

**REVISTA
MEXICANA
DE CIENCIAS**

FARMACÉUTICAS

Vol. 29 N° 4 Octubre-Diciembre '98



- ▶ **ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA Y TOXICIDAD DE *Abuta grandifolia***
- ▶ **ACCIÓN FARMACOLÓGICA IN VITRO DEL PRAZICUANTEL SOBRE *Trypanosoma cruzi***
- ▶ **EL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO EN LESIONES DEL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO**
- ▶ **BIOTRANSFORMACIONES CON MICROORGANISMOS TERMOFÍLICOS O SUS ENZIMAS AISLADAS**
- ▶ **COMPORTAMIENTO DE LA NICLOSAMIDA EN MEDIO SIMULADO DE JUGO GÁSTRICO E INTESTINAL CON Y SIN ENZIMA, MEDIANTE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS**
- ▶ **ESTUDIO CINÉTICO DE ESTABILIDAD TÉRMICA DE PENICILINA POR CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)**

EL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO EN LESIONES DEL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO

EPIDERMAL GROWTH FACTOR IN LESIONS OF THE PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM

Pedro A. Prats, Lázaro O. Castañeda, Jorge A. Berlanga, Viviana Falcón¹, Víctor Rodríguez², Carlos Suárez-Muria³
División de Genética de Células de Mamíferos, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología CIGB, Cuba.

Departamento de Microscopía Electrónica, ²CIGB.

Departamento de Cirugía Experimental, ³Instituto Superior de Ciencias Médicas de la Habana, La Habana, Cuba.

⁴Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba.

INTRODUCCIÓN

A menudo los nervios periféricos de los mamíferos se enfrentan a una recuperación lenta e imperfecta después de haber sufrido una lesión en la que la pérdida de tejido ha sido considerable (1, 2). Se conoce que los factores de crecimiento polipeptídicos juegan un importante papel en el crecimiento y diferenciación de los tejidos, y causan diversos efectos sobre las células blanco. Evidencias experimentales recientes sugieren que la regeneración de los nervios periféricos es regulada por varios factores de crecimiento y citocinas en general (3, 4). El factor de crecimiento epidérmico (FCE) ha sido relacionado con la estimulación de la multiplicación celular y como modulador de la diferenciación y función de varios tipos celulares (5), pero aún se desconoce su relación con los procesos de restauración del sistema nervioso periférico (SNP). Se conoce que las células de Schwann, esenciales en la estructuración histológica y funcional de los nervios periféricos, aumentan los niveles de expresión de receptores para este péptido pocas horas después de la lesión (6, 7). El presente estudio se destinó a explorar los efectos de la administración del FCEhr sobre indicadores clínicos, histológicos y electrofisiológicos de regeneración del nervio ciático transectado de ratas.

Palabras clave: FCEhr, nervio ciático, daño nervioso periférico.

Key words: Epidermal Growth Factor, sciatic nerve, peripheral nerve damage.

RESUMEN

El factor de crecimiento epidérmico (FCE) es un reconocido mitógeno que interviene en los fenómenos de reparación de gran variedad de tejidos. Hasta hoy no se ha reportado su acción sobre el sistema nervioso periférico. El presente estudio estuvo destinado a explorar los efectos de la administración de FCE humano recombinante (FCEhr) sobre indicadores clínicos, electrofisiológicos y ultraestructurales de regeneración del nervio ciático transectado de ratas Sprague Dawley. El diseño incluyó dos grupos de 30 ratas cada uno (control y tratado con FCEhr). La administración se realizó con frecuencia diaria durante 20 días. El efecto del tratamiento con FCEhr se evaluó mediante estudio de microscopía electrónica, por valoración electrofisiológica y por exploración de variables clínicas como motilidad y sensibilidad, entre otros métodos. Se constató efecto del FCEhr sobre la regeneración axonal y mielínica a nivel ultraestructural, así como sobre las variables electrofisiológicas y la evolución clínica de los animales. Se encontró, además, una notable protección ante cambios inflamatorios y tróficos de las extremidades del lado lesionado a juzgar por el retraso provocado en la aparición de lesiones ulcerativas y necróticas. Hasta donde sabemos éste es el primer reporte que sugiere la posibilidad racional de emplear el FCEhr en el tratamiento de trastornos de nervios periféricos.

ABSTRACT

Epidermal growth factor (EGF) is a well known mitogen involved in the healing process of a variety of tissues. However, no action on the peripheral nervous system has been reported so far. The present study was conceived to evaluate the effects of the human recombinant epidermal growth factor (hrEGF) administration on some clinical, electrophysiological and ultrastructural variables associated to sciatic nerve regeneration after its transection in Sprague Dawley rats. Two experimental groups of 30 rats each were used, a placebo treated control and a hrEGF treated one. Either placebo or hrEGF administration was conducted in a daily fashion for 20 days; hrEGF effect was assessed by a transmission electron microscopy study, electrophysiology and clinical exploration of both sensitivity and motility, among other variables. An effect of hrEGF on axonal regeneration indicators as well as on electrophysiological variables and clinical outcome was demonstrated. Besides this, hrEGF treatment conferred a dramatic protection against local inflammation and soft tissue trophic degeneration, as judged by a delay in the onset of lower hind limb inflammation and ulceration. To our knowledge this is the first result suggesting that hrEGF is a potential candidate for the treatment of peripheral nerve injuries.

Correspondencia:

Pedro A. Prats.

AP 6162, Ciudad de la Habana,

CP10600, Cuba

E-mail: bioensa@triton.cigb.edu.cu. Fax: 53-7-218070

MATERIALES Y MÉTODOS

Formulación

El FCEhr expresado en *S. cerevisiae* mediante tecnología de ADN recombinante fue producido por el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB, La Habana, Cuba). El producto se obtuvo con más del 95% de pureza (8). La actividad biológica fue determinada por un ensayo de radiorreceptores (9) y su concentración por un sistema ELISA (10). El FCEhr se administró diluido en suero homólogo comercial inactivado por calor (CENPALAB, La Habana, Cuba) a una concentración de 4 µg de FCEhr por mililitro de suero. La formulación se preparó en condiciones de flujo laminar y se esterilizó por filtración (Minisart NML, Sartorius, Alemania).

Animales

Se utilizaron 30 ratas machos de la línea Sprague Dawley (CENPALAB, La Habana, Cuba) con un peso de 200-250 gramos, distribuidas en dos grupos experimentales: uno de control (tratado con suero homólogo de rata) y otro tratado con FCEhr (4 µg/mL de suero de rata). El tratamiento consistió en la administración de 0.5 mL de las preparaciones por espacio de 20 días, por vía intramuscular profunda. El 50% de los animales de cada grupo se estudió hasta el día 21, en que fueron sacrificados y el resto se dejó evolucionar hasta los 60 días poslesión. El sacrificio se efectuó por dislocación cervical previa insensibilización con éter. Todas las maniobras sobre los animales se realizaron observando los lineamientos del código para uso, manejo y cuidado de animales de laboratorio del CIGB.

Modelo de lesión

Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (40 mg/kg. i.p.). Se les produjo una incisión en la región lateral del muslo derecho, se separaron los planos musculares y se expuso el nervio ciático, al cual se le realizó sección transversal a la altura de su tercio medio; luego se afrontaron los cabos proximal y distal con sutura 10-0 monofilamentosa. Posteriormente se procedió al cierre de los planos muscular y superficial. La manipulación se efectuó en condiciones asépticas y de manera cuidadosa, minimizando en lo posible el estrés.

Evaluación clínica

Desde la inducción de la lesión hasta los tiempos de sacrificio, se realizó una evaluación de la evolución clínica de los animales en *satisfactoria* y *no satisfactoria*, respondiendo a una escala creada para este fin. Para la evaluación del efecto de la administración del FCEhr sobre el modelo de regeneración periférica abordado, se realizó la determinación de variables clínicas como motilidad, sensibilidad, presencia o ausencia de ulceraciones e inflamación en la extremidad ipsilateral a la lesión, y pérdida o no de falanges. La exploración de la motilidad consistió en la observación de la actitud de los animales en cuadrupedia estática y la valoración de la marcha. Por medio de la estimulación dolorosa medial y lateral de la extremidad lesionada con agujas finas y la comparación con la contralateral sana se obtuvieron los criterios para evaluar la sensibilidad superficial y profunda, mediante la observación de la producción de un reflejo de retirada de la extremidad. Estas observaciones se realizaron en cuatro periodos de tiempo (1-10, 11-21, 22-45, 46-60 días posteriores a la lesión).

Escala para la evaluación clínica de los animales.

Evaluación

Satisfactoria:

Respuesta a estímulos sensitivos
Cuadrupedia estática normal
Marcha normal (no marcha de guadaña)
Integridad de piel y tegumentos
Ausencia de inflamación

No satisfactoria:

Presencia de inflamación
Lesiones cutáneas ulcerosas
Pérdida de falanges
Marcha de guadaña
Insensibilidad medial y lateral parcial o total
Pronación

Estudio de conducción nerviosa motora

Para verificar la recuperación motora en el nervio lesionado, se realizó un estudio electrofisiológico de conducción nerviosa motora a nivel del nervio ciático con un electromiógrafo Neurónica-02 (Cuba) a los 21 y 60 días posteriores a la producción de la lesión. Los nervios ciáticos de los

animales se sometieron a un estímulo que generaba potenciales supramaximales de los que se determinó la latencia, la duración, la amplitud, el número de fases y la velocidad de conducción. Teniendo en cuenta la aparición o no de respuesta a la estimulación del extremo del segmento de nervio expuesto (distal o proximal al punto de lesión), se clasificó a los animales como negativos o positivos. Aquellos animales en los que no se encontró respuesta alguna o donde el periodo de latencia de los potenciales fue mayor que el normal (determinado en animales no lesionados y en los nervios contralaterales de los lesionados), se consideraron como negativos; en los que ocurrió lo contrario se clasificaron como positivos.

Estudio de microscopía electrónica

Se tomaron muestras del nervio ciático 2 mm en dirección distal a la lesión, en cada uno de los tiempos. Los fragmentos de nervio se fijaron en glutaraldehído al 3.2% por una hora a 4 °C, lavados en *buffer* cacodilato 0.1 M pH 7.4 y posteriormente posfijados en tetróxido de osmio (O_3O_4) por una hora a 4 °C. Se deshidrataron en alcoholes de concentraciones crecientes y se incluyeron en resina Spurr.

Posteriormente se realizaron cortes ultrafinos de 400 a 500 Å en un ultramicrotomo NOVA L.K.B. (Suecia) y se colocaron en rejillas de 400 cuadrículas, para luego ser observados bajo el microscopio electrónico de transmisión JEOL-JEM-2000 Ex (Japón) a 80 K.V. Se tomaron en cuenta los elementos ultraestructurales asociados a la regeneración axonal y mielínica como criterios de evaluación.

Estadística

Los datos se presentan en forma de tablas de contingencia con las frecuencias de ocurrencia de las categorías evaluadas. Los resultados obtenidos se procesaron estadísticamente según la prueba Chi-cuadrado y la prueba exacta de Fisher. Se estableció un nivel de significación de $p < 0.05$. Las vistas de los cortes ultrafinos correspondientes al estudio microscópico electrónico se sometieron a evaluación cualitativa comparada entre el grupo control y el tratado con FCEhr, tomando como puntos clave la integridad de la vaina de mielina y el axolema.

RESULTADOS*Evaluación clínica*

En el análisis del comportamiento de las variables clínicas se detectaron diferencias significativas entre los dos grupos experimentales en los tiempos de 1-10, 22-45 y 46-60 días (Tabla 1). A partir del tercer día de producida la lesión, los animales del grupo control comenzaron a presentar signos de inflamación de los tejidos blandos de la extremidad afectada, seguidos rápidamente por la aparición de úlceras plantares y pérdida progresiva de falanges y dedos. En el grupo tratado con FCE estas alteraciones no aparecieron hasta rebasado el décimo día, y aun entonces no revistieron la intensidad encontrada en el control ni afectaron a igual número de ratas. A partir del día 22 se observó nuevamente mejor evolución de los animales tratados con el factor de crecimiento evidenciada en una mejoría en la actitud estática, la marcha y la sensibilidad.

Estudio de conducción nerviosa motora

La evaluación del comportamiento electrofisiológico de los nervios transectados ante la imposición de un estímulo, a los 21 y 60 días posteriores al daño, arrojó diferencias significativas entre ambos grupos sólo en el segundo tiempo de evaluación (Tabla 2). Para el día 21 de evolución no se habían observado aún diferencias estadísticas en el grupo tratado con FCEhr respecto al control; sin embargo, se apreció un mayor número de individuos considerados positivos. A los 60 días la disparidad ya era evidente: se generaron potenciales de menor latencia, mayor amplitud y velocidad de conducción para el grupo tratado con FCEhr. Del mismo modo se incrementó el número de respuestas positivas por estimulación distal, lo cual indicó mejor grado de reconexión y crecimiento de los axones en regeneración.

Estudio de microscopía electrónica

A los 21 días los animales del grupo control presentaron degeneración axonal y mielínica, mayor frecuencia de mitocondrias en su forma quística y pérdida de continuidad en las vainas mielínicas. En los animales tratados con FCEhr se presentaron daño axonal y alteraciones a nivel de la vaina de mielina, pero fueron menos intensas y exhibieron mayor integridad en

la organización de ésta misma en comparación con los animales del grupo control.

A los 60 días los animales del grupo control presentaron daño tanto a nivel axonal como mielínico, y continuó la presencia de mitocondrias en su forma quística. Los animales tratados con FCEhr mostraron una recuperación significativa de la integridad axonal y mielínica; no se presentaron mitocondrias en su forma quística y la vaina de mielina presentó grosor normal (Fig. 1).

DISCUSIÓN

En este estudio hemos empleado un modelo *in vivo* de lesión de quinto grado del nervio ciático, con miras a evaluar la recuperación funcional y ultramicroscópica de las fibras nerviosas transectadas y sometidas a tratamiento con FCEhr. El modelo, a diferencia de otros, no ha sido muy empleado pero suministra una aproximación adecuada para la ejecución de ensayos terapéuticos a largo plazo, posee alta reproducibilidad y ha permitido caracterizar los patrones de recuperación poslesión; además, semeja el modo usual de tratar las transecciones de nervios humanos (11). Según nuestro conocimiento,

ésta es la primera ocasión en que se reporta el empleo del FCEhr en el estudio de la regeneración de nervios periféricos; toda la literatura consultada refiere sólo indagaciones *in vitro* y a nivel del SNC (12).

Partiendo de los hallazgos experimentales en el SNC (5, 13, 14) y de la presencia de receptores para el FCEhr en células de Schwann y otras localizaciones periféricas (6), concebimos la hipótesis de que este factor podría desempeñar algún papel en los fenómenos que conllevan a la regeneración en el SNP. Como primera aproximación al problema diseñamos este estudio, en el que se administró el péptido descargándolo en las proximidades del sitio transectado, semejando el modo de acción natural de la mayoría de estos factores, que se liberan en el sitio de lesión y ejercen allí sus efectos. Los resultados de este primer estudio demuestran efectos del FCEhr en la recuperación funcional, ultramicroscópica y clínica de los animales tratados en relación con los del grupo control, que sólo recibieron suero de rata administrado por la misma vía. Los datos obtenidos en esta primera etapa sugieren que el FCEhr podría mitigar las alteraciones morfológicas subsiguientes al daño periférico, además de

TABLA 1: EVALUACIÓN CLÍNICA POR DÍAS DE EVOLUCIÓN

| Grupos | 1-10 | | 11-21 | | 22-45 | | 46-60 | |
|---------|------|----|-------|----|-------|----|-------|----|
| | S | NS | S | NS | S | NS | S | NS |
| Control | 7 | 8 | 4 | 11 | 3 | 12 | 4 | 11 |
| FCE | 15* | - | 6 | 9 | 10** | 5 | 13* | 2 |

* p< 0.01; ** p< 0.05

La evaluación de la sensibilidad superficial y profunda, de la motilidad, y de la presencia de lesiones inflamatorias y necróticas se realizó al final de los periodos señalados, en los que se clasificó a los animales en las categorías de Satisfactoria (S) y No satisfactoria (NS). Los valores representan el número de animales ubicados en cada categoría.

TABLA 2: ESTUDIO DE CONDUCCIÓN NERVIOSA MOTORA

| Grupos | Días de evaluación | | | |
|---------|--------------------|----------|----------|----------|
| | 21 | | 60 | |
| | Positivo | Negativo | Positivo | Negativo |
| Control | 1 | 5 | 2 | 7 |
| FCE | 3 | 3 | 8* | 1 |

* p< 0,01

*Indica la diferencia estadística encontrada entre el control tratado con suero homólogo inactivado por calor y el grupo tratado con FCEhr. El estudio electrofisiológico de conducción nerviosa motora se realizó a los 21 y 60 días posteriores a la producción de la lesión. Los nervios ciáticos expuestos se sometieron a un estímulo en los cabos distal y proximal, y sobre el potencial generado se determinó la latencia, la duración, la amplitud, el número de fases y la velocidad de conducción. Según apareciera o no respuesta a la estimulación, se clasificó a los animales como negativos o positivos. Los parámetros se compararon contra los registrados en nervios íntegros.

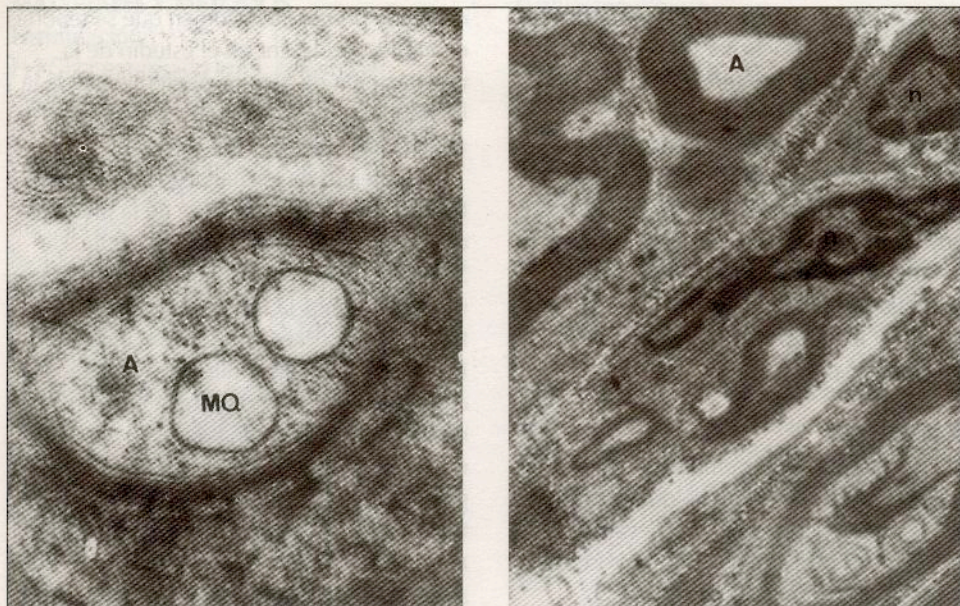


Figura 1. Micrografía electrónica de una sección transversal del nervio ciático 60 días después de lesionado como se describe en "Materiales y métodos". (A) Grupo control. Fibra mielinica con vaina discontinua y desintegrada (flecha) y mitocondrias quísticas (MQ) en el interior del axón, que se presenta lleno de elementos fibrilares típicos del proceso regenerativo (x 25000). (B) Grupo tratado con FCE 4 µg/mL. Núcleos de células de Schwann (n) con fibras mielinicas con la vaina de mielina bien preservada, los axones (A) presentan aspecto normal. Se observa regeneración de las fibras (x 8000).

apoyar la hipótesis de ser benéfico en la regeneración y el mantenimiento de la función neuromuscular.

Evolución clínica

Desde el punto de vista clínico se evidenció mejor evolución de los animales tratados con FCEhr. Esta mejoría fue significativa en tres de los cuatro periodos de evaluación clínica concebidos: en el primero (1-10 días), en el tercero (22-45 días) y en el último (46-60 días); aun en el segundo periodo (11-21 días) el balance resultó favorable al grupo que recibió el factor. Si bien la evaluación clínica se basó en una escala cualitativa, todas las funciones exploradas revelan la regulación nerviosa de la sensibilidad, el trofismo y la motilidad de la extremidad afectada. El hallazgo más llamativo fue la ausencia de ulceraciones, inflamaciones y pérdida de falanges durante los diez primeros días posteriores a la lesión en el grupo tratado con FCEhr. Es posible entonces sugerir un efecto protector inicial del factor sobre tejidos que constituyen blancos conocidos de sus efectos como la epidermis, sobre la que se sabe induce mitosis, neoformación vascular y aumento

de la deposición de colágeno (15). La innervación insuficiente y, en consecuencia, el riego arterial comprometido de las extremidades causan cambios atroficos en ellas. Cuando ocurre degeneración axonal y mielinica, las terminaciones sensitivas especializadas de piel y músculos también experimentan degeneración, produciéndose la pérdida de fibras musculares y de órganos terminales efectores somáticos y viscerales. Puesto que la vasodilatación de la piel por reflejo axonal y la pérdida de nocicepción son factores que contribuyen a la ulceración neurógena de la piel, podría pensarse en una acción profiláctica probable del FCEhr a este nivel. La mitosis de las células de Schwann se hace máxima entre el tercer y el quinto días posteriores al daño nervioso (16), lo que sugiere una estimulación temprana de su proliferación mediada por el FCEhr.

Evidentemente, la posible acción protectora se pierde cuando la evolución de los animales sobrepasa el décimo día, aun estando bajo régimen de dosificación con el péptido, y se mantiene así hasta el día 22, a partir del cual comienza el tercer periodo clínico (22-45 días), donde se

registra nuevamente una diferencia palmaria que favorece al grupo tratado con FCEhr, lo cual se hace más notable en el último periodo (46-60). Es posible que ya en la etapa posterior al décimo día la magnitud de los cambios degenerativos sea tal que sobrepase la potencia del FCEhr para imponerse a ellos, y que la acción del FCEhr durante los 20 días de tratamiento se relacione con la creación de condiciones que permitan una regeneración más rápida de las fibras lesionadas aun en ausencia del agente terapéutico. En todo caso, la razón de este hecho continúa sin determinarse.

Los hallazgos en la exploración clínica se correlacionan con los registrados durante el estudio electrofisiológico, en el cual se obtuvieron diferencias en el último de los tiempos evaluados.

Evolución electrofisiológica

La prueba realizada para medir la conducción eléctrica consiste en la estimulación de los extremos proximal y distal al punto de corte del nervio con el animal anestesiado. La respuesta es un reflejo de flexión que se registra en forma de un potencial a partir del cual se pueden determinar las velocidades de conducción y otras variables, y cuya expresión depende del número de axones de gran calibre y del grado en que el animal sea capaz de exhibir un reflejo polisináptico; resulta además una medida del crecimiento de los axones regenerantes.

La respuesta de los nervios periféricos a los estímulos también depende del estado del cuerpo neuronal, que reacciona a la axotomía mediante fenómenos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos. La transmisión axosomática se reduce debido a que las glías que rodean el cuerpo neuronal se hacen móviles y separan los botones sinápticos del soma y las dendritas. Esto se asocia con pérdida de receptores postsinápticos y reducción del árbol dendrítico (17). Bioquímicamente hay disminución de las enzimas que sintetizan neurotransmisores (18); tanto la síntesis como el transporte axonal de proteínas de los neurofilamentos disminuye en más del 50%, produciendo reducción del calibre de los axones proximales (19), hecho que puede relacionarse con la disminución de la mielinización y, en consecuencia, con la reducción de la velocidad de transmisión de impulsos observada en la primera evaluación

eléctrica a los 21 días.

A los 60 días la regeneración más vigorosa constatada en el grupo control posibilitaría mejores condiciones fisiológicas y morfológicas para la conducción de potenciales en respuesta a los estímulos.

Es válida también la posibilidad de que el tratamiento ayude a preservar la conductividad por la presencia de un potencial de acción compuesto ya desde el primer momento de evaluación eléctrica, pues aunque no hubo significación estadística, el número de resultados positivos del grupo tratado superó al del control.

Microscopía electrónica

Los cambios degenerativos estuvieron tipificados por la presencia de glóbulos del axolema y disrupción de la mielina en el grupo control tanto a los 21 como a los 60 días. Por el contrario, el grupo de tratamiento con FCEhr reveló cambios degenerativos mínimos al día 60. El FCEhr es también responsable de efectos a largo plazo, toda vez que a los 60 días se mantuvo la mejoría. Reportamos aquí el efecto benéfico a largo plazo del tratamiento con FCEhr sobre nervios periféricos, efecto que sugiere la acción de proteínas promotoras del crecimiento.

Generalmente se acepta que los cambios degenerativos/regenerativos reflejan de algún modo el ajuste metabólico que se está produciendo en el cuerpo neuronal en respuesta al daño; estos cambios se correlacionan con el incremento de la síntesis de ARN que ocurre en los primeros días posteriores a una lesión (20).

Los mecanismos responsables del efecto reportado han de corroborarse con certeza, pero se pueden sugerir posibles modos de acción. La regeneración de los nervios periféricos depende de la restauración de los correspondientes cuerpos neuronales. La supervivencia y el mantenimiento de las neuronas pueden depender de factores de crecimiento derivados de los órganos diana y las proteínas producidas localmente en los nervios en regeneración, los cuales pueden ejercer efectos sobre los cuerpos neuronales (21, 22). De este modo, la neurona requiere de un mecanismo que le permita transmitir señales desde el cono de crecimiento y hacia el cuerpo celular. Estas señales pueden consistir en la internalización y el transporte retrógrado de

factores de crecimiento exógenos con sus receptores o de segundos mensajeros proteicos. Johanson et al. (23) han demostrado que tras una lesión del nervio ciático por aplastamiento o ligadura se produce transporte retrógrado de MAPK/ERK (del inglés *mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated protein kinase*), MEK (MAPK/ERK quinasa), MEK-quinasa y PI 3-quinasa (del inglés *phosphatidylinositol 3-kinase*), elementos todos de la cascada de transmisión de señales desencadenadas por la activación de receptores tirosina quinasa (TRK) (24) que sigue a la unión de factores de crecimiento como el FCE. Aunque esta cascada RasERK es redundante para otros factores, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento nervioso (NGF) y la insulina, la diferencia marcada por el tratamiento impuesto sugiere que el FCEhr puede participar en la transmisión de señales tróficas a nivel periférico. Traverse et al. (25) han reportado que en células PC12, que sobreexpresan el receptor del FCE (FCER), éste induce activación sostenida de MEK y MEK-quinasa, así como diferenciación neuronal. Es un hecho demostrado que la expresión del ARNm para el FCER se incrementa en el nervio ciático pocas horas después del seccionamiento transversal de éste, lo que pudiera avalar un mecanismo de señalización sostenida inducida por el FCE de las ERK y de activación de factores transcripcionales que regularían la expresión de genes cuyos productos confirieran ventaja de regeneración a los animales tratados. Yamada et al. (26) encontraron que el FCE previno la apoptosis en cultivos primarios de neuronas corticales de cerebro de ratas que mostraron fosforilación sostenida del FCER y activación de MEK quinasa inducidas por FCE con curso temporal similar al encontrado en células PC12h-R, de manera que podríamos estar en presencia de un modo similar de acción sobre neuronas de la médula espinal.

Es posible que el FCEhr participe en la aceleración del tráfico de elementos constructivos en dirección anterógrada, a juzgar por la disminución observada en el grupo tratado de cambios como la disolución de microtúbulos y neurofilamentos y la degeneración mitocondrial. La velocidad de crecimiento de los axones durante la

regeneración coincide con la velocidad a la que tiene lugar el componente lento del transporte anterógrado (27), encargado de llevar elementos como la tubulina y la actina al cono de crecimiento (28).

Se conoce que el FCE influye en los astrocitos (29), una de cuyas funciones es la influencia trófica sobre las neuronas; un aumento en su número podría incrementar la actividad metabólica de las neuronas y facilitar así la regeneración a nivel periférico.

En otro orden de ideas, el hecho de que la expresión de receptores para el FCE se incremente tras la transección del nervio ciático y se distribuya adoptando un gradiente en sentido próximo-distal, hace tentador especular que a medida que el factor se une a las células de Schwann y se concentra en su superficie, suministra una señal quimiotáctica para el crecimiento axonal.

Los hallazgos aquí reportados sugieren que el FCEhr es efectivo en la prevención de cambios degenerativos inducidos por la transección del nervio ciático cuando se administra durante la neurodegeneración con repercusiones a nivel clínico y eléctrico, y que al menos algunos de sus efectos son de naturaleza permanente puesto que persisten aun después de concluido el tratamiento. Esto invita a pensar en la posibilidad de emplear el FCEhr en el tratamiento de las afecciones de nervios periféricos, que suelen resultar muy limitantes e insidiosas en su evolución.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tadahisa, U., Zhao, Q., Lundborg, G. y Danielsen N. 1995. "Effects of delayed nerve repair on regeneration of rat sciatic nerve." *Restor. Neurol. Neurosci.*, 9: 1-5.
2. Lundborg, G. 1990. "Nerve regeneration problems in a clinical perspective." *Restor. Neurol. Neurosci.*, 1: 297-302.
3. Nishi, R. 1994. "Neurotrophic factors: Two are better than one." *Science*, 265(5175): 1052-1053.
4. Ortiz-Hidalgo, C. y Weller, R.O. 1992. "Peripheral nervous system". En: Stephen S. Stenberg (ed.) *Histology for pathologists* Nueva York, Raven Press, pp. 169-193.
5. Morrison, R.S., Harley, I.K., Frances, M.L. y Bradshaw, R.A. 1987. "Trophic stimulation of culture neurons from neonatal rat brain by epidermal growth factor". *Science*, 238 (4823): 72-75.
6. Vega, J.A., Vazquez, E., Naves, F.J., Calzada, B., del Valle, M.E. y Represa, J.J. 1994. "Expression of epidermal growth factor receptor (FCER) immunoreactivity in human cutaneous nerves and sensory corpuscles". *Anat. Rec.*, 240 (1): 125-30.
7. Guest, J.D., Rao, A., Olson, L., Bunge, M.B. y Bunge