septohipocampales, serotoninérgicas y corticales³ y en la enfermedad de Huntington la muerte de las neuronas gabaérgicas de proyección del estriado.⁴

Las neurotrofinas son proteínas que promueven la diferenciación, crecimiento y supervivencia de muchas poblaciones de neuronas periféricas y del SNC durante el desarrollo y la vida adulta.⁵ El Factor de Crecimiento Nervioso (del inglés: Nerve Growth Factor, NGF), es el miembro más conocido y estudiado de dicha familia, compuesta además, por el Factor de Crecimiento Derivado del Cerebro y las Neurotrofinas 3, 4/5, 6 y 76. En las últimas décadas se han realizado avances significativos en el conocimiento del papel biológico de estos factores, su caracterización molecular y regulación, así como sus mecanismos de señalización; sin embargo, poco se conoce sobre el papel que juegan los factores neurotróficos en la etiopatogenia de las enfermedades neurodegenerativas.

Los principales modelos experimentales que mimetizan los procesos neurodegenerativos en humanos han sido desarrollados en roedores y monos; en especial, la lesión nigral utilizando las neurotoxinas 6-hidroxidopamina y 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) reproducen las principales características de la enfermedad de Parkinson, mientras que la lesión de la vía septohipocampal y el envejecimiento cerebral con déficit cognitivo modela los trastornos de memoria observados en la enfermedad de Alzheimer. De igual forma, la lesión del estriado con ácido quinolínico es un buen biomodelo de la enfermedad de Huntington.⁷ En estos biomodelos se han probado múltiples técnicas terapéuticas neurorestaurativas y/o neurotróficas. Entre éstas se encuentra el trasplante, la terapia trófica o la combinación de ambas. Los hallazgos de las evaluaciones de dichos tratamientos en modelos experimentales de neurodegeneración sugieren efectos beneficiosos, así como la participación en estos procesos de mecanismos bioquímicos relacionados con el NGF.⁸⁻¹¹

Ya desde 1951 Levi-Montalcini propuso la Hipótesis Neurotrófica al plantear que la supervivencia neuronal específica es dependiente y regulada por factores neurotróficos sintetizados en cantidades limitadas por las áreas blanco.¹²

El objetivo fundamental de este trabajo es profundizar en el conocimiento sobre el papel del NGF en la etiopatogenia de las enfermedades neurodegenerativas, en especial, la posibilidad de dilucidar si se producen cambios en los niveles endógenos de NGF una vez que son aplicados determinados tratamientos neurorestaurativos como el trasplante y la terapia trófica sobre los niveles de NGF.

MATERIAL Y MÉTODOS

Modelos experimentales

Fueron empleadas 142 ratas Sprague-Dawley de dos grupos etarios: jóvenes (dos meses de edad) con un peso corporal de 272 ± 34.4 g (media \pm desviación estándar, DE) al inicio del experimento y viejas (20 meses de edad) con un peso corporal de 511 ± 46 g (media \pm DE) y 47 ratas Wistar con peso entre 225 ± 25 g (grupos experimentales de lesión nigral).

Durante los estudios se respetaron los principios establecidos por el Comité del Consejo Internacional para la Ciencia de los Animales de Laboratorio.

Criterio de selección de los pacientes

- **Pacientes con EA:** Las manifestaciones clínicas estaban dadas por pérdida de la memoria, fallo intelectual con deterioro cognitivo, trastornos de conducta y alteraciones de la personalidad. La selección se realizó de acuerdo al criterio del Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos, de Comunicación y Cerebrovasculares y la Asociación para la Enfermedad de Alzheimer y Trastornos Relacionados de los EEUU (NINCDS/ADRDA). En este estudio todos los pacientes con EA evaluados tenían diagnóstico de EA probable.
- **Pacientes con EP:** De acuerdo al diagnóstico clínico, presencia de temblor, bradiquinesia, rigidez y pérdida de reflejos posturales, se seleccionaron pacientes grado I, II, III y IV según la escala de Hoehn y Yahr.¹³
- **Pacientes con EH:** De acuerdo al diagnóstico clínico, análisis genético familiar, movimientos coreicos o coreoatetósicos y alteraciones tipo demencia.

Muestras de suero humano control

Se estudiaron (previo consentimiento) 30 sueros de sujetos supuestamente normales (16 del sexo femenino y 14 del sexo masculino) procedentes del Banco de Sangre (Marianao, C. de La Habana). Estos sujetos no tenían enfermedades neurológicas, endocrinas o inmunológicas ni antecedentes familiares de las mismas y no tomaban en el momento del estudio ningún medicamento.

La toma de las muestras de pacientes y controles a evaluar se realizó contando con el consentimiento informado dado por los pacientes y familiares a los responsables del ensayo clínico. El estudio fue aprobado por la Comisión de Ética del Centro Internacional de Restauración Neurológica (CIREN, Cuba).

Ensayo inmunoenzimático (EIE) para β -NGFm

La cuantificación de NGF se realizó mediante un EIE de doble sitio.¹⁴ Para el estudio de las muestras de suero humano normal se utilizó el mismo EIE con la diferencia que se empleó como estándar el β -NGFm obtenido en nuestras condiciones y que se añadió un nuevo control de especificidad con el objetivo de demostrar la inmunodetección de NGF en las muestras de suero. Este paso control consistió en la adición de un exceso de anticuerpo monoclonal anti- β -NGF (concentración final 500 ng/mL) a la muestra de suero, en pocillos paralelos.¹⁴

Métodos de lesión y técnicas neurorestaurativas en modelos experimentales

- **Lesión nigral y trasplante de células mesencefálicas fetales en diferentes núcleos de la base:** Las ratas fueron inyectadas estereotácticamente en sustancia negra parte compacta derecha con 6-OHDA (8 μ g/3 μ L de solución salina con ácido ascórbico 0.2 mg/mL, velocidad de flujo de 1 μ L/min) en las coordenadas establecidas.¹⁵ Se utilizaron suspensiones de células fetales de mesencéfalo ventral para el trasplante en diferentes núcleos y se inyectaron en las coordenadas establecidas para estriado, sustancia negra parte reticulada y núcleo subtalámico.
- **Lesión estriatal y tratamiento neurotrófico:** La lesión se realizó mediante la inyección de ácido quinolínico (225 nmoles en 2 μ L de NaCl 0.9%, pH 7.40) en el estriado derecho a partir de las coordenadas de esta área.¹⁵ El tratamiento neurotrófico (10 μ L de NGF 0.5 mg/mL disuelto en NaCl 0.9%, intraestriatal) siguió un proceder similar al anterior y se realizó 48 h antes (NGF→AQ), 48 h después (AQ→NGF) o inmediatamente después de la inyección con AQ (AQ+NGF).
- **Déficit colinérgico y tratamiento neurotrófico:**
 - a) **Ratas viejas con déficit cognitivo:** Aquellas ratas viejas con latencias de escape promedio superiores en 3 DE a la media de las latencias de escape promedio de un grupo de animales jóvenes en el laberinto acuático se consideraron con déficit cognitivo. A cada rata le fue implantada subcutáneamente entre las escápulas una bomba miniosmótica con una cánula de infusión dirigida al ventrículo lateral derecho [21]. Las minibombas se llenaron con 17 μ g de β -NGFm o citocromo c disueltos en NaCl 0.9%. A los 14 días de la cirugía, las ratas fueron anestesiadas y la minibomba fue reemplazada por otra que permaneció allí por otros 14 días.

- **Envejecimiento cerebral y técnica restaurativa:**

a) **Trasplante de suspensión de células septales:** Se inyectó una suspensión de células septales fetales de 3 μ L (35,000 cel/ μ L) a 1 μ L/min en tres localizaciones diferentes del hipocampo. El grupo experimental que recibió trasplante de suspensión de células septales e infusión ICV de NGF siguió este mismo proceder y a continuación se le implantó la bomba miniosmótica.

Evaluación conductual

- **Aprendizaje y memoria espacial (Laberinto acuático de Morris):** Esta prueba consiste en la medición del tiempo (latencia de escape) que demoran los animales en localizar una plataforma transparente sumergida 1 cm por debajo de la superficie del agua en una piscina circular. Pistas visuales rodean la plataforma. Una vez encontrada la plataforma se le permitió al animal permanecer en ella durante 30 seg antes del siguiente intento.¹⁶
- **Prueba de Rotación inducida por D-anfetamina y apomorfina (asimetría motora):** El número de vueltas contadas durante 90 min para la D-anfetamina y 45 min para la apomorfina se evaluó en un Rotómetro automático (RotorCID, Cuba). Se incluyeron en el estudio las ratas que mostraron como promedio al menos 7/min rotaciones completas ipsilaterales (vueltas/min) después de D-anfetamina y una media de 3.3/min rotaciones completas (360°) contralaterales (vueltas/min) después de administrar la apomorfina.

Procesamiento estadístico

Los valores son mostrados como la media \pm el error estándar de la media (EEM). Luego de verificar la distribución normal mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianza por la prueba de Levene se aplicó la prueba *t* de Student para comparar las medias entre grupos. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple para determinar la existencia de diferencias significativas entre todos los grupos para la comparación de las latencias de escape en el laberinto acuático de Morris para los grupos de lesión septohipocámpal y el número de cruces análogos en las ratas viejas con déficit cognitivo. Cuando éstas resultaron significativas ($p < 0.05$) se compararon los grupos uno a uno mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan. Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa SPSS versión 8.0 para Windows.

RESULTADOS

Disponibilidad del NGF en procesos neurodegenerativos

Se determinó la cantidad de NGF humano presente en el suero de pacientes con diversas enfermedades neurológicas: EA, EP y EH (Figura 1) y se evidenció una reducción estadísticamente significativa en los niveles de NGF al ser comparados con el grupo control siendo en la EP de 57% y en la EH 69% ($p < 0.01$).

Enfermedad de Parkinson

Con el objetivo de analizar si el grado de deterioro producido por la EP tiene alguna influencia en los niveles de NGF, se agruparon los pacientes con EP atendiendo al estadio de la enfermedad según la escala de Hoehn y Yahr. De esta forma, se compararon los pacientes con EP evaluados como Grado I-II y los Grado III-IV (Figura 2A). Los pacientes con Grado I-II de la enfermedad mostraron una reducción significativa ($p < 0.05$) de NGF (0.059 ng/mL, valor medio) cuando se compararon con el grupo

de pacientes con Grado III-IV (0.146 ng/mL, valor medio).

Para evaluar el efecto que ejerce la L-dopa sobre el NGF en los pacientes con EP, evaluamos casos sin-L-dopa y casos tratados con L-dopa y se observó que no existen diferencias entre estos grupos a pesar de que se observa una tendencia a valores mayores de NGF en el grupo que toma L-dopa (Figura 2B).

NGF en modelos experimentales de enfermedades neurodegenerativas

- **Lesión nigral con 6-OHDA:** La lesión con 6-OHDA provocó una disminución de 84% en los valores de NGF en el suero de ratas hemiparkinsonianas ($p < 0.01$, Figura 3A).
- **Lesión estriatal con ácido quinolínico:** La inyección de ácido quinolínico en el estriado derecho causó una disminución estadísticamente significativa de los niveles séricos de NGF cuando se compara con los animales del grupo control (Figura 3B).
- **NGF en el envejecimiento cerebral y déficit cognitivo:** Las ratas con déficit mostraron un decremento de los nive-

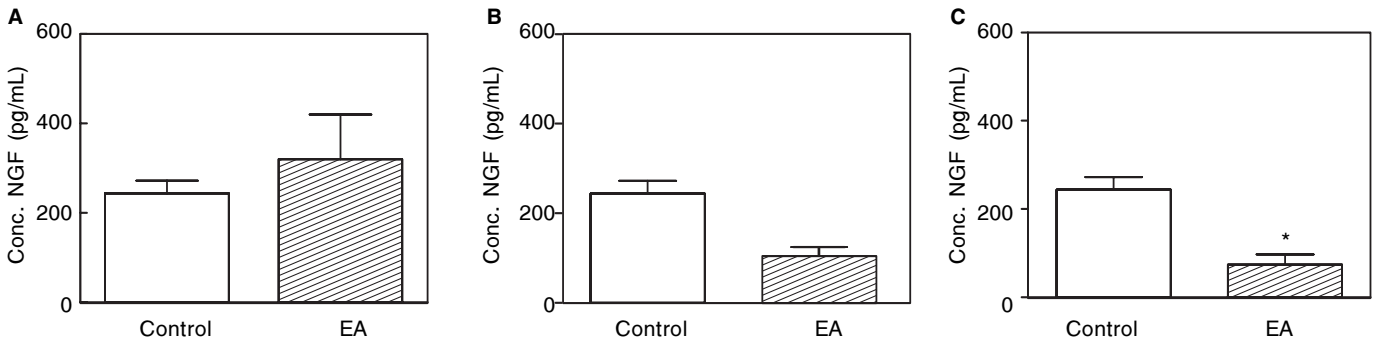


Figura 1. Comparación de los niveles de NGF en el suero de pacientes con diferentes enfermedades neurodegenerativas y el suero de sujetos control. **A.** Comparación entre los niveles de NGF en el suero de pacientes con Enfermedad de Alzheimer (EA, $n = 13$) y del grupo control ($n = 30$). **B.** Como en A pero para la Enfermedad de Parkinson (EP, $n = 38$). **C.** Como en A pero para la Enfermedad de Huntington (EH, $n = 6$). Se muestra la media \pm el error estándar de la media. El análisis estadístico se realizó por la prueba *t* de Student (* $p < 0.01$).

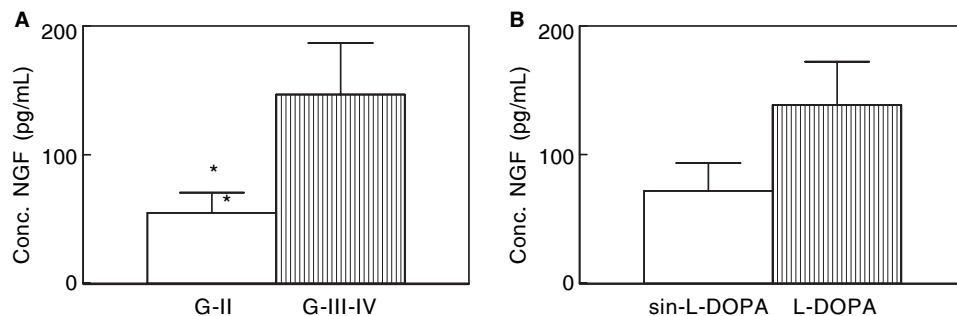


Figura 2. Niveles de NGF sérico en pacientes con enfermedad de Parkinson agrupados según el estadio de la enfermedad (GI-II y GIII-IV de la escala de Hoehn y Yahr) y de acuerdo al tratamiento con L-dopa (L-DOPA, $n = 27$) y

sin tratamiento (sin-L-DOPA, $n = 11$). **A.** Comparación entre los niveles de NGF de pacientes en GI-II ($n = 17$) y GIII-IV ($n = 21$). **B.** Comparación entre las medias de los niveles de NGF y el tratamiento con L-dopa. El análisis estadístico se realizó por la prueba *t* de Student. * $p < 0.05$ vs. GIII-IV, ** $p < 0.01$ vs. control.

les de NGF séricos ($p < 0.05$) al ser comparados con el grupo de ratas viejas sin déficit cognitivo (Figura 3C).

Efecto del tratamiento neurorrestaurador sobre el contenido de NGF en los diferentes modelos experimentales

- **Terapia neurorrestaurativa en la EP. Microtrasplante de células mesencefálicas fetales en un modelo de lesión con 6-OHDA:** La figura 4 muestra los niveles de NGF en ratas hemiparkinsonianas trasplantadas en diferentes núcleos de la base: estriado, núcleo subtalámico y sustancia negra reticulada (Figura 4A, B, C). La figura 4D evidencia que la combinación del trasplante en estriado y núcleo subtalámico (Figura 3D) provocó un incremento en los valores séricos de NGF en suero ($p < 0.05$) al ser comparado con el grupo lesionado, no así en los casos en los que se trasplantó en un solo núcleo de la base (Figura 4A, B y C).
- **Terapia neurotrófica en la lesión estriatal:** La lesión estriatal con ácido quinolínico no mostró cambios

en el contenido estriatal de NGF entre hemisferios (lesionado e intacto) en los animales lesionados y tratados con NGF dos días después de la lesión, así como en el grupo de animales tratado con NGF y lesionado simultáneamente. Sin embargo, en el grupo de ratas tratadas con NGF dos días antes de la lesión se encontró un incremento estadísticamente significativo de 81% ($p < 0.05$) en los valores de NGF en el estriado lesionado al ser comparado con el intacto (Figura 5). El grupo experimental que recibió dos días antes de la lesión una inyección de NGF mostró un desempeño conductual superior al de los otros grupos evaluados, resultado que se evidenció por las latencias de escape menores en el laberinto acuático de Morris (Figura 6).

- **Terapia neurorrestaurativa en el envejecimiento cerebral:** El siguiente experimento fue realizado para determinar las cantidades de NGF presentes en el suero de ratas con déficit cognitivo tratadas con diferentes técnicas neurorrestaurativas tales como: trasplante de suspensión fetal de células septales e infusión ICV de NGF. La figura 7 resume los cambios de los niveles de

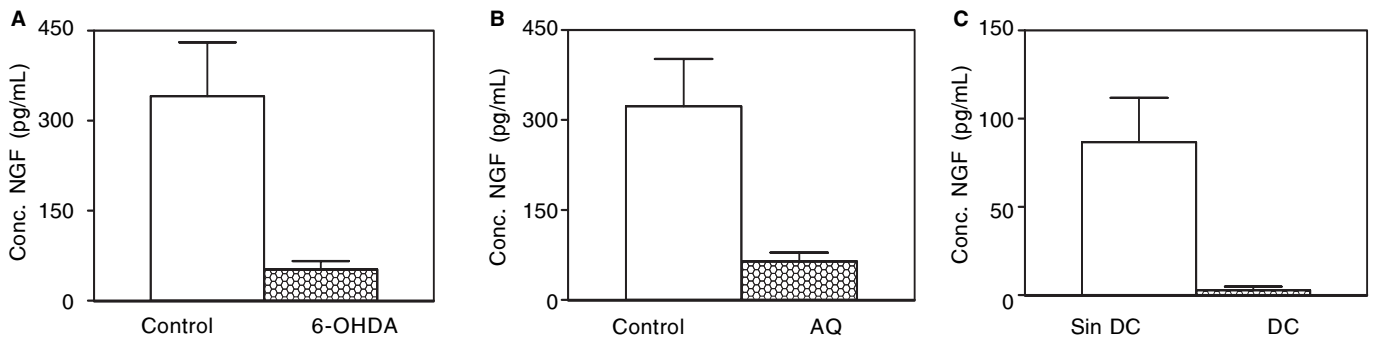


Figura 3. Niveles séricos de NGF en modelos experimentales de neurodegeneración. **A.** Comparación entre el contenido sérico de NGF en ratas hemiparkinsonianas (6-OHDA, $n = 11$) y el control (Control, $n = 28$). **B.** Grupo de lesión con ácido quinolínico (AQ, $n = 8$) y control ($n = 28$). **C.** Ratas con envejecimiento cerebral con y sin déficit cognitivo (DC $n = 5$, sin-DC, $n = 6$). Se muestra la media \pm el error estándar de la media. El análisis estadístico se realizó por la prueba t de Student (** $p < 0.01$).

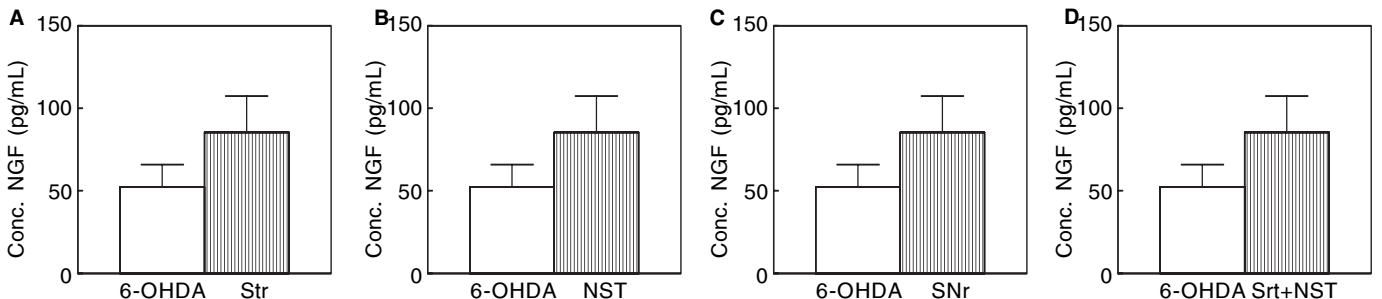


Figura 4. Niveles séricos de NGF en ratas hemiparkinsonianas trasplantadas en diferentes núcleos de la base. **A.** Se muestra la comparación entre las ratas lesionadas (6-OHDA, $n = 11$) contra las ratas lesionadas y trasplantadas en estriado (Str, $n = 24$). **B.** Como en A pero el trasplante en núcleo subtalámico (NST, $n = 14$). **C.** Como en A pero el trasplante en sustancia negra reticulada (SNr, $n = 11$). **D.** Como en A pero el trasplante en Str y NST (Str+NST, $n = 6$). Se muestra la media \pm el error estándar de la media. El análisis estadístico se realizó por la prueba t de Student. ** $p < 0.01$.

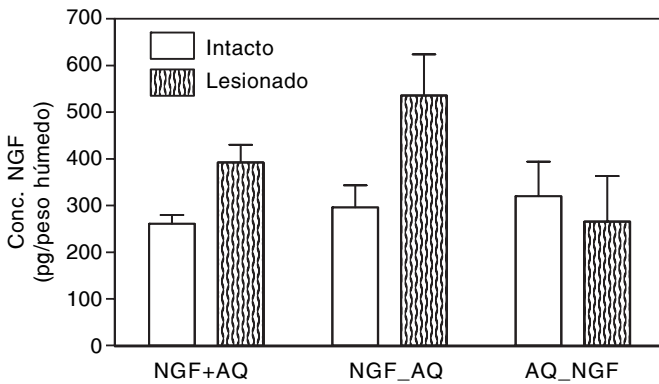


Figura 5. Comparación de los niveles de NGF en estriado de ratas con lesión estriatal con ácido quinolínico (AQ) y tratamiento neurotrófico con NGF: 48 horas antes de la lesión (NGF_AQ, n = 9), 48 horas después de la lesión (AQ_NGF, n = 10) y con lesión y tratamiento con NGF simultáneo (NGF+AQ, n = 8). Se muestra la media \pm el error estándar de la media. El análisis estadístico se realizó por medio de la prueba *t* de Student. * $p < 0.05$ Student.

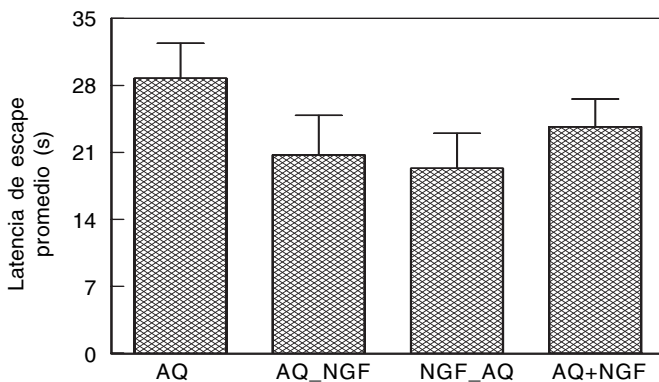


Figura 6. Latencias de escape promedio en el laberinto acuático de Morris de ratas lesionadas con ácido quinolínico (AQ, n = 8), tratadas con factor de crecimiento nervioso después (AQ-NGF, n = 10), antes (NGF-AQ, n = 9) o durante (AQ+NGF, n = 8) la lesión. Se muestra la media \pm el error estándar de la media. El análisis estadístico se realizó por medio de las pruebas: ANOVA y prueba de Duncan, * $p < 0.05$.

NGF en los diferentes grupos experimentales que recibieron tratamiento (Figura 7A, B y C). Se evidenció que la combinación de las dos técnicas neurorestaurativas (trasplante e infusión de NGF) provoca un incremento en los niveles de NGF (Figura 5C, $p < 0.01$). El desempeño en el laberinto acuático de las ratas viejas con déficit cognitivo tratadas con NGF fue significativamente superior que el de las ratas similares no tratadas. Esta diferencia se apreció en una reducción en la latencia de escape promedio ($p < 0.01$) y en un aumento en el número de cruces análogos ($p < 0.01$, ANOVA y prueba de Duncan, datos no mostrados).

DISCUSIÓN

Contenido de NGF en procesos neurodegenerativos clínicos y experimentales

- Enfermedad de Alzheimer.** En el caso de la EA existen múltiples y disímiles hallazgos en relación con los niveles de NGF. Nuestros resultados se corresponden con valores normales de NGF sérico en esta enfermedad y son similares a los de Murase¹⁷ que no encontró diferencias entre la cantidad de NGF en pacientes con EA y el grupo control. No obstante, otros autores reportan niveles aumentados o reducidos de NGF en la EA en diferentes áreas cerebrales y líquido cefalorraquídeo.¹⁸⁻²⁰ Algunos autores reportan reducción cortical de NGF en pacientes no dementes que tenían placas seniles corticales, considerados preclínicamente como EA.^{21,22} Sin embargo, no fue encontrada disminución de NGF en la corteza de pacientes no dementes que no tenían placas seniles, de ahí que los autores sugieran una deficiencia de NGF en estados preclínicos de la EA.²² La razón de la reducción del NGF en estadios iniciales de la neurodegeneración en la EA y el incremento en los

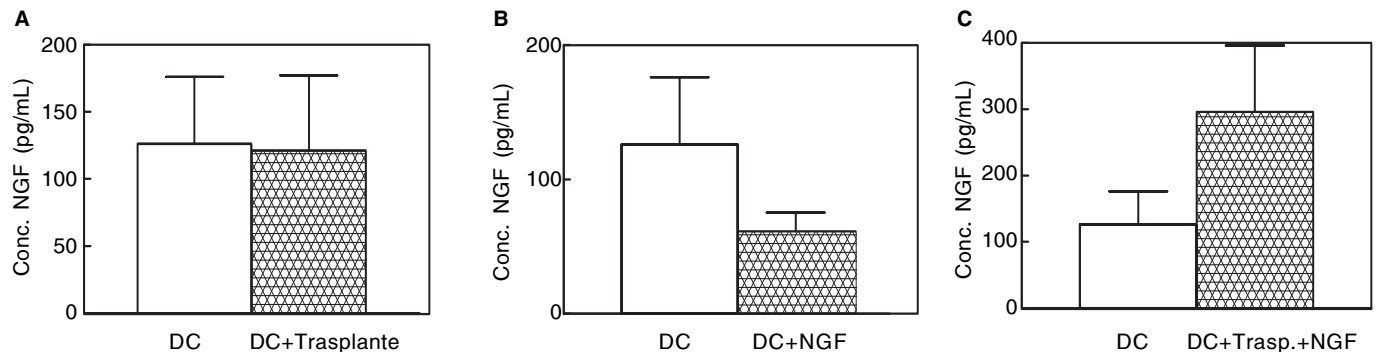


Figura 7. Comparación entre los niveles de NGF entre el suero de ratas viejas con déficit cognitivo (DC) y los grupos experimentales que recibieron tratamiento neurorestaurador. **A.** Trasplante de células septales (DC+Trasplante). **B.** Infusión intracerebroventricular de NGF (DC+NGF). **C.** La combinación de ambas técnicas (DC+Trasp.+NGF). El análisis estadístico se realizó por la prueba *t* de Student (** $p < 0.01$) vs. DC.

siguientes estadios es totalmente desconocida. Hellweg plantea la hipótesis de que el contenido de NGF está disminuido al inicio de la enfermedad y que a medida que la degeneración aumenta se produce un incremento de la cantidad de NGF.^{21,23} El hallazgo de los cambios temporales en la concentración de NGF en la EA, podría explicar los disímiles resultados reportados por los grupos que investigan sobre los niveles de NGF en la EA. En nuestro caso, los pacientes con EA estudiados tenían un diagnóstico de EA probable (según los criterios de la NINCDS/ADRDA) en los que ya es apreciable el déficit cognitivo y un mayor deterioro de otras funciones, todo lo cual sugiere que los valores séricos de NGF observados en nuestro grupo coinciden con los reportes de Hellweg y cols. para el grupo de pacientes con EA en estadios avanzados.²¹

De igual forma, en este trabajo se evaluaron los niveles de NGF en el envejecimiento cerebral y se evidenció una reducción de los niveles séricos de NGF. Hellweg reportó, en un modelo de lesión septohipocámpal, concentraciones de NGF reducidas en las proyecciones colinérgicas de las áreas blanco, así como valores normales a las cuatro semanas de producida la lesión.²² Estos cambios podrían deberse a diversos mecanismos entre ellos: pérdida de neuronas productoras, disminución en la actividad neuronal, a la gliosis que ocurre en estas enfermedades neurodegenerativas y a procesos inflamatorios.

- **Enfermedad de Parkinson.** Dada la relación entre el NGF y el sistema colinérgico existe una asociación evidente entre esta proteína y la EA, no así entre el NGF y la EP, donde se conoce que el NGF no tiene efecto sobre las neuronas dopaminérgicas que degeneran.² Está demostrado que el NGF no actúa sobre las neuronas inmunorreactivas a la tirosina hidroxilasa y que a diferencia de otras neurotrofinas el NGF no tiene efecto protector sobre este tipo neuronal.²⁴

Sin embargo, recientes informes indican que existe inmunorreactividad al NGF y al receptor TrkA en la sustancia negra parte compacta lo que sugiere una regulación autocrina/paracrina de este factor.²⁵ Por otra parte, las concentraciones de NGF en el estriado de ratas lesionadas con MPTP están disminuidas, aspecto que Mogi interpretó como indicador, conjuntamente con la elevación de la interleuquina-1, de una relación entre el NGF y la muerte neuronal en este modelo de lesión nigral.²⁶ A estos hallazgos se le adiciona la demostración del valor preventivo del NGF sobre la muerte neuronal causada por el MPTP al suprimir la actividad de la caspasa-3, proteasa que participa en la fase de ejecución de la apoptosis.²⁷ De igual forma se describe a la seleginina, un inhibidor de la monoamino-oxidasa B, como un agente neuroprotector en la EP y entre las vías posibles para

este efecto se describe la inducción por la seleginina de factores tróficos como el NGF posiblemente por células gliales, con un efecto protector neuronal.²⁸

En el presente trabajo encontramos una disminución del contenido sérico de NGF en pacientes con EP en estadios tempranos de la enfermedad (I-II) y en la EH lo que evidencia una utilización alterada del NGF en tejidos centrales o periféricos y habla a favor de una relación entre el NGF y los cambios neurodegenerativos observados en estas dos enfermedades.

A pesar de la extensa literatura dedicada al estudio de distribución del NGF en el SNC y fluidos corporales, son escasos los reportes previos de la determinación de NGF en suero de pacientes con EP.

Los niveles séricos de NGF fueron evaluados en dos grupos de pacientes con EP, uno con síntomas avanzados de la enfermedad, marcadas discinesias y fluctuaciones diurnas relacionadas con la denervación y el tratamiento crónico con L-dopa (G-III-IV, según la escala de Hoehn y Yahr) y otro grupo en estadios tempranos de la enfermedad (GI-II, según la escala de Hoehn y Yahr). Nuestros resultados hablan a favor de que existen menores valores de NGF endógeno en los estadios tempranos (tiempo de evolución de la enfermedad de 2.66 años) que en estadios más avanzados (tiempo de evolución de la enfermedad de 9.06 años). Estos hallazgos sugieren que a medida que se acrecienta el deterioro degenerativo actúan mecanismos homeostáticos que normalizan los valores de NGF en estos pacientes y que es independiente de algún posible mecanismo relacionado con el tratamiento antiparkinsoniano con L-dopa. Por otra parte, la pérdida de las neuronas dopaminérgicas en la EP causa un desequilibrio en el circuito de los núcleos de la base que resulta en una disminución de la vía excitatoria talámica a la corteza motora. Conociendo que la corteza es uno de los principales sitios de síntesis de NGF²⁹ y considerando al cerebro como una fuente posible de NGF en el suero,^{21,30} la disminución de la actividad de la corteza motora en la EP podría contribuir a la disminución de los niveles de NGF observados en los estadios tempranos (I-II) de la enfermedad. En estadios más avanzados (III-IV) la estimulación de la síntesis en otras áreas corticales como parte de un mecanismo homeostático podría ser responsable de los niveles normales observados.

Existen evidencias de que la L-dopa aumenta la síntesis y secreción de NGF;³¹ sin embargo, nosotros no encontramos diferencias entre el grupo de pacientes con y sin tratamiento con L-dopa, aunque es importante señalar que se aprecia una tendencia a valores superiores de NGF en el grupo de pacientes con L-dopa en relación con el que no recibía este tratamiento.

Un estudio indicó que la interleuquina-1 y 6 son potentes estimuladores de la síntesis de NGF tanto en SNC como Sistema Nervioso Periférico²¹ y que los niveles de estas citoquinas están aumentados tanto en caudado y putamen como en líquido cefalorraquídeo de pacientes con EP.^{32,33} A este resultado se unen hallazgos de nuestro laboratorio que muestran trastornos inmunológicos a nivel periférico y central en la EP, en específico, alteraciones en marcadores linfocitarios en sangre periférica y líquido cefalorraquídeo de pacientes con EP (datos no mostrados). Todos estos datos sugieren dos posibles interpretaciones: la disminución en el contenido de NGF en la EP es consecuencia del deterioro degenerativo o tiene un origen secundario a un proceso inmunológico. A pesar de que los mecanismos de regulación de la síntesis de NGF y el papel del NGF en la fisiopatología de la EP no están claros, los resultados expuestos sugieren que el daño temprano de neuronas dopaminérgicas afecta la síntesis de NGF.

- **Enfermedad de Huntington.** En el caso de la EH, el hallazgo de valores disminuidos en esta enfermedad es un resultado difícil de explicar a la luz de los conocimientos actuales. Se conoce que el NGF protege a las neuronas contra el daño excitotóxico y que a pesar de que los mayores niveles cerebrales de NGF se encuentran en el hipocampo y la corteza, se ha demostrado que las células estriatales expresan esta proteína.^{34,35} Diferentes formas de agresión al cerebro, incluida la excitotóxica, son capaces de inducir la síntesis de NGF.³⁴ La mayor parte de estos estudios se han realizado a corto plazo, se desconoce si la síntesis incrementada de NGF persiste pasadas varias semanas de la lesión. Nuestros resultados muestran que seis semanas después de la inyección con ácido quinolínico el contenido de NGF en el estriado lesionado es similar al del contralateral y que el NGF sérico se encuentra disminuido. Esto es indicativo de que esta respuesta protectora al daño neurotóxico tiene un carácter transiente. En resumen, en la EP y la EH existen bajos niveles de NGF, no así en los casos con EA (estadios avanzados de la enfermedad) estudiados. Específicamente, el daño dopaminérgico afecta los niveles séricos de NGF en etapas iniciales de la enfermedad, en estadios avanzados de la misma, el contenido de NGF se restablece sin que este hecho tenga relación con el tratamiento antiparkinsoniano.

Efectos del tratamiento neurorestaurador sobre el contenido de NGF

Un acercamiento para optimizar la recuperación del SNC dañado es la liberación de NGF en la región afectada con-

juntamente con un sustrato celular que apoye y promueva el crecimiento neuronal,³⁶⁻³⁹ es decir, la combinación de una técnica neurotrófica (infusión intracerebroventricular de NGF) con una técnica neurorestaurativa (injerto fetal) ha sido utilizada como una vía para lograr la restauración neuronal.

Animales que tenían deterioro de la memoria espacial y atrofia de las neuronas colinérgicas, al recibir tratamiento intracerebroventricular con NGF mostraron una mejoría en la memoria espacial y disminución de la atrofia cerebral. Estos resultados permitieron afirmar que el NGF previene la degeneración colinérgica inducida por trauma al igual que la atrofia inducida por la edad y que el NGF mejora la función cognitiva.⁴⁰⁻⁴²

En su conjunto, los efectos del tratamiento neurorestaurador en los diferentes modelos experimentales de las enfermedades de Parkinson, Huntington y Alzheimer muestran un incremento del contenido de NGF después del tratamiento.

Los niveles de NGF medidos en ratas viejas con déficit cognitivo que recibieron tratamiento intracerebroventricular de NGF mostraron un incremento que sólo resultó estadísticamente significativo cuando se combinan las dos técnicas neurorestaurativas: el trasplante y la infusión de NGF.

Se ha mostrado que la combinación de ambas técnicas restaurativas produce un efecto superior en la mejoría del déficit cognitivo encontrado en ratas viejas.¹⁶ Existen diferentes vías para explicar esta mejoría del trasplante apoyado por la terapia trófica: una es que se logra un incremento de la supervivencia de las células septales injertadas, otra se basa en que el apoyo trófico facilita la transformación de las células injertadas a un fenotipo neuronal y por último se logra un mejor recobrado funcional a largo plazo.

El presente trabajo demostró que la lesión estriatal no provoca cambios a largo plazo en el contenido de NGF estriatal pero el tratamiento neurotrófico con NGF previo a la lesión induce un aumento de esta proteína en el estriado lesionado. El hallazgo del aumento del NGF inducido por la propia neurotrofina en los estriados lesionados es un resultado de difícil explicación a la luz de los conocimientos actuales. Sin embargo, pudiera estar relacionado con cambios producidos en los circuitos intraestriatales, como la estimulación persistente de subpoblaciones celulares productoras de NGF o productoras de neurotransmisores como la acetilcolina que estimulan la síntesis del NGF.⁴³ Por otra parte, el NGF puede estimular la actividad de factores de transcripción como AP-1 con conocidas influencias sobre la expresión del NGF.⁴⁴ Esta inducción sostenida de la producción del NGF puede ser uno de los mecanismos que subyace en sus efectos restauradores del aprendizaje y la memoria espacial observada en las ratas lesionadas con ácido quinolínico.

Consideraciones sobre los niveles endógenos de NGF

Las NTs son producidas *in vivo* en pequeñas cantidades, de ahí que las células sensibles al NGF tienen que competir por la limitada cantidad de NGF disponible incluso en condiciones fisiológicas. Se conoce que sólo 10% de los receptores para NGF están unidos a su ligando endógeno. Consecuentemente, cambios en el tiempo de las concentraciones de NGF pueden influir en la función neuronal. Por lo tanto, un posible mecanismo de la enfermedad sería que una deficiencia de NGF provoque un mal funcionamiento de las neuronas sensibles a este factor. Los cambios en las concentraciones de NGF en el curso de varias enfermedades como la EA²¹ y la EP indican que las fluctuaciones de las concentraciones endógenas de NGF siguen un patrón distintivo. Al inicio del proceso patológico se produce una disminución temporal, seguida de un incremento durante el cual algún déficit neuronal puede ser disminuido. Estos cambios encontrados en los niveles de NGF podrían deberse a modificaciones en: la transcripción, la traducción, las vías de regulación de la expresión, la liberación, la captación por sus dianas y/o los mecanismos de eliminación o recambio.

Nuestros resultados obtenidos en la enfermedad de Parkinson nos permiten proponer que, al inicio de la enfermedad, la disponibilidad de NGF por las neuronas sensibles a este factor está reducida. Esta depleción inicia una cascada de eventos patológicos, los cuales afectan principalmente parámetros funcionales de neurotransmisión pero en consecuencia conducen a la atrofia y finalmente a la apoptosis. En estadios avanzados de la enfermedad ya sea producto de la gliosis o de otros mecanismos desconocidos hasta el momento, se incrementan los niveles de NGF. Después del daño cerebral inicial, la síntesis de NGF es estimulada como un mecanismo intrínseco luego de que se produce una exposición por largo tiempo al daño cerebral; sin embargo, este incremento compensatorio de NGF podría ser negativo para las células, ya que se ha descrito que el NGF puede inducir la muerte neuronal utilizando la vía del receptor p75⁴⁵ que está sobreexpresado en condiciones de daño.⁴⁶ Por otro lado, es importante tener en cuenta que al menos para la EA la elevación de los niveles de NGF podría ser dañina ya que el NGF potencia la neurotoxicidad del beta-amiloide⁴⁷ y estimula la expresión del gen de la proteína precursora del beta-amiloide, así como su secreción.^{48,49}

Finalmente, nuestros hallazgos en la enfermedad de Parkinson nos evidencian que este trastorno neurodegenerativo se acompaña de modificaciones en los niveles séricos de NGF que probablemente dependen del grado de progreso de la enfermedad y pudieran reflejar

mecanismos que retardan o aceleran la muerte neuronal en las regiones afectadas, según el grado de progreso de la enfermedad.

La afectación observada en el contenido de NGF en las lesiones inductoras de eventos neurodegenerativos es contrarrestada por la intervención neurorestauradora, especialmente en el caso en que estas técnicas se utilicen de manera combinada. De igual forma, las lesiones inductoras de eventos neurodegenerativos en ratas provocan una disminución en los niveles séricos de NGF similar a la observada en pacientes, lo cual sugiere que los cambios detectados en esta variable podrían estar causalmente vinculados con el proceso de la enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Aracelys Vallejo por su experta dirección en el cuidado y mantenimiento de los animales. Al Dr. Alain García y Tec. Magalys Ramírez por la asistencia brindada.

REFERENCIAS

1. Krogsgaard-Larsen P. Neurotransmitter receptors as pharmacological targets in Alzheimer's disease. In: Kozikowski A (ed.). *Drug design for Neuroscience*. New York: Raven Press; 1993, p. 1-31.
2. Collier TJ, Sortwell CE. Therapeutic potential of nerve growth factors in Parkinson's disease. *Drugs Aging* 1999; 14: 261-87.
3. Siegel GJ, Chauhan NB. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. *Brain Res Brain Res Rev* 2000; 33: 199-227.
4. Emerich DF, Winn SR, Hantraye PM, Peschanski M, Chen EY, Chu Y, et al. Protective effect of encapsulated cells producing neurotrophic factor CNTF in a monkey model of Huntington's disease. *Nature* 1997; 386: 395-9.
5. Lewin G, Barde YA. Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci* 1996; 19: 289-317.
6. Lai K, Fu W, Ip F, Ip N. Cloning and expression of a novel neurotrophin, NT-7, from carp. *Mol Cell Neurosci* 1998; 11: 64-76.
7. Roderer JH, Isaacson O, Emerich DF. Cellular delivery of trophic factors for the treatment of Huntington's disease: is neuroprotection possible? *Exp Neurol* 1999; 159: 4-20.
8. Mandel RJ, Gage FH, Clevenger DG, Spratt SK, Snyder RO, Leff SE. Nerve growth factor expressed in the medial septum following *in vivo* gene delivery using a recombinant adeno-associated viral vector protects cholinergic neurons from fimbria-fornix lesion-induced degeneration. *Exp Neurol* 1999; 155: 59-64.
9. Menei P, Pean JM, Nerriere-Daguin V, Jollivet C, Brachet P, Benoit JP. Intracerebral implantation of NGF-releasing biodegradable microspheres protects striatum against excitotoxic damage. *Exp Neurol* 2000; 161: 259-72.
10. Evans JR, Barker RA. Neurotrophic factors as a therapeutic target for Parkinson's disease. *Expert Opin Ther Targets* 2008; 4: 437-47.
11. Clelland CD, Barker RA, Watts C. Cell therapy in Huntington disease. *Neurosurg Focus* 2008; 24(3-4): E9.
12. Levi-Montalcini R, Hamburger V. Selective growth stimulating effects of mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo. *J Exp Zool* 1951; 116: 321-51.
13. Hoehn M, Yahr M. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology* 1967; 17: 427-42.
14. Lorigados L, Soderstrom S, Ebendal T. Two-site enzyme immunoassay for beta NGF applied to human patient sera. *J Neurosci Res* 1992; 32: 329-39.

15. Paxinos G, Watson C (eds.). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. New York: Academic Press; 1986.
16. Fernandez CI, Bergado J, de la Cuétara K. Brain aging and neurotransmission. Effect of septal suspension graft to hippocampus of aged rodents on learning and memory. *Arch Gerontol Geriatr* 1994; 4: 59-65.
17. Murase K, Nabeshima T, Robitaille Y, Quirion R, Ogawa M, Hayashi K. NGF level of is not decreased in the serum, brain-spinal fluid, hippocampus, or parietal cortex of individuals with Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 193: 198-203.
18. Hock C, Heese K, Muller-Spahn F, Huber P, Riesen W, Nitsch RM, et al. Increased CSF levels of nerve growth factor in patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 2000; 54: 2009-11.
19. Fahnstock M, Scott SA, Jette N, Weingartner JA, Crutcher KA. Nerve growth factor mRNA and protein levels measured in the same tissue from normal and Alzheimer's disease parietal cortex. *Brain Res Mol Brain Res* 1996; 42: 175-8.
20. Fahnstock M, Michalski B, Xu B, Coughlin M. The precursor pro-nerve growth factor is the predominant form of nerve growth factor in brain and is increased in Alzheimer's disease. *Mol Cell Neurosci* 2001; 18: 210-20.
21. Hellweg R, Gericke CA, Jendroska K, Hartung HD, Cervos-Navarro J. NGF content in the cerebral cortex of non-demented patients with amyloid-plaques and in symptomatic Alzheimer's disease. *Int J Dev Neurosci* 1998; 16: 787-94.
22. Hellweg R, von RS, Anders D, Baethge C, Ropke S, Hartung HD, et al. The time course of nerve growth factor content in different neuropsychiatric diseases—a unifying hypothesis. *J Neural Transm* 1998; 105: 871-903.
23. Schulte-Herbrüggen O, Jockers-Scherübl MC, Hellweg R. Neurotrophins: from pathophysiology to treatment in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2008; 1: 38-44.
24. Hagg T. Neurotrophins prevent death and differentially affect tyrosine hydroxylase of adult rat nigrostriatal neurons in vivo. *Exp Neurol* 1998; 149: 183-92.
25. Nishio T, Furukawa S, Akiguchi I, Sunohara N. Medial nigral dopamine neurons have rich neurotrophin support in humans. *Neuroreport* 1998; 9: 2847-51.
26. Mogi M, Togari A, Ogawa M, Ikeguchi K, Shizuma N, Fan D, et al. Effects of repeated systemic administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) to mice on interleukin-1beta and nerve growth factor in the striatum. *Neurosci Lett* 1998; 250: 25-8.
27. Shimoke K, Chiba H. Nerve growth factor prevents 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced cell death via the Akt pathway by suppressing caspase-3-like activity using PC12 cells: relevance to therapeutical application for Parkinson's disease. *J Neurosci* 2001; 63: 402-9.
28. Nagatsu T, Sawada M. Molecular mechanism of the relation of monoamine oxidase B and its inhibitors to Parkinson's disease: possible implications of glial cells. *J Neural Transm Suppl* 2006; 71: 53-65.
29. Korsching S, Thoenen H. Two-site enzyme immunoassay for nerve growth factor. *Med Enzymol* 1987; 147: 167-85.
30. Pan W, Banks WA, Kastin AJ. Permeability of blood-brain barrier to neurotrophins. *Brain Res* 1998; 788: 87-94.
31. Mena MA, Davila V, Bogalovsky J, Sulzer D. A synergistic neurotrophic response to l-dihydroxyphenylalanine and nerve growth factor. *Mol Pharmacol* 1998; 54: 678-86.
32. Nagatsu T, Mogi M, Ichinose H, Togari A. Changes in cytokines and neurotrophins in Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 2000; 277-90.
33. Nagatsu T, Mogi M, Ichinose H, Togari A. Cytokines in Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 2000; 143-51.
34. Canals JM, Marco S, Checa N, Michels A, Perez-Navarro E, Arenas E, et al. Differential regulation of the expression of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, and neurotrophin-3 after excitotoxicity in a rat model of Huntington's disease. *Neurobiol Dis* 1998; 5: 357-64.
35. Gouhier C, Chalou S, Venier-Julienne MC, Bodard S, Benoit J, Besnard J, et al. Neuroprotection of nerve growth factor-loaded microspheres on the D2 dopaminergic receptor positive-striatal neurones in quinolinic acid-lesioned rats: a quantitative autoradiographic assessment with iodobenzamide. *Neurosci Lett* 2000; 288: 71-5.
36. Espejo M, Cutillas B, Arenas TE, Ambrosio S. Increased survival of dopaminergic neurons in striatal grafts of fetal ventral mesencephalic cells exposed to neurotrophin-3 or glial cell line-derived neurotrophic factor. *Cell Transplant* 2000; 9: 45-53.
37. Brundin P, Karlsson J, Emgard M, Schierle GS, Hansson O, Petersen A, et al. Improving the survival of grafted dopaminergic neurons: a review over current approaches. *Cell Transplant* 2000; 9: 179-95.
38. Mahoney MJ, Saltzman WM. Millimeter-scale positioning of a nerve-growth-factor source and biological activity in the brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 4536-9.
39. Chaturvedi RK, Shukla S, Seth K, Agrawal AK. Nerve growth factor increases survival of dopaminergic graft, rescue nigral dopaminergic neurons and restores functional deficits in rat model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2006; 1-2: 44-9.
40. Fischer W, Victorin K, Björklund A, Williams LR, Varon S, Gage FH. Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor. *Nature* 1987; 329: 65-8.
41. Barrow M, Mitchell J, Paiva M. Overexpression of NGF ameliorates ethanol neurotoxicity in the developing cerebellum. *J Neurobiol* 2000; 45: 95-104.
42. Hagg T. Intracerebral infusion of neurotrophic factors. *Methods Mol Biol* 2007; 399: 167-80.
43. Blöchl A, Thoenen H. Characterization of nerve growth factor (NGF) release from hippocampal neurons: evidence for a constitutive and a unconventional sodium-dependent regulation pathway. *Eur J Neurosci* 1995; 7: 1220-8.
44. Tong L, Toliver-Kinsky T, Tagliatela G, Werrbach-Perez K, Wood T, Perez-Polo JR. Signal transduction in neuronal death. *J Neurochem* 1998; 71: 447-59.
45. Friedman WJ. Neurotrophins induce death of hippocampal neurons via the p75 receptor. *J Neurosci* 2000; 20: 6340-6.
46. Roux PP, Colicos MA, Baker P, Kennedy TE. p75 neurotrophin receptor expression is induced in apoptotic neurons after seizure. *J Neurosci* 1999; 19: 6887-96.
47. Yankner B, Caceres A, Duffy L. Nerve growth factor potentiates the neurotoxicity of b amyloid. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 9020-3.
48. Lahiri DK, Nall C. Promoter activity of the gene encoding the beta-amyloid precursor protein is up-regulated by growth factors, phorbol ester, retinoic acid and interleukin-1. *Mol Brain Res* 1995; 32: 233-40.
49. Luo J, Wallace M, Hawver D, Kusiak J, Wallace W. Characterization of the neurotrophic interaction between nerve growth factor and secreted amyloid precursor protein. *J Neurosci Res* 2001; 63: 410-20.



Correspondencia: DrC Lourdes Lorigados Pedre
Centro Internacional de Restauración Neurológica (CIREN)
Av. 25, No 15805, 158 y 160,
Cubanacán Playa, C. de La Habana
Fax: 53 7 273 6028
Correo electrónico: lourdes.lorigados@infomed.sld.cu