

**REAL ACADEMIA DE CIENCIAS
EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES**

**CÓMO DETERMINA
EL CITOESQUELETO
LA FORMA DE UNA NEURONA**

**DISCURSO LEÍDO EN EL ACTO DE SU
RECEPCIÓN POR EL
EXCMO. SR. D. JESÚS ÁVILA DE GRADO**

**Y CONTESTACIÓN DE LA
EXCMA. SRA. DOÑA MARGARITA SALAS FALGUERAS
EL DÍA 24 DE MARZO DE 2004**



**MADRID
Domicilio de la Academia
Valverde, 22**

Depósito legal: M. 9.147-2004

Reproducido por Realigraf, S. A. - Pedro Tezano, 26. 28039 Madrid

ÍNDICE

	<u>Págs.</u>
Introducción	8
El citoesqueleto neuronal	11
MAP1B y el desarrollo axonal	15
Dendritas	21
Procesos neurodegenerativos (Enfermedad de Alzheimer)....	26
Modelos de ratones transgénicos	33
Regeneración axonal	38
Referencias	46
Discurso de contestación de la Exma. Sra. Doña Margarita Salas Falgueras	57

Excmo. Sr. Presidente,
Excmos. Señores Académicos,
Señoras y Señores,

Primeramente quiero agradecer a esta Real Academia el honor que me ha dispensado nombrándome miembro de la misma. Intentaré con mi trabajo en esta prestigiosa institución hacerme valedor de este nombramiento.

Quiero también expresar mi gratitud a los Académicos D. Carlos Belmonte, D. Pedro García Barreno y Dña. Margarita Salas por presentar mi candidatura.

Quisiera extender dicho reconocimiento a los otros miembros de esta Real Academia que influyeron en mi formación: uno de ellos, ya fallecido, D. Ángel Martín Municio, que fue mi primer Profesor de Bioquímica, y el otro, D. Luis Franco, que intentó enseñarme en el Instituto Alonso Barba cómo manejarme en un laboratorio.

Quisiera dejar constancia de mi agradecimiento a mis maestros, aquellos que más han influido en mi desarrollo como investigador, Dña. Margarita Salas, mi Directora de Tesis Doctoral, que siempre me ha ayudado y aconsejado sabiamente, y a Eladio Viñuela que ha sido, conjuntamente con Margarita, quién más ha influido en mi carrera científica y que me enseñó los pasos necesarios para desarrollarla: primero había que conocer las técnicas, por lo que había que trabajar en aquel laboratorio en donde se pudiesen aprender. Simultáneamente, había que adquirir los criterios que distinguiesen lo válido de lo superfluo; para ello recomendaba la lectura en la biblioteca así como la participación en los seminarios, y finalmente, y este paso había que darlo individualmente, había que plantearse las preguntas correctas para intentar, posteriormente, conocer cual era el mecanismo de un problema biológico. Aunque es obvio que esta Real Academia ha tenido, y tiene, entre sus miembros Científicos excelentes, hay otros Científicos que, aun teniendo grandes y suficientes méritos, nunca accedieron a ella. Posiblemente el paradigma de estos Científicos sea Eladio Viñuela, uno de los mejores Investigadores que haya tenido España.

El ambiente de trabajo hace mucho en el desarrollo de una carrera científica y en este sentido he sido afortunado al trabajar en el Centro de Investigaciones Biológicas, en los Institutos Nacionales de la Salud, en Estados Unidos, y en el Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa”. El Centro de Biología Molecular del CSIC y de la

UAM es un lugar en donde han trabajado o trabajan, entre muchos otros (y perdón por no nombrar a todos los que se lo merecen), Severo Ochoa, Eladio Viñuela, Margarita Salas, Federico Mayor Zaragoza, Antonio García Bellido, David Vázquez, Ginés Morata, Juan Modolell, Mariano Barbacid, Carlos Martínez, Fernando Jiménez, Antonio Nieto, Antonio Talavera, Javier de la Torre, José María Lázaro, Luis Serrano, Balbino Alarcón, Jorge Moscat, Crisanto Gutiérrez, César de Haro, Fernando Valdivieso, Federico Mayor Menéndez, Carmen Aragón, Alfredo Villasante, Isabel Correas, Miguel Ángel Alonso, Javier Díaz-Nido, José Javier Lucas, Francisco Wandosell, o Nieves Villanueva. Un lugar en donde tengo buenos compañeros y donde también he tenido el privilegio de contar con excelentes colaboradores.

No quiero terminar esta parte de mi intervención sin nombrar a mi familia por su ayuda y apoyo constantes, a Nieves, mi mujer, y a Marina, mi hija. A mis padres y hermanas: una de ellas, Paloma, que me ayudó a que aprendiera algo de matemáticas.

En el Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa”, con mi primer becario Víctor González Corcés, empecé a trabajar en un tema novedoso en nuestro país, y prácticamente también fuera de él en aquel tiempo, el citoesqueleto. Sobre este tema voy a disertar hoy con un discurso denominado:

“Cómo determina el citoesqueleto la forma de una neurona”.

Yo les voy a hablar hoy de formas. Recuerdo que Margarita Salas ha venido estudiando durante mucho tiempo el bacteriófago $\phi 29$, y que una de las preguntas iniciales, de ella y de Eladio Viñuela, era determinar su complejidad morfológica. Yo hoy no les voy a hablar de fagos, sino de vertebrados.

Para estudiar diferentes formas es importante determinar el modo y nivel de análisis. El nivel puede ser el del conjunto del organismo, el celular, o el molecular. Cuando se trata de un organismo, la interpretación de un mismo análisis puede variar. Por ejemplo, la apreciación de las formas humanas es claro que difiere entre Rubens y Giacometti. A otros niveles las discrepancias suelen ser menores, por lo que intentaré indicar en mi disertación cómo se determina la forma de una neurona a nivel molecular.

Para ello trataré ir respondiendo a preguntas tales como: ¿qué determina el crecimiento de un axón y de las dendritas en el desarrollo morfológico de una neurona? ¿Cómo se producen los cambios morfológicos neuronales en procesos neurodegenerativos? y ¿Cómo podría el axón de una neurona repararse tras ser lesionado?

Existen, en un organismo superior, esencialmente cuatro tipos de tejidos, el conectivo, el epitelial, el muscular y el nervioso. Estos tejidos están formados por diferentes células con diferentes formas, siendo las células del sistema nervioso, las neuronas, las que muestran una mayor complejidad morfológica. Tan diferentes y complejas son que algunos investigadores interpretaron durante mucho tiempo que

los componentes del tejido nervioso no eran realmente células. Afortunadamente, D. Santiago Ramón y Cajal, un antiguo miembro de esta Real Academia, demostró con su teoría neuronal, ilustrada con sus dibujos, no sólo el carácter celular de los componentes del tejido nervioso, sino cómo se llevaba a cabo su desarrollo ¹. Ramón y Cajal no fue sólo un excelente científico sino también un excelente dibujante hiperrealista, en comparación con Rubens y Giacometti. Hace ya 100 años que D. Santiago indicó cómo una célula precursora, el neuroblasto, cambia su morfología para dar lugar a una neurona ² (Figura 1).

Un neuroblasto es una célula con una forma esférica, y ello se debe a que los componentes de su armazón, o citoesqueleto, son componentes dinámicos que se están ensamblando y despolimerizando de un modo continuo. Si la probabilidad de polimerización y despolimerización de este armazón es la misma en cualquier dirección de la célula, la forma que resultará será una esfera, pero si en una dirección determinada el armazón se estabiliza, en esta dirección se producirá una extensión de su citoplasma. Estas extensiones darán lugar a la formación del axon y de las dendritas de una neurona. ^{3,4}.

¿Por qué es importante la forma de una neurona? Porque determina el funcionamiento del sistema nervioso. Ahora mismo yo me estoy comunicando con Vds., y como consecuencia de ello algunos de Vds. pueden estar interesados, otros aburridos, y otros estarán pensando en

otras cosas. Estos comportamientos se deben al funcionamiento de nuestro sistema nervioso.

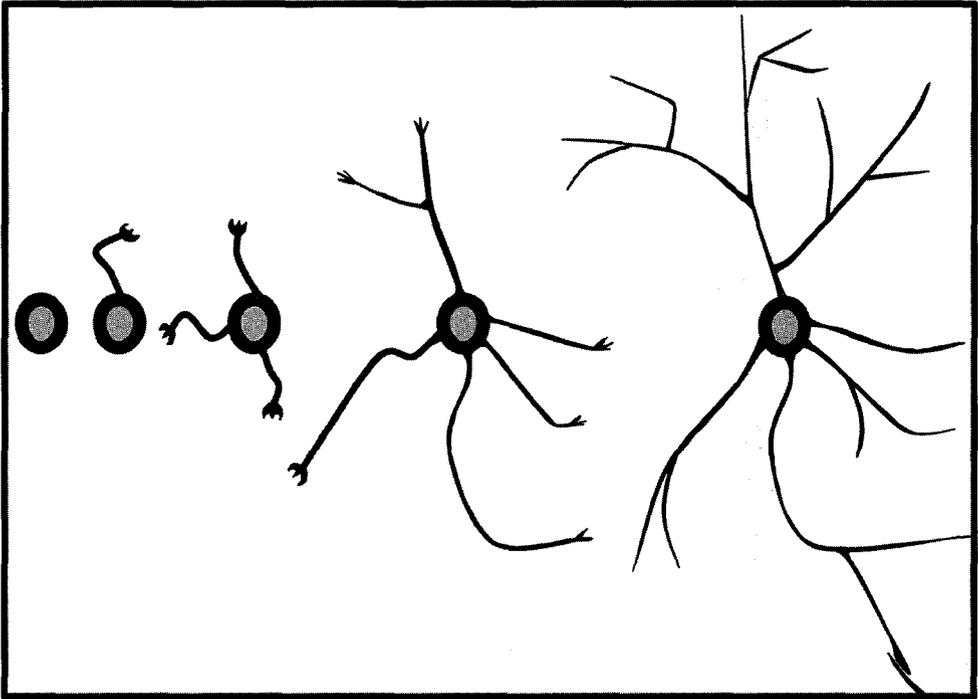


Figura 1. Se muestra la diferenciación de un neuroblasto, con forma esférica, a una neurona, con forma compleja. La morfología final de la neurona le facilita la interacción (sinapsis) con otras neuronas.

El sistema nervioso funciona como una red en donde una neurona transmite, mediante los neurotransmisores, información a otra. Para esta transmisión las neuronas deben de contactar en algún punto, donde se produce la sinapsis, y para ello deben de tener una forma tal que pueda permitir dicho contacto. Es decir, la forma de una neurona es esencial para su funcionamiento y para el del sistema nervioso. Si la forma de una neurona la determina su armazón celular o

citoesqueleto, parece importante conocer la estructura del citoesqueleto.

El citoesqueleto neuronal

El citoesqueleto de una neurona está formado por tres tipos de estructuras fibrilares, los microtúbulos (formados por tubulina) (Figura 2), los microfilamentos (formados por actina) y los filamentos intermedios (formados por las proteínas de los neurofilamentos) ⁵.

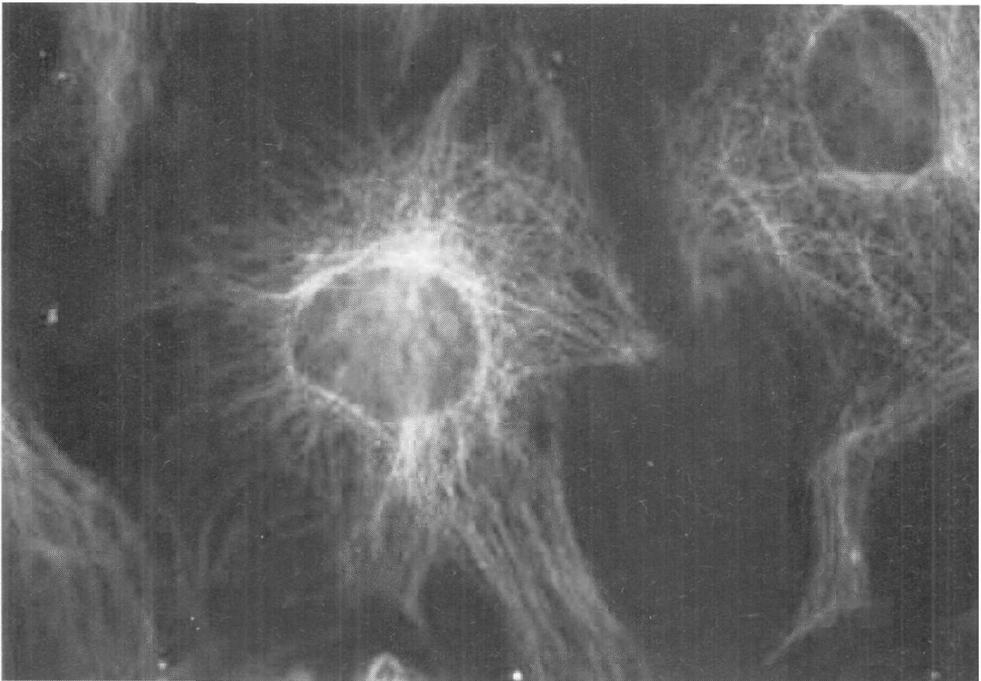


Figura 2. Los diferentes componentes del citoesqueleto pueden identificarse mediante inmunofluorescencia. En este caso puede observarse la red microtubular en una célula no nerviosa, mediante el uso de anticuerpos contra tubulina.

En un estadio inicial del desarrollo neuronal los elementos más relevantes del citoesqueleto son los microtúbulos que forman fundamentalmente el armazón que organiza el citoplasma, junto con los microfilamentos que, mayormente, forman el armazón que interacciona con la membrana celular.

Si volvemos al neuroblasto esférico de Cajal, para que se produzca un cambio en su forma debe de requerirse una modificación de su membrana (en la que intervendrán los microfilamentos) y una extensión de su citoplasma (en la que intervendrán los microtúbulos). Tanto los microfilamentos como los microtúbulos son estructuras dinámicas, y para que se produzca una extensión citoplásmica los microtúbulos deben de estabilizarse en aquella dirección en donde se vaya a producir dicha extensión del citoplasma. Así pues, es interesante conocer cuales son los factores que estabilizan a los microtúbulos. La respuesta es que entre estos factores están unas proteínas que se conocen como proteínas asociadas a los microtúbulos o MAPs ⁶ (Figura 3).

Existen varias proteínas asociadas a los microtúbulos, de las que fundamentalmente hablaré de tres, denominadas MAP1, MAP2 y tau. Existen dos proteínas denominadas MAP1A y MAP1B. En esta disertación no se comentará nada sobre MAP1A, por lo que cuando se mencione MAP1, me estaré refiriendo a MAP1B.

Por otra parte, existen otras MAPs en otros tipos celulares y en otros organismos ⁷.

MAP1 es la primera MAP que se expresa en una neurona, fundamentalmente en el axón, pero una vez que la neurona se ha diferenciado totalmente deja de expresarse, siendo la proteína tau la que entonces la reemplaza, estabilizando a los microtúbulos en neuronas ya maduras.

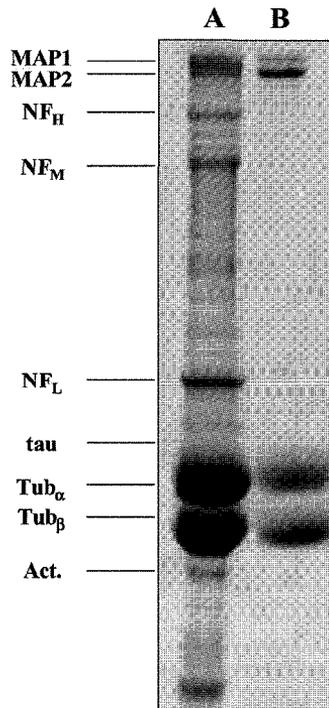


Figura 3. a) Se indican las diferentes proteínas presentes en un primer ciclo de polimerización in vitro de microtúbulos. Se observa en dicha preparación la presencia de las subunidades α y β de tubulina, las de las proteínas asociadas a los microtúbulos (MAPs), fundamentalmente MAP1 y MAP2, y la contaminación de otras proteínas como actina (Act) y la de los neurofilamentos (NF_H, NF_M y NF_L). **b)** Se indican las proteínas presentes tras varios ciclos de polimerización de microtúbulos. En este caso sólo están presentes las subunidades de tubulina y las MAPs.

Dado que los microtúbulos son polímeros de tubulina se ha analizado cómo las MAPs interaccionan con tubulina, determinándose que esta

interacción es de carácter iónico entre una región rica en aminoácidos básicos, presente en las diferentes MAPs, con una región rica en aminoácidos ácidos⁸ presente en el extremo carboxilo-terminal de la tubulina^{9, 10} (Figuras 4 y 5). A esta conclusión se llegó tras realizar estudios de proteolisis limitada de las subunidades de la tubulina, observándose que la tubulina truncada que carecía de su extremo carboxilo-terminal podría polimerizar sin la ayuda de las MAPs¹⁰.

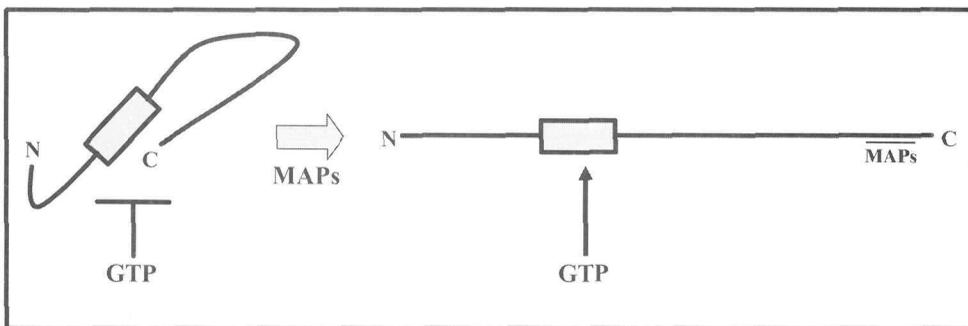


Figura 4. La unión de las MAPs al extremo carboxilotermino de las subunidades de tubulina puede permitir la unión de GTP (a la tubulina) y su polimerización en microtúbulos. En ausencia de las MAPs, la unión de GTP a la tubulina está dificultada, por la posible interacción del C-terminal con la zona de unión a las MAPs.

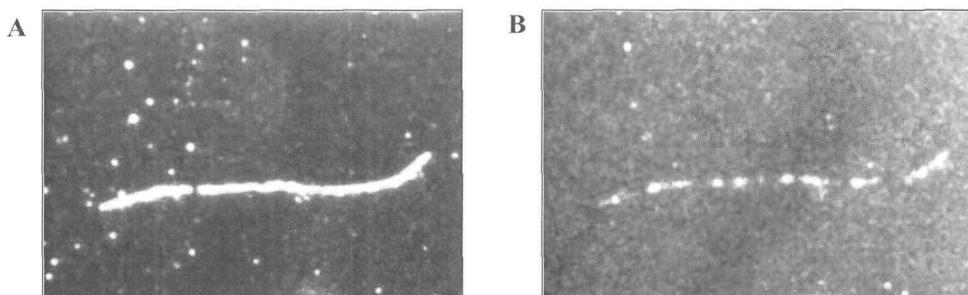


Figura 5. La unión de las MAPs a los microtúbulos puede seguirse por experimentos de doble inmunofluorescencia utilizando anticuerpos contra tubulina (A) y contra una determinada MAP (B) para teñir microtúbulos polimerizados in vitro.

Por otra parte, se observó que la región rica en aminoácidos básicos de las MAPs eran capaces de unirse a otras moléculas de carácter aniónico como los ácidos nucleicos ¹¹.

Dado que de estas MAPs la primera que se expresa en una célula progenitora neuronal es MAP1 ¹², se realizó el análisis de la función de esta proteína para comprender cómo se desarrolla morfológicamente una neurona.

MAP1B y el desarrollo axonal

Para conocer la función de una proteína en un organismo lo mejor es aislar un mutante que carezca de dicha proteína y compararlo con un organismo normal, para determinar las diferencias. En el caso de MAP1 se aisló un ratón mutante que carecía de dicha proteína ¹³ (Figura 6).

El ratón mutante moría en el transcurso del primer día de su vida. Tras su nacimiento tenía afectadas diferentes partes de su sistema nervioso. Así, su corteza cerebral no estaba correctamente laminada, su hipocampo estaba desorganizado y su cerebelo deficientemente lobulizado.

Para un análisis más detallado de su fenotipo se estudiaron posibles defectos a nivel celular, ya que actualmente es posible mimetizar en cultivos primarios de neuronas el desarrollo morfológico de una neurona ¹⁴.

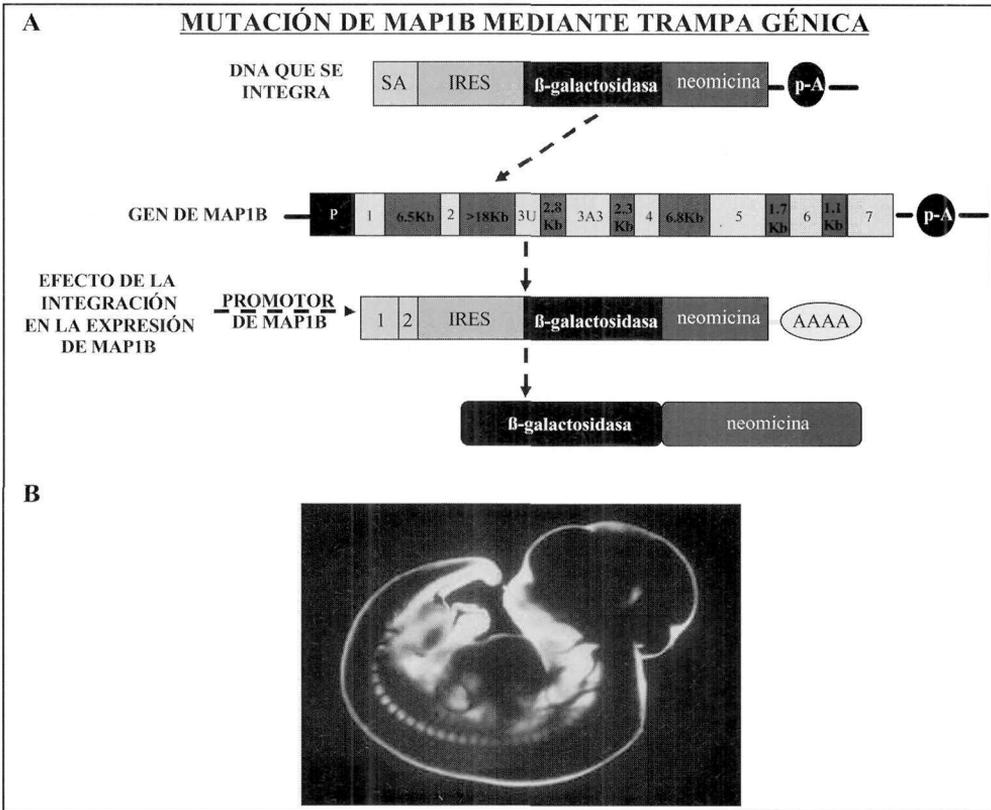


Figura 6. A) Esquema del gen de MAPI(B) y de cómo tras insertar un fragmento de DNA, sólo una parte (no funcional) de la proteína se expresa, B) Esquema indicando donde se localiza la expresión del fragmento de DNA insertado, en un embrión de ratón de 13 días. Se observa su localización en el sistema nervioso.

En un primer estadio, las neuronas cultivadas poseen una forma esférica, que va a ir transformándose mediante la formación de extensiones citoplásmicas en una célula de forma compleja ¹⁵⁻¹⁷. A estadios tempranos del cultivo se observa la extensión del axón (axonogénesis) y posteriormente la ramificación dendrítica, pudiendo incluso llegar a observarse la formación de contactos entre las neuronas cultivadas. Este proceso está perfectamente caracterizado y

es reproducible en cultivos primarios de neuronas de hipocampo de un ratón silvestre. Sin embargo, en un ratón mutante, que no posee la proteína MAP1, existe un defecto en la axonogénesis, siendo este proceso muy lento comparado con el que se produce en las neuronas del ratón silvestre ¹⁴ (Figura 7).

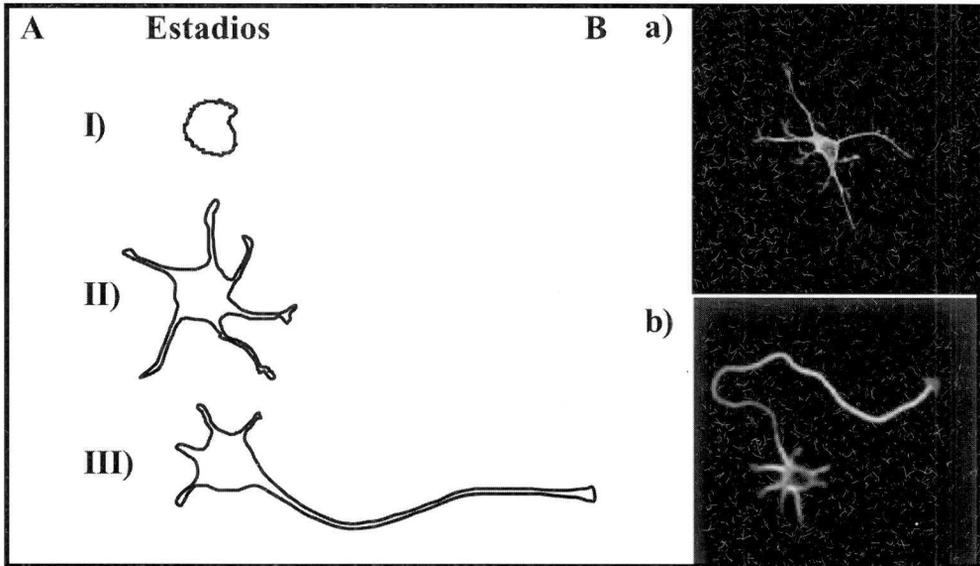


Figura 7. A) Esquema de la diferenciación, en cultivo celular, de neuronas de hipocampo, indicando los estadios I, II y III de diferenciación. B) Comparación de las células en estadio III, de un mutante que carece de MAP1 (a) y del correspondiente control silvestre (b).

Las consecuencias de este defecto en el ratón mutante se han relacionado con una migración neuronal que se observa en estos ratones, basándose en el hecho de que para la migración neuronal se necesita que las extensiones citoplásmicas se realicen correctamente. Este defecto que implica una deficiente migración neuronal, puede provocar en el ser humano una patología conocida como lisencefalia.

MAP1 y los microfilamentos

Previamente se ha comentado que el proceso de extensión del citoplasma requiere un cambio del armazón que interacciona con la membrana celular (los microfilamentos) ¹⁷ que pueda permitir la penetración posterior de los microtúbulos estables que van a dar lugar a la permanencia de dicha extensión citoplásmica ¹⁸ (Figura 8).

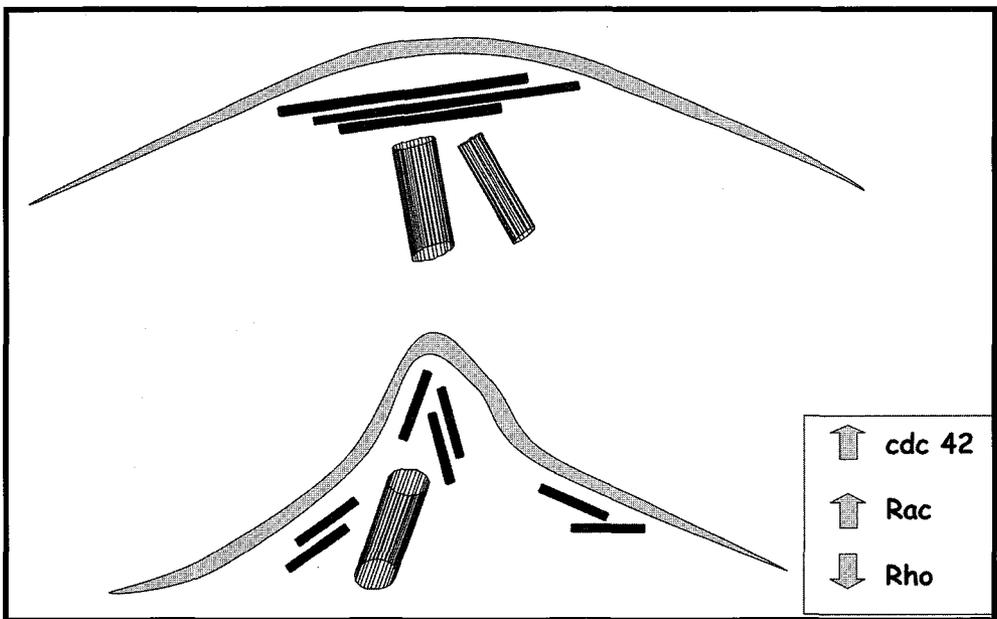


Figura 8. Esquema indicando el cambio en el armazón que interacciona con la membrana celular, microfilamentos (-), para permitir la extensión del citoplasma. En este proceso la actividad de las proteínas cdc42, Rac, y Rho, varía según lo indicado.

De este modo se estudió si MAP1, aparte de interaccionar con los microtúbulos, podría también intervenir en la reorganización de los microfilamentos dando lugar a la remodelación de la membrana celular que se requiere para un cambio morfológico.

Se han descrito tres familias de proteínas, Rho, Rac y cdc42 ¹⁹, que determinan cambios en la membrana de una neurona tras reorganizar a los microfilamentos, e indirectamente a los microtúbulos (Figura 9).

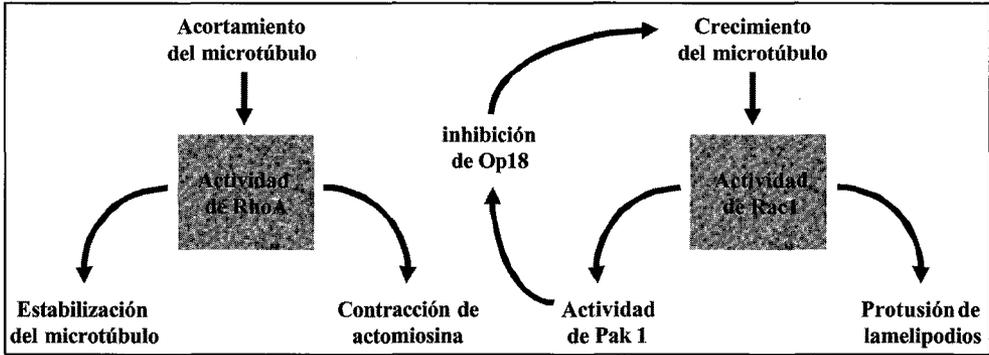


Figura 9. A) Se indica cómo el comportamiento o crecimiento de los microtúbulos influye sobre la actividad de la proteína Rho y B) Sobre la actividad de la proteína Rac. Tras la activación de estas proteínas se produce una reorganización de los microfilamentos.

En el caso de Rho, su activación previene la formación de las extensiones citoplásmicas, Rac forma unas extensiones anchas, conocidas como lamelipodios, y finalmente cdc42 da lugar a unas extensiones más finas conocidas como filópodos. Estos tres tipos de proteínas requieren para su actividad la asociación de GTP, y cuando este se hidroliza a GDP dejan de funcionar.

Para regular su función existen proteínas que facilitan la hidrólisis de GTP a GDP y otras que favorecen el intercambio de GDP por GTP. Entre estas últimas está una proteína conocida como Tiam-1 que facilita el intercambio del GDP por GTP, específicamente para Rac, activándola, y dando lugar a la formación de un lamelipodio (González-Billault et al., en prensa).

Comparando el comportamiento de un ratón silvestre con el ratón mutante que carece de MAP1, se observó que en el caso del ratón silvestre Tiam-1 se une a microtúbulos, a través de MAP1, y que Tiam-1, unida a los microtúbulos, puede activar a Rac, y Rac activada puede reorganizar a los microfilamentos, que modulan la forma de la membrana celular, dando lugar a un lamelipodio que se convertirá en la parte distal de un axón en crecimiento. Este proceso no ocurre en el ratón que carece de MAP1B.

Adicionalmente, la función de MAP1 en la formación de un axón puede estar modulada por una modificación de MAP1, su fosforilación. Esta fosforilación de MAP1 puede regular la mayor o menor unión de la proteína a los microtúbulos. MAP1 fosforilada se une menos a los microtúbulos, y está localizada en la parte más distal del axón, la región a la que Ramón y Cajal denominó como de crecimiento. Como consecuencia de la menor unión de MAP1 a los microtúbulos en esa región, los microtúbulos son más inestables, lo que permite tener una mayor plasticidad que favorece el desarrollo y crecimiento del axón^{20, 21}.

MAP1 es pues la primera MAP implicada en la formación del axón. Posteriormente, en estadios más tardíos del desarrollo, su función puede ser sustituida, o por la proteína tau, o por una forma de la proteína MAP2. A esta conclusión se llegó estudiando cultivos celulares de neuronas que carecían de MAP2 o de tau²².

Dendritas

Se ha sugerido que durante la transición de neuroblasto a neurona pueden formarse diferentes extensiones citoplásmicas que al ser muy dinámicas se extienden y retraen constantemente. En principio, cualquiera de ellas puede convertirse en un axón, y es aquella en la que primeramente se produce una dramática reorganización de sus microfilamentos asociados a la membrana, la que se convierte en un axón ¹⁷, pasando el resto de las extensiones a convertirse en dendritas. Para este proceso, han sido involucrados factores tróficos como el factor neurotrófico derivado del cerebro, BDNF ²³, o factores implicados en la navegación axonal como semaforina 3A o slit ²⁴. Tras la señal provocada por la recepción de estos factores, proteínas relacionadas con el ensamblaje de microfilamentos, como cdc42 ²⁵, flamingo o tropomiosina ^{26, 27}, favorecen la formación de extensiones citoplásmicas que serán estabilizadas por el ensamblaje de microtúbulos, en este caso estabilizados por la proteína MAP2. Esta implicación de la proteína MAP2 en el proceso de dendritogénesis ha sido recientemente corroborada tras el análisis de un ratón que carece de dicha proteína y en el que se ha observado un gran decrecimiento en el número de dendritas de sus neuronas analizadas ²⁸.

Una peculiaridad de las dendritas, también observada por Ramón y Cajal, es la existencia en su estructura de pequeños filopodios, que pueden dar lugar, aunque esto es todavía objeto de controversia, a las

espinas dendríticas, término acuñado por el mismo Cajal ²⁹. También Cajal anticipó que las espinas dendríticas podrían ser la zona de interacción de las dendritas de una neurona con el axón de otra neurona, es decir el sitio donde tiene lugar la sinapsis ³⁰. Las espinas pueden constituir pues la densidad postsináptica, por lo cual tienen una extraordinaria importancia, pudiendo cambiar su morfología tras procesos de potenciación sináptica, en los que se facilita la eficiencia de la transmisión entre neuronas ³¹.

La formación de espinas dendríticas ha sido recientemente muy estudiada. El proceso de formación de las espinas parece requerir de la acción de Rac y de cdc42 ²⁵, ya que un decrecimiento en estas proteínas se correlaciona con una disminución en el número de espinas dendríticas. En el caso de cdc42 la formación de filopodios se favorece mediante la interacción sucesiva de las siguientes proteínas: EphB-syndecan, 2-interstactina-cdc42 y WASP ³². Adicionalmente, para la posible transición filopodio-espina la ausencia de la proteína kalirina, un factor que intercambia GDP asociado a Rac por GTP, también da lugar a una menor formación de espinas dendríticas, por lo que se ha propuesto el siguiente mecanismo para dicha transición: activación de kalirina, activación de Rac, activación de la kinasa PAK-1 (dependiente de Rac), y formación del lamelipodio, que dará lugar a la espina ³².

Desde un punto de vista estructural las densidades postsinápticas están enriquecidas por proteínas que anclan los receptores de un

neurotransmisor excitatorio como el glutamato. Así, la proteína Shank está implicada en el anclaje de receptores NMDA (Figura 10) a través de proteínas como GKAP o PSD95 mientras que los receptores mGlu interaccionan con la proteína Homer³³.

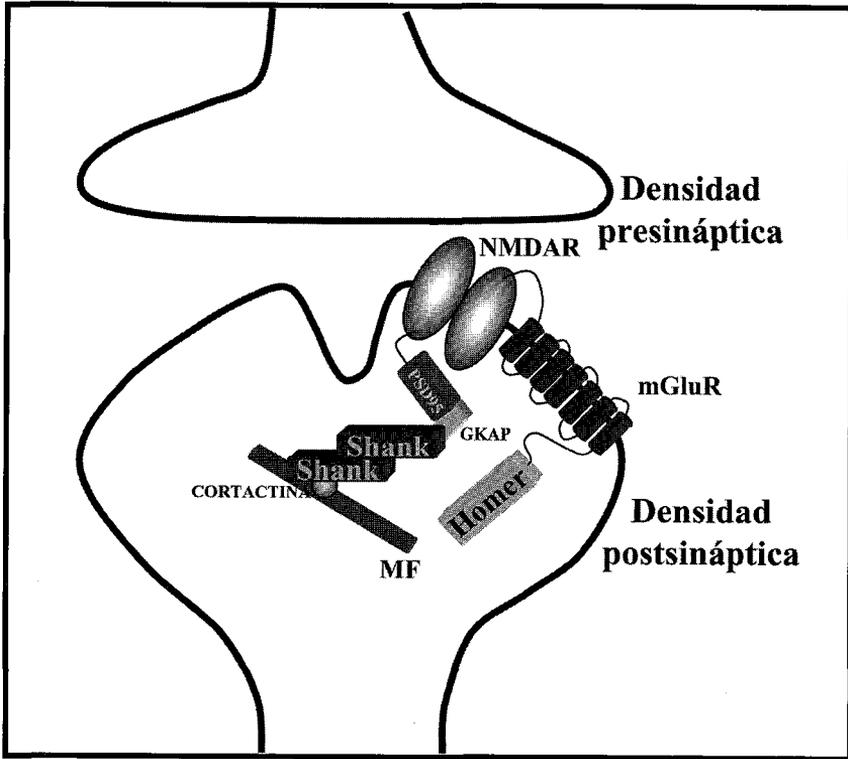


Figura 10. Estructura de una densidad postsináptica conteniendo receptores de glutamato (NMDA y mGlu) anclados por proteínas como PSD-95, GKAP, Shank y Homer, y a microfilamentos (a través de la interacción de Shank con cortactina).

La sobreexpresión de estas proteínas da lugar a un aumento en el tamaño de las espinas dendríticas dando lugar a megaespinas. En estas megaespinas, Shank interacciona con actina polimerizada a través de proteínas como cortactina. Además, MAP2, que también puede interaccionar con actina, puede estar presente en extensiones

dendríticas donde cambia su nivel de fosforilación, dependiendo de que exista o no neurotransmisión ^{34, 35}.

Adicionalmente, cambios dramáticos en el nivel de fosforilación de MAP2 en esas estructuras han sido relacionados con procesos de epilepsia.

Otra proteína relacionada con actina, cofilina, varía también su nivel de fosforilación en el proceso de formación de una espina dendrítica ³⁶.

Finalmente, cabe indicar la gran concentración en la densidad postsináptica ³⁷ de una proteína, implicada en procesos de aprendizaje y de memoria, la calcio-calmodulina quinasa.

Así pues, resumiendo, nuestros conocimientos actuales indican que la proteína MAP1, y posteriormente tau, están implicadas en la formación y estabilización del axón de una neurona. La estabilización del axón se refuerza tras la expresión y ensamblaje del tercer componente del citoesqueleto, los neurofilamentos ³⁸, y con la posterior mielinización de los axones, tras unirse a ellos los oligodendrocitos, en el sistema nervioso central, o las células de Schwann, en el sistema nervioso periférico. Tras la mielinización, el tamaño del calibre axonal puede regularse por la fosforilación de las proteínas de los neurofilamentos.

Todos los microtúbulos de un axón poseen la misma direccionalidad, con su extremo a través del cual el microtúbulo crece situado en la parte distal del axón. Esta uniformidad parece crítica para el transporte

axonal anterogrado (que tiene lugar mediante la presencia de las proteínas motoras denominadas kinesinas), como para el transporte retrógrado (que se realiza mediante otro tipo de proteína motora, la dineína)³⁹.

Por otra parte, la proteína MAP2 estabiliza a los microtúbulos de las dendritas. Estos microtúbulos, a diferencia de los axonales, poseen una doble direccionalidad, sugiriéndose que en este caso el transporte a través de los microtúbulos tiene lugar por una kinesina conocida como CHO-1/MKLP-1⁴⁰.

De esta manera queda establecida la morfología de una neurona. Esta morfología será funcional cuando el axón de una neurona pueda interactuar con su dendrita presente en otra neurona; para ello la extensión y navegación de un axón hasta llegar a su objetivo debe de ser correcta. Para esta navegación se han descrito factores atrayentes, para aproximar el axón a determinadas regiones, o factores repulsores, para alejarlo de otras regiones. De esta manera, mediante estos factores entre los que se encuentran los denominados como netrinas, semaforinas u otros, el axón puede llegar a su destino correcto⁴¹. Recientemente se ha indicado que en este desplazamiento axonal, MAP1 puede también tener una función, función que parece estar regulada por el modo de fosforilación de MAP1 (González-Billault, en preparación).

Existen dos modos de fosforilación de MAP1, modo 1 y modo 2²¹. En el modo 1 la proteína MAP1 se modifica por la quinasa GSK3,

mientras que en el modo 2 la fosforilación tiene lugar por la quinasa caseína quinasa 2. En el caso de la elongación axonal se produce una fosforilación modo 1 de la proteína MAP1 localizada en la zona distal del axón ²¹. El modo 2 de fosforilación parece estabilizar el microtúbulo ensamblado.

Finalmente, MAP1 parece jugar un importante papel, no sólo en procesos de desarrollo neuronal, sino también en procesos de regeneración neuronal, algo que se comenta en la parte final de este discurso ^{42, 43}.

Imagínense ahora que una vez que las neuronas se han desarrollado correctamente, han establecido sus conexiones específicas y el sistema nervioso va bien, de repente se produce un cambio morfológico en las neuronas por retracción de sus extensiones citoplásmicas (como el axón y las dendritas), y las conexiones nerviosas dejan de producirse (Figura 11). ¿Qué es lo que sucede? Pues un proceso neurodegenerativo como puede ser la enfermedad de Alzheimer.

Procesos neurodegenerativos – Enfermedad de Alzheimer

En la enfermedad de Alzheimer tiene lugar una pérdida de la memoria a corto plazo, existen problemas de aprendizaje, falta de reconocimiento de la funcionalidad de instrumentos u objetos, problemas de lenguaje, pérdida de la mecánica de cómo vestirse o elegir la propia ropa, la capacidad de manejar la economía personal, y

en estadios más tardíos, puede tener lugar la aparición de alucinaciones. El coste, no sólo humano, sino económico y social es muy grande. Desgraciadamente, es una enfermedad muy extendida entre la población mayor de 70 años, en donde la incidencia está estimada alrededor del 20 %.

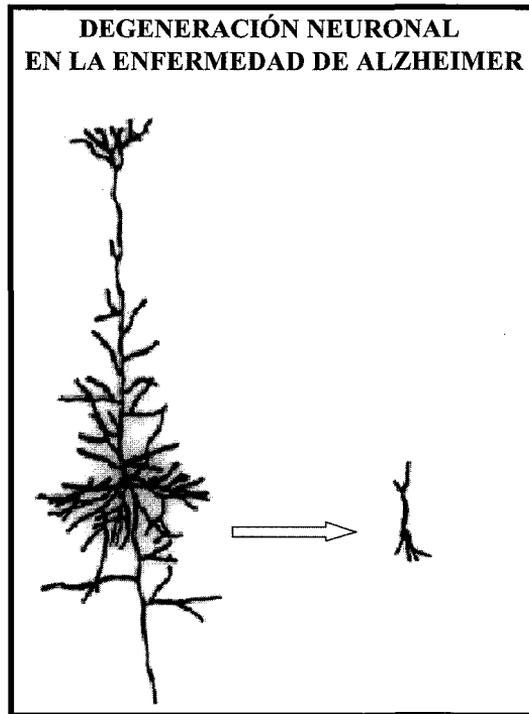


Figura 11. En procesos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer se produce un cambio morfológico en determinadas neuronas, pasando de tener una morfología compleja a una morfología más sencilla en que la interacción neurona-neurona puede no tener lugar.

Así pues, el mayor riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer parece estar relacionado con el envejecimiento. De este modo se han estudiado en organismos simples como la levadura (*Sacharomyces cerevisiae*), el gusano (*Caernohabditis elegans*) o la mosca

(*Drosophila melanogaster*), qué genes podrían estar implicados en procesos de envejecimiento. En el caso del gusano se ha determinado que mutaciones en genes determinados pueden prolongar considerablemente, y en buenas condiciones, la vida del organismo. Dichas mutaciones tienen lugar en genes que expresan las proteínas DAF-2 y DAF-16. DAF-2 es una proteína con características similares al receptor de insulina (o de IGF-1) de vertebrados. Esta proteína está implicada en un proceso de señalización que evita la expresión de DAF-16, una proteína localizada en el núcleo celular. Esta proteína facilita la expresión de otras proteínas implicadas en eliminar productos del estrés oxidativo (antioxidantes).

Por otra parte, la presencia de DAF-16 previene la expresión de otras proteínas del gusano como INS-7 (una proteína relacionada con la insulina de vertebrados). Adicionalmente, el proceso de señalización por insulina ha sido relacionado con la regulación de la actividad de diferentes proteínas quinasas entre las que se encuentra la quinasa glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK3).

Pero volvamos a nuestras neuronas.

En una neurona ya desarrollada y funcional la MAP axonal mayoritaria es la proteína tau. Esta proteína se une a los microtúbulos a través de unas secuencias que son similares, pero no idénticas, y que pueden ser tres o cuatro, dependiendo del modo de procesamiento del RNA nuclear a RNA mensajero^{44, 45}.

La proteína tau con cuatro repeticiones se une a los microtúbulos más fuertemente que la proteína con tres repeticiones ⁴⁶. Adicionalmente, la unión de tau a los microtúbulos se regula por fosforilación ⁴⁷. Cuanto mayor es su nivel de fosforilación, menor es su unión a los microtúbulos (Figura 12). En la enfermedad de Alzheimer tau se encuentra hiperfosforilada ⁴⁸.

UNIÓN DE TAU A MICROTÚBULOS

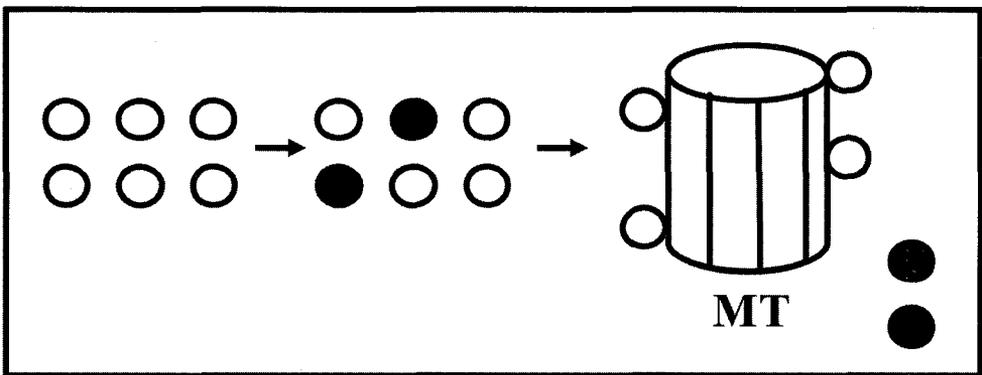


Figura 12. La proteína tau (○) se une a los microtúbulos estabilizándolos. Sin embargo, cuando está fosforilada (●), dicha unión (y estabilización) no se produce.

Diferentes proteínas quinasas pueden fosforilar a la proteína tau, y por su mecanismo de acción han sido divididas en quinasas dirigidas o no dirigidas por prolina. Entre las primeras, la quinasa que fosforila más residuos de la proteína tau, localizados alrededor de las secuencias repetidas que están implicadas en la unión a los microtúbulos, es la glicógeno sintasa quinasa o GSK3 ⁴⁹. Entre las segundas se ha destacado a la proteína quinasa A ⁵⁰, que fosforila residuos presentes en las secuencias repetidas de tau. La fosforilación de la proteína tau

por estas quinasas puede identificarse mediante el uso de anticuerpos que reconocen específicamente a la proteína fosforilada en residuos específicos ^{51, 52}. La proteína tau presente en los cerebros de pacientes afectados por la enfermedad de Alzheimer puede identificarse en sus autopsias, tras el uso de dichos anticuerpos.

La enfermedad de Alzheimer es una demencia senil que se caracteriza por la presencia de dos estructuras aberrantes en los cerebros de los pacientes que sufren la enfermedad: las placas seniles y los ovillos neurofibrilares (Figura 13) ^{53, 54}.

PLACAS SENILES Y OVILLOS NEUROFIBRILARES EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

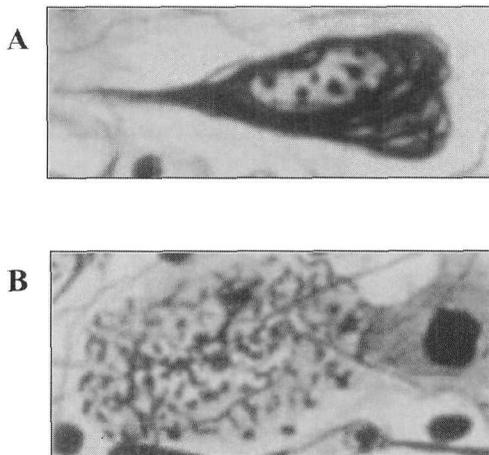


Figura 13. Esquema de los ovillos (A) y placas seniles (B), estructuras aberrantes que se encuentran en los cerebros de los pacientes que padecen la enfermedad de Alzheimer.

El número de placas seniles se relaciona con la edad del paciente, mientras que la presencia de los ovillos neurofibrilares está relacionada con el grado de demencia ⁵⁵. Las placas seniles están

formadas por un péptido (beta-amiloide) ⁵⁶ derivado de una proteína conocida como APP ⁵⁷; dicho péptido se forma en una cantidad anormalmente elevada en la enfermedad de Alzheimer.

Los ovillos neurofibrilares están formados por unos filamentos que a su vez están compuestos de la proteína tau hiperfosforilada ^{58, 59}. De hecho, mediante experimentos *in vitro* se ha conseguido reproducir la formación de ovillos neurofibrilares utilizando exclusivamente la proteína tau ⁶⁰. En este proceso de polimerización *in vitro* de la proteína tau se ha determinado que la zona de la proteína implicada en su autoasociación es la que contiene las secuencias repetidas que se unen a los microtúbulos ⁶¹. Así pues, en la enfermedad de Alzheimer la proteína tau, en vez de unirse a los microtúbulos, se une a sí misma formando polímeros filamentosos (Figura 14).

ESTRUCTURA DE LOS FILAMENTOS APAREADOS HELICOIDALES

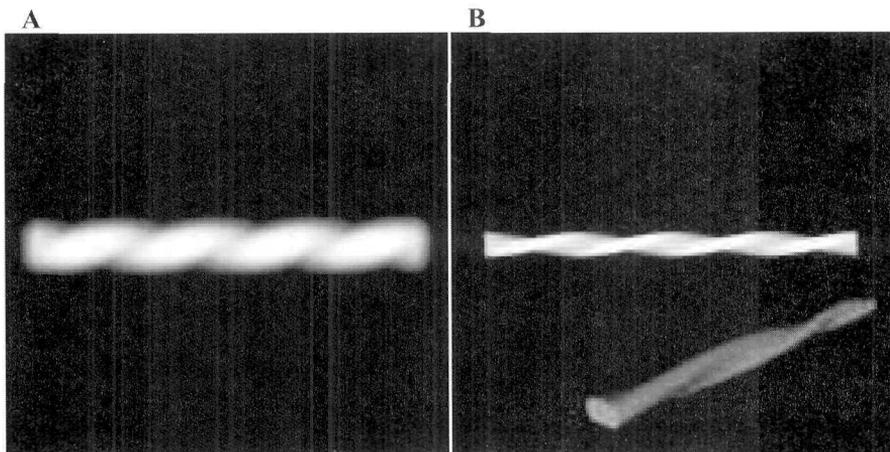


Figura 14. Los filamentos apareados helicoidales (PHF) pueden analizarse mediante técnicas de microscopía. En la Figura se muestra el resultado del análisis mediante microscopía de fuerzas atómicas (A) y un esquema que sugiere la estructura de los PHF (B).

La consecuencia de estos cambios es la desestabilización de los microtúbulos axonales, al no unirse tau a ellos. Adicionalmente, se produce la formación de los polímeros de tau, que pueden ser tóxicos para la neurona.

Se han estudiado posibles factores que pueden facilitar el ensamblaje de los polímeros de tau, habiéndose observado que moléculas como los sulfoglicosaminoglicanos, como por ejemplo la heparina, o los condriotin sulfatos, facilitan dicho ensamblaje ⁶².

También ácidos grasos y moléculas derivadas del proceso de peroxidación lipídica, como algunos aldehídos, facilitan la polimerización de tau ⁶³. Más recientemente, se ha indicado que algunas quinonas relacionadas con la coenzima Q o la vitamina K promueven la polimerización anómala de la proteína tau (Santamaría et al., en preparación). Esta polimerización anómala no sólo se produce en la enfermedad de Alzheimer sino también en otro tipo de demencias conocidas como tauopatías ⁶⁴. Ejemplos de estas tauopatías son las enfermedades de Pick, la degeneración corticobasal, la parálisis supranuclear progresiva o la demencia frontotemporal (asociada al cromosoma 17) ⁶⁵. En esta última tauopatía se han descrito pacientes en donde la proteína tau está mutada y, como consecuencia de dicha mutación, se producen agregados de la proteína tau. Curiosamente, las mutaciones encontradas en la proteína tau de pacientes afectados con demencia frontotemporal asociada al

cromosoma 17, están localizadas en la región por la que la proteína tau interacciona con los microtúbulos ⁶⁵.

Todos los datos anteriores relacionan a la proteína tau con procesos de demencia, y en todos los procesos neurológicos indicados la proteína tau se encuentra hiperfosforilada y se ensambla aberrantemente.

Modelos de ratones transgénicos

Con objeto de establecer si existe una posible relación entre la fosforilación y el ensamblaje de tau se han desarrollado modelos celulares en los que se ha estudiado la formación de filamentos induciendo una expresión elevada de tau e inhibiendo las actividades fosfatasa para lograr que tau estuviese hiperfosforilada. En estas condiciones se logró observar la formación de filamentos, formación que no se producía si se evitaba la hiperfosforilación de la proteína tau inhibiendo a la proteína quinasa GSK3 ⁶⁶.

Un modelo más complejo consistió en obtener un ratón transgénico (Figura 15) que sobreexpresa la quinasa GSK3 en aquellas regiones que están mayormente afectadas en un paciente de Alzheimer como son el hipocampo y la corteza cerebral. Esta expresión diferencial se puede realizar mediante el uso de un promotor específico que permita la expresión de GSK3 en las localizaciones indicadas.

Sin embargo, una expresión no regulada de una enzima como la GSK3, implicada en diferentes procesos metabólicos, puede dañar a

un organismo durante su desarrollo. Para evitar este problema el ratón transgénico se hizo condicional de tal modo que se pudiera inducir o apagar la expresión de la quinasa de un modo programado ⁶⁷.

RATÓN TRANSGÉNICO DE GSK3

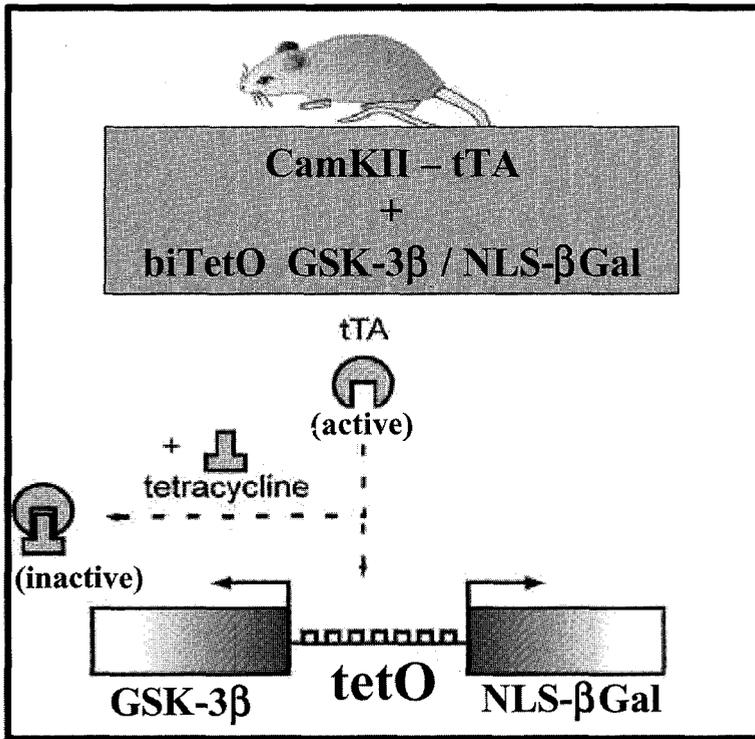


Figura 15. Esquema de la construcción del DNA utilizado para obtener un ratón transgénico que sobreexpresa la quinasa GSK3, de un modo condicional.

Analizando el modelo anterior se observó que en dicho ratón la proteína tau estaba hiperfosforilada, posiblemente agregada, pero no se observó formación de filamentos. Sin embargo, utilizando ensayos de comportamiento se comprobó que el ratón poseía déficits de

memoria ⁶⁸, y que desde ese punto de vista podría ser utilizado como modelo de ensayo de posibles fármacos.

Otro modelo que también se utilizó fue el de otro ratón transgénico que expresaba la proteína tau humana conteniendo alguna de las mutaciones que dan lugar a la demencia frontotemporal asociada al cromosoma 17 ⁶⁹ (Figura 16).

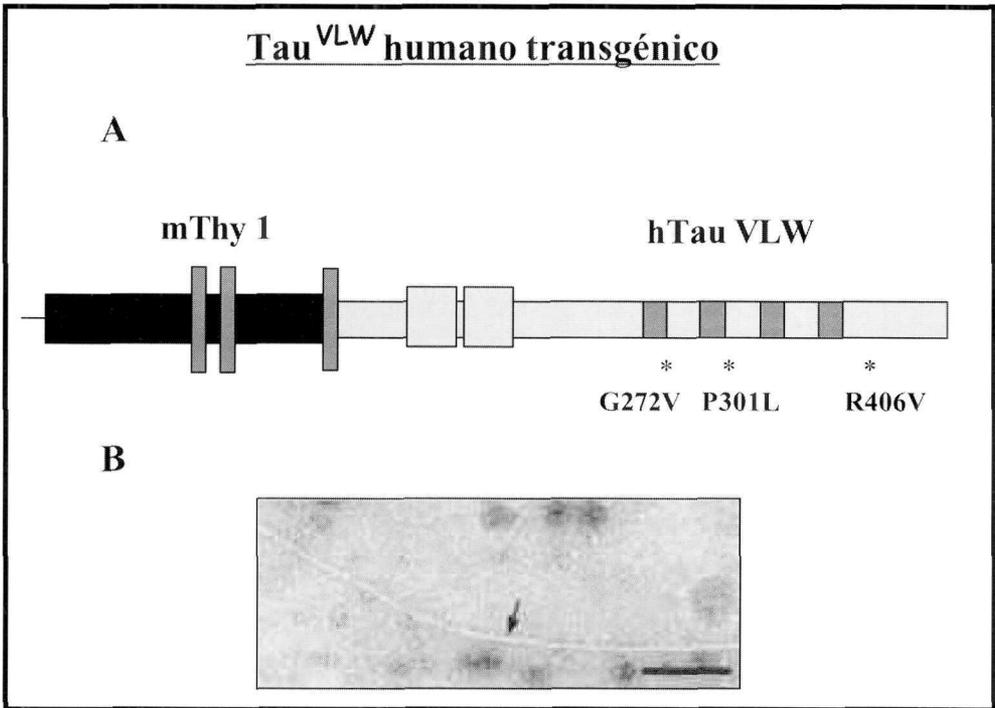


Figura 16. A) Esquema de la construcción del DNA utilizado para tener un ratón transgénico que sobreexpresa la proteína mutante tauVLW. B) Filamentos que se encuentran en el cerebro de dicho ratón.

En este modelo se obtuvieron filamentos en los que la proteína tau estaba hiperfosforilada, observándose que cuando a los ratones se les trataba con inhibidores de la GSK3, la formación de los filamentos de tau no tenía lugar ⁷⁰. Este hecho, junto con un hallazgo reciente

indicando que la inhibición de GSK3 evitaba la formación del péptido beta amiloide, componente de las placas seniles ⁷¹, sugiere la posible importancia de la quinasa GSK3 en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Por ello, la quinasa GSK3 podría constituir una diana terapéutica para dicha enfermedad ⁷².

Recientemente, se han empezado a desarrollar inhibidores de GSK3 unidos y cocrystalizados con la enzima para estudiar su modo de unión, determinando su capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica y buscando el que no afecten a la función de otras proteínas quinasa. Estos fármacos serán ensayados en ratones transgénicos antes de ser probados en clínica.

Tanto ratones como ratas han sido utilizados como modelos para estudiar otras enfermedades neurológicas (no sólo la enfermedad de Alzheimer u otras tauopatías), con objeto de ensayar posibles agentes terapéuticos.

Un ejemplo de estos modelos es el ratón transgénico que expresa una proteína, la huntingtina, no en su estructura silvestre, sino mutada (como se encuentra en los pacientes que padecen la enfermedad de Huntington). El gen que expresa la huntingtina posee un triplete CGA (que va a expresar el aminoácido glutamina) repetido varias veces. La consecuencia de esa repetición es que la proteína huntingtina posee una región de poliglutaminas. Pero la zona del gen que contiene las repeticiones del triplete CGA puede replicarse de un modo anómalo (patológico), que da lugar a una gran expansión de dichas repeticiones

y, como consecuencia de ello, a un aumento en el número de glutaminas. Esta proteína mutada, por exceso de glutaminas, pierde su función dando lugar a la patología que se observa en la enfermedad de Huntington, y que da lugar a la aparición de demencia, corea y problemas de comportamiento, como consecuencia de un daño que se produce en las neuronas del estriado.

Como modelo de esta enfermedad se ha aislado un ratón transgénico condicional que expresa en el estriado la forma mutante (patológica) de la huntingtina ⁷³.

Este ratón reproduce algunas de las características patológicas encontradas en la enfermedad de Huntington, como la aparición de agregados intracelulares, y un comportamiento coreico con la aparición de temblores.

Curiosamente, en este modelo condicional, se ha observado una relación entre la expresión de la proteína tóxica (huntingtina mutada) y la aparición de síntomas patológicos, produciéndose una reversión a la situación no patológica cuando la proteína tóxica deja de expresarse ⁷³.

En otros casos, el uso de roedores ha servido de modelo para probar técnicas terapéuticas. Por ejemplo, en la ataxia de Friedreich, se ha observado la desaparición de una proteína, la frataxina, necesaria para el buen funcionamiento de las mitocondrias. Dentro del sistema nervioso, las neuronas de Purkinje, presentes en el cerebelo, son las más sensibles a la pérdida de la proteína frataxina. Por ello, se ha

puesto a punto en roedores una técnica que consiste en suministrar una proteína determinada (que podría ser frataxina) a las células de Purkinje, mediante su infección, por un virus defectivo, que expresa la proteína que se quiera introducir (en nuestro caso frataxina) en las neuronas con déficit en dicha proteína ⁷⁴.

Regeneración axonal

Aparte de un proceso neurodegenerativo como la enfermedad de Alzheimer, que puede dar lugar a la retracción de las extensiones citoplásmicas que constituyen el axón y las dendritas, dando lugar a una disminución en las sinapsis y a una posterior muerte neuronal, una neurona puede sufrir otros daños que podrían ser irreversibles para su funcionalidad. En este sentido, ha sido prácticamente un dogma el que la ruptura de un axón de una neurona del sistema nervioso central, por ejemplo la que puede producirse en una lesión medular, no podría repararse, y que la regeneración axonal era imposible. De nuevo, D. Santiago Ramón y Cajal comentó este problema con las siguientes sabias palabras: "...la especialización funcional del cerebro impone a las neuronas dos grandes lagunas: incapacidad de proliferación e irreversibilidad de la diferenciación protoplasmática. Es por esta razón que, una vez terminado el desarrollo, las fuentes de crecimiento y regeneración de los axones y dendritas se secan irrevocablemente. En los cerebros adultos las vías nerviosas son algo fijo, terminado,

inmutable. Todo puede morir, nada puede regenerarse. Corresponde a la ciencia del futuro cambiar, si es posible, este cruel decreto.”⁷⁵.

De acuerdo con las últimas palabras de D. Santiago, existe al menos una excepción sobre la posibilidad de regeneración axonal en una neurona del sistema nervioso central y esta excepción es la que se produce para facilitar el contacto entre células del epitelio olfativo y neuronas del bulbo olfatorio que va cambiándose y renovándose a lo largo de la vida de un individuo y que requiere, obviamente, la regeneración y extensión periódicamente de los axones de las neuronas del bulbo olfatorio (Figura 17).

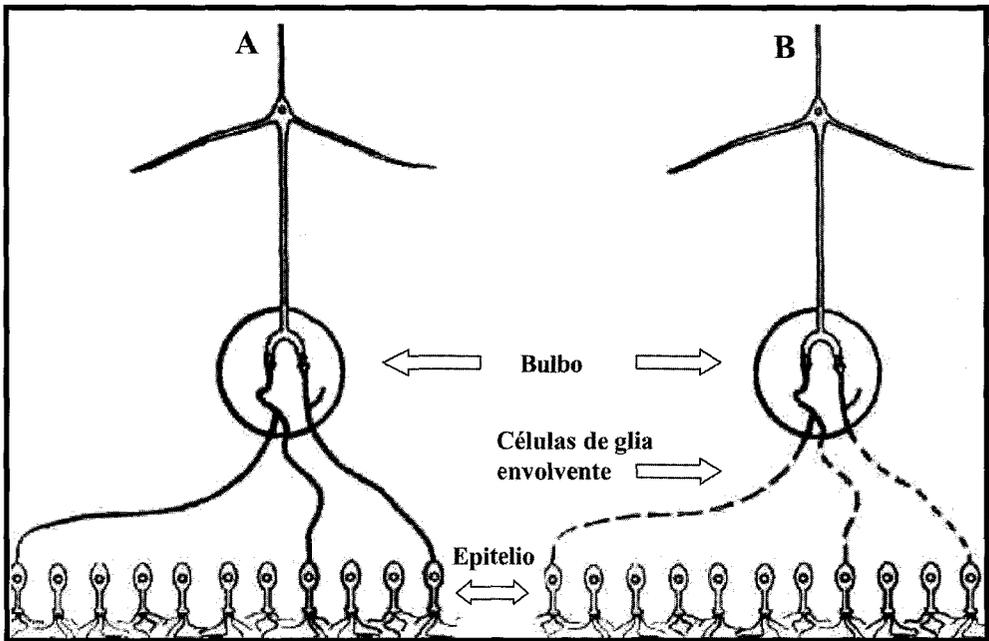


Figura 17. Esquema de las conexiones entre células del epitelio olfatorio y neuronas del bulbo olfatorio (A), y de cómo pueden reemplazarse estas conexiones, una vez rotas, por la presencia de células de glia envolvente (B).

En este proceso regenerativo están implicadas unas células de glia denominadas células de glia envolvente (del bulbo olfatorio) y dado que estas células son capaces de regenerar los axones de las neuronas del bulbo olfatorio se estudió si eran capaces también de regenerar axones de otras neuronas del sistema nervioso central, como pueden ser los axones dañados de las neuronas de la médula espinal (Figura 17).

Las lesiones medulares son, desgraciadamente, cada vez más comunes en nuestra población joven, fundamentalmente debidas a accidentes de trabajo y de tráfico. En el laboratorio, tras realizar una lesión consistente en la sección completa de la médula espinal de una rata, a la altura de la región torácica (que da lugar a una pérdida de funcionalidad de las extremidades traseras), se observó que el trasplante inmediato (Figura 18), tras la lesión, en la zona dañada, de células de glia envolvente del bulbo olfatorio, producía una recuperación de la función motora de las patas traseras, recuperación que se correlacionaba con la regeneración de los axones dañados^{76, 77}. Adicionalmente, y como consecuencia de dicha regeneración axonal, la proteína MAP1 se expresaba, sugiriéndose una similitud entre los procesos de desarrollo y de regeneración axonal.

El mecanismo por el cual las células de glia envolvente facilitan la regeneración axonal de neuronas del sistema nervioso central no es conocido aún. Sin embargo, se ha descrito que las células de glia envolvente pueden expresar algunos factores que han sido implicados

en la formación de extensiones citoplásmicas en células de origen neuronal, pudiendo ser estos factores, al menos en parte, responsables de la capacidad regenerativa de las células de glía envolvente⁷⁸.

Una posible limitación para el uso terapéutico de las células de glía envolvente es el hecho de que se necesita una gran cantidad de ellas para llevar a cabo los transplantes.

REGENERACIÓN AXONAL MEDIADA POR CÉLULAS DE GLIA ENVOLVENTE

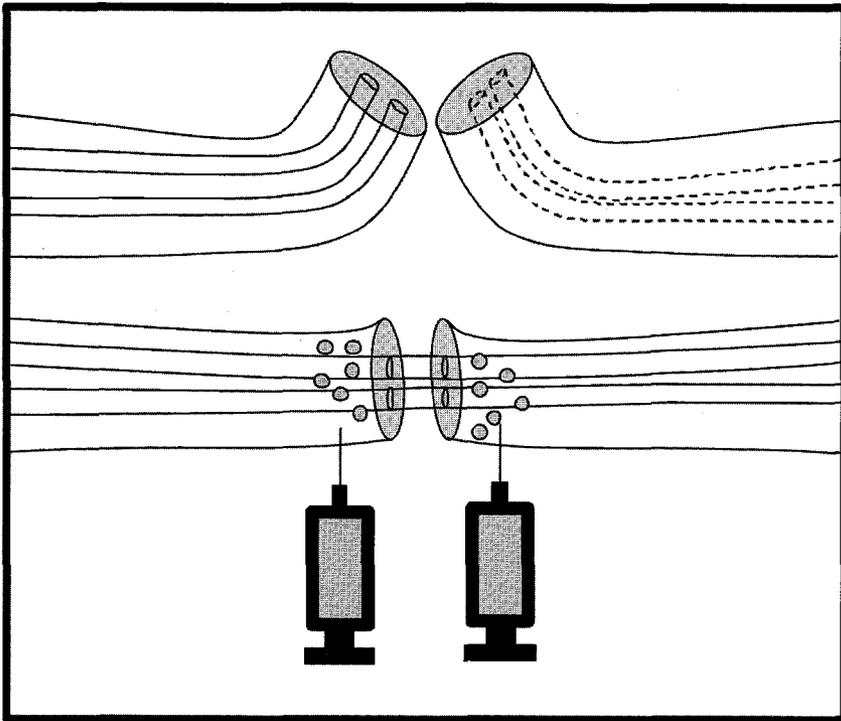


Figura 18. Esquema del transplante de células de glía envolvente en la zona de un axón dañado para permitir su regeneración.

Con objeto de poder disponer de una cantidad ilimitada de las mismas se ha procedido a la inmortalización de estas células mediante la

introducción en ellas, por infección con un lentivirus, del ácido nucleico que expresa el antígeno T del virus SV40. Una vez obtenidas estas células inmortalizadas, se ha observado que las células de glia envolvente, inmortalizadas de esta manera, retienen su capacidad regenerativa.

Por otra parte, también se está analizando la posibilidad de conseguir regeneración axonal, no tras realizar una lesión aguda, sino en lesiones crónicas en las que, tras producirse el daño medular, se produce un proceso inflamatorio que da lugar a una gliosis reactiva, en la que tiene lugar la secreción, por astrocitos reactivos, de glicosaminoglicanos como condroitin sulfato, y la formación de la denominada cicatriz glial.

En este proceso, la re-extensión (o regeneración) axonal se ve impedida por factores inhibitorios como los glicosaminoglicanos (anteriormente mencionados) ⁷⁹ y por algunas proteínas presentes en la mielina de los oligodendrocitos que recubren al axón, como la proteína asociada a la mielina (MAG), la glicoproteína de la mielina o la proteína conocida como Nogo ⁸⁰⁻⁸². Estas proteínas parecen interaccionar con un receptor común para todas ellas presente en el axón dañado, impidiendo, tras unirse a él, la regeneración axonal. También se han descrito otros factores adicionales, que pueden inhibir la elongación axonal. La mayoría de ellos son moléculas difusibles que pertenecen a tres tipos de familias de proteínas, las netrinas, las semaforinas, y las que se conocen como Slits ⁸³⁻⁸⁵. Un ejemplo de

estos factores es la semaforina sema 4D que se expresa en oligodendrocitos, expresión que se incrementa tras producirse lesiones medulares⁸⁶.

Por otra parte, se está empezando a conocer una serie de cambios en el citoesqueleto axonal durante el proceso de regeneración de dicho axón, en donde tienen lugar cambios en las proteínas Rho o Rac.

Así pues, he intentado comentar en este discurso algunos aspectos del desarrollo, de la degeneración y de la regeneración neural.

El conocimiento de los mecanismos moleculares de la formación de una neurona, de los aspectos que dan lugar a patologías relacionadas con la demencia, como las tauopatías, o el conocimiento de cómo puede llevarse a cabo la regeneración axonal seguirán siendo objeto de estudios, no sólo por mi parte, sino por algunos de mis competidores y por algunos de mis colaboradores a los que querría expresar mi agradecimiento, y cuyos nombres aparecen en la Figura 19.

V. González Corces.	C. Sánchez.	M. Engelke.
A. Villasante.	L. Ulloa.	E. Demand.
M. Martínez Valdivia.	J. Díez-Guerra.	G. Wiche.
R. Manso.	L. Kremer.	R. Maccioni.
J.C. Díez Ballesteros.	A. Alcover.	A. Cáceres.
J. de la Torre.	E. Jiménez	J.C. Zabala.
L. Serrano.	M.D. Ledesma.	O. Massa.
M.A. Hernández.	A. Gómez-Ramos.	F. Moreno.
F. Wandosell.	A. Ramón-Cueto.	R. Owen.
J. Díaz-Nido.	J.J. Lucas.	C. Pazzagli.
C. Osuna	J. Muñoz Montano.	Y. Fermín.
E. Montejo.	F. Hernández.	M. Bagnat.
J. Domínguez.	F. Lim.	P. Tompa.
M. García-Rocha.	M.T. Moreno-Flores.	J. García-Pérez.
M. Medina.	L. Sayas.	C. Colaço.
I. Correas.	J. Hoenicka.	D. Cross.
J. García-Ancos.	F. Moreno-Herrero.	G. Mansfield.
A. Heargraves.		T. Engel.
R. Armas.	M.L. del Toro.	
M. Pérez.	A. Sánchez.	
A. Nieto.	R. Padilla.	
M. Arrasate.	R. Cuadros.	
C. González-Billault.	E. Langa	
M. Sánchez.	S. Soto-Largo.	
	C. Plata	

Figura 19. Lista de las personas que han colaborado con Jesús Avila en su laboratorio.

No sé si tras los estudios sobre el cerebro humano nuestros conocimientos sobre las bases moleculares que determinan procesos tales como la memoria, el entendimiento y la voluntad serán lo suficientemente extensos para mejorar las cualidades humanas como profetiza Francis Fukuyama para su previsto futuro posthumano. Esto es algo que no creo que llegue a verlo, aunque me gustaría.

Una de las características del trabajo científico es que nunca concluye, siempre hay algo nuevo por conocer. En este sentido me siento, como creo que se sentirán Vds., Señores Académicos, como un eslabón de una cadena, en la que me sitúo entre lo que aprendí de mis maestros, y, porqué no decirlo, en la que seré superado por mis colaboradores, algo esencial para que la cadena prospere, y que por otra parte no será muy difícil, pero que es necesario para que continúe el progreso en el área científica a la que he dedicado gran parte de mi vida científica.

Muchas gracias de nuevo a esta Real Academia, que primeramente me concedió un premio por mi trabajo, posteriormente me nombró Académico Correspondiente, y ahora me concede el honor de sentarme entre tan ilustres compañeros.

Gracias.

Referencias:

1. RAMON Y CAJAL S. Discurso Premio Nobel. 1906.
2. RAMON Y CAJAL S. Les preuves objectives de l'unité anatomique des cellules nerveuses. Revista Trimestral Micrográfica. 1934;Travaux du laboratoire de recherches biologiques de l'Université de Madrid:1-137.
3. MITCHISON T, KIRSCHNER M. Cytoskeletal dynamics and nerve growth. *Neuron* 1988;1:761-72.
4. AVILA J. Microtubule dynamics. *FASEB J* 1990;4:3284-3290.
5. BRINKLEY BR. Organization of the cytoplasm. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1982:1029-40.
6. MATUS A. Microtubule-associated proteins: their potential role in determining neuronal morphology. *Annu Rev Neurosci* 1988;11:29-44.
7. RIPOLL P, PIMPINELLI S, VALDIVIA MM, AVILA J. A cell division mutant of *Drosophila* with a functionally abnormal spindle. *Cell* 1985;41:907-12.
8. HARGREAVES AJ, WANDOSELL F, AVILA J. Phosphorylation of tubulin enhances its interaction with membranes. *Nature* 1986;323:827-828.
9. SERRANO L, AVILA J, MACCIONI RB. Controlled proteolysis of tubulin by subtilisin: localization of the site for MAP2 interaction. *Biochemistry* 1984;23:4675-81.
10. SERRANO L, DE LA TORRE J, MACCIONI RB, AVILA J. Involvement of the carboxyl-terminal domain of tubulin in the

regulation of its assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984;81:5989-93.

11. WICHE G, CORCES VG, AVILA J. Preferential binding of hog brain microtubule-associated proteins to mouse satellite versus bulk DNA preparations. *Nature* 1978;273:403-5.
12. TUCKER RP, GARNER CC, MATUS A. In situ localization of microtubule-associated protein mRNA in the developing and adult rat brain. *Neuron* 1989;2:1245-56.
13. GONZALEZ-BILLAULT C, DEMANDT E, WANDOSELL F, et al. Perinatal lethality of microtubule-associated protein 1B-deficient mice expressing alternative isoforms of the protein at low levels. *Mol Cell Neurosci* 2000;16:408-21.
14. GONZALEZ-BILLAULT C, AVILA J, CACERES A. Evidence for the role of map1b in axon formation. *Mol Biol Cell* 2001;12:2087-98.
15. DOTTI CG, BANKER G. Intracellular organization of hippocampal neurons during the development of neuronal polarity. *J Cell Sci Suppl* 1991;15:75-84.
16. DOTTI CG, BANKER GA, BINDER LI. The expression and distribution of the microtubule-associated proteins tau and microtubule-associated protein 2 in hippocampal neurons in the rat in situ and in cell culture. *Neuroscience* 1987;23:121-30.
17. BRADKE F, DOTTI CG. The role of local actin instability in axon formation. *Science* 1999;283:1931-4.
18. RODRIGUEZ OC, SCHAEFER AW, MANDATO CA, FORSCHER P, BEMENT WM, WATERMAN-STORER CM. Conserved microtubule-actin interactions in cell movement and morphogenesis. *Nat Cell Biol* 2003;5:599-609.

19. ETIENNE-MANNEVILLE S, HALL A. Rho GTPases in cell biology. *Nature* 2002;420:629-35.
20. ULLOA L, DÍAZ-NIDO J, AVILA J. Depletion of casein kinase II by antisense oligonucleotide prevents neuritogenesis in neuroblastoma cells. *EMBO J* 1993;12:1633-1640.
21. ULLOA L, AVILA J, DÍAZ-NIDO J. Heterogeneity in the phosphorylation of microtubule-associated protein MAP1B during rat brain development. *J. Neurochem* 1993;61:961-972.
22. GONZALEZ-BILLAULT C, ENGELKE M, JIMENEZ-MATEOS EM, WANDOSELL F, CACERES A, AVILA J. Participation of structural microtubule-associated proteins (MAPs) in the development of neuronal polarity. *J Neurosci Res* 2002;67:713-9.
23. DANZER SC, CROOKS KR, LO DC, MCNAMARA JO. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor induces formation of basal dendrites and axonal branching in dentate granule cells in hippocampal explant cultures. *J Neurosci* 2002;22:9754-63.
24. WHITFORD KL, MARILLAT V, STEIN E, et al. Regulation of cortical dendrite development by Slit-Robo interactions. *Neuron* 2002;33:47-61.
25. SCOTT EK, REUTER JE, LUO L. Small GTPase Cdc42 is required for multiple aspects of dendritic morphogenesis. *J Neurosci* 2003;23:3118-23.
26. LI W, GAO FB. Actin filament-stabilizing protein tropomyosin regulates the size of dendritic fields. *J Neurosci* 2003;23:6171-5.

27. GAO FB, BOGERT BA. Genetic control of dendritic morphogenesis in *Drosophila*. *Trends Neurosci* 2003;26:262-8.
28. HARADA A, TENG J, TAKEI Y, OGUCHI K, HIROKAWA N. MAP2 is required for dendrite elongation, PKA anchoring in dendrites, and proper PKA signal transduction. *J Cell Biol* 2002;158:541-9.
29. RAMON Y CAJAL S. Estructura de los centros nerviosos de las aves. *Rev Trim Histol Norm Pat* 1888;1:1-10.
30. RAMON Y CAJAL S. Sur la structure de l'écorce cérébrale de quelques mammifères. *La Cellule* 1891:124-76.
31. YUSTE R, BONHOEFFER T. Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:1071-89.
32. KASAI H, MATSUZAKI M, NOGUCHI J, YASUMATSU N, NAKAHARA H. Structure-stability-function relationships of dendritic spines. *Trends Neurosci* 2003;26:360-8.
33. EHLERS MD. Molecular morphogens for dendritic spines. *Trends Neurosci* 2002;25:64-7.
34. SÁNCHEZ C, DÍAZ-NIDO J, AVILA J. Phosphorylation of microtubule-associated protein 2 (MAP2) and its relevance for the regulation of the neuronal cytoskeleton function. *Prog. Neurobiol.* 2000;61:133-168.
35. DÍAZ-NIDO J, MONTORO RJ, LÓPEZ-BARNEO J, AVILA J. High external potassium induces an increase in the phosphorylation of the cytoskeletal protein MAP2 in rat hippocampal slices. *Eur. J. Neurosci* 1993;5:818-824.

36. MENG Y, ZHANG Y, TREGOUBOV V, et al. Abnormal spine morphology and enhanced LTP in LIMK-1 knockout mice. *Neuron* 2002;35:121-33.
37. LISMAN J, SCHULMAN H, CLINE H. The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci* 2002;3:175-90.
38. DIAZ-NIDO J, AVILA J. Aluminum induces the in vitro aggregation of bovine brain cytoskeletal proteins. *Neurosci Lett* 1990;110:221-6.
39. BAAS PW, AHMAD FJ. Force generation by cytoskeletal motor proteins as a regulator of axonal elongation and retraction. *Trends Cell Biol* 2001;11:244-9.
40. YU W, COOK C, SAUTER C, KURIYAMA R, KAPLAN PL, BAAS PW. Depletion of a microtubule-associated motor protein induces the loss of dendritic identity. *J Neurosci* 2000;20:5782-91.
41. TESSIER-LAVIGNE M, GOODMAN CS. The molecular biology of axon guidance. *Science* 1996;274:1123-33.
42. RAMON-CUETO A, AVILA J. Two modes of microtubule-associated protein 1B phosphorylation are differentially regulated during peripheral nerve regeneration. *Brain Res* 1999;815:213-26.
43. VECINO E, AVILA J. Distribution of the phosphorylated form of microtubule associated protein 1B in the fish visual system during optic nerve regeneration. *Brain Res Bull* 2001;56:131-7.
44. LEE G, COWAN N, KIRSCHNER M. The primary structure and heterogeneity of tau protein from mouse brain. *Science* 1988;239:285-8.

45. GOEDERT M, SPILLANTINI MG, POTIER MC, ULRICH J, CROWTHER RA. Cloning and sequencing of the cDNA encoding an isoform of microtubule-associated protein tau containing four tandem repeats: differential expression of tau protein mRNAs in human brain. *EMBO J*. 1989;8:393-9.
46. PANDA D, SAMUEL JC, MASSIE M, FEINSTEIN SC, WILSON L. Differential regulation of microtubule dynamics by three- and four-repeat tau: implications for the onset of neurodegenerative disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:9548-53.
47. KOSIK KS. Alzheimer's disease: a cell biological perspective. *Science* 1992;256:780-783.
48. GRUNDKE-IQBAL I, IQBAL K, TUNG YC, QUINLAN M, WISNIEWSKI HM, BINDER LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986;83:4913-4917.
49. MUÑOZ-MONTAÑO JR, MORENO FJ, AVILA J, DÍAZ-NIDO J. Lithium inhibits Alzheimer's disease-like tau protein phosphorylation in neurons. *FEBS Lett* 1997;411:183-188.
50. SCOTT CW, SPREEN RC, HERMAN JL, et al. Phosphorylation of recombinant tau by cAMP-dependent protein kinase. Identification of phosphorylation sites and effect on microtubule assembly. *J Biol Chem* 1993;268:1166-73.
51. GHOSHAL N, GARCIA-SIERRA F, WUU J, et al. Tau conformational changes correspond to impairments of episodic memory in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Exp Neurol* 2002;177:475-93.

52. AVILA J, LIM F, MORENO F, BELMONTE C, CUELLO AC. Tau function and dysfunction in neurons: its role in neurodegenerative disorders. *Mol Neurobiol* 2002;25:213-31.
53. ALZHEIMER A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirinde. *Z. Psychiatr. Psych. Gerichtl. Med.* 1907;64:146-148.
54. GOEDERT M, SPILLANTINI MG, HASEGAWA M, JAKES R, CROWTHER RA, KLUG A. Molecular dissection of the neurofibrillary lesions of Alzheimer's disease. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1996;61:565-73.
55. ARRIAGADA PV, GROWDON JH, HEDLEY-WHYTE ET, HYMAN BT. Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology* 1992;42:631-639.
56. GLENNER GG, WONG CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1984;120:885-90.
57. MASTERS CL, SIMMS G, WEINMAN NA, MULTHAUP G, McDONALD BL, BEYREUTHER K. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1985;82:4245-9.
58. WISCHIK CM, NOVAK M, EDWARDS PC, KLUG A, TICHELAAAR W, CROWTHER RA. Structural characterization of the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988;85:4884-8.
59. WISCHIK CM, NOVAK M, THOGERSEN HC, et al. Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988;85:4506-4510.

60. MONTEJO DE GARCINI E, CARRASCOSA JL, CORREAS I, NIETO A, AVILA J. Tau factor polymers are similar to paired helical filaments of Alzheimer's disease. *FEBS Lett.* 1988;236:150-154.
61. PEREZ M, VALPUESTA JM, MEDINA M, MONTEJO DE GARCINI E, AVILA J. Polymerization of tau into filaments in the presence of heparin: the minimal sequence required for tau-tau interaction. *J Neurochem* 1996;67:1183-90.
62. ARRASATE M, PÉREZ M, VALPUESTA JM, AVILA J. Role of glycosaminoglycans in determining the helicity of paired helical filaments. *Am. J. Pathol.* 1997;151:1115-1122.
63. WILSON DM, BINDER LI. Free fatty acids stimulate the polymerization of tau and amyloid beta peptides. In vitro evidence for a common effector of pathogenesis in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 1997;150:2181-2195.
64. AVILA J. Tau aggregation into fibrillar polymers: taupathies. *FEBS Lett.* 2000;476:89-92.
65. SPILLANTINI MG, GOEDERT M. Tau protein pathology in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* 1998;21:428-33.
66. PEREZ M, HERNANDEZ F, GOMEZ-RAMOS A, SMITH M, PERRY G, AVILA J. Formation of aberrant phosphotau fibrillar polymers in neural cultured cells. *Eur J Biochem* 2002;269:1484-9.
67. LUCAS JJ, HERNANDEZ F, GOMEZ-RAMOS P, MORAN MA, HEN R, AVILA J. Decreased nuclear beta-catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3beta conditional transgenic mice. *Embo J* 2001;20:27-39.

68. HERNANDEZ F, BORRELL J, GUAZA C, AVILA J, LUCAS JJ. Spatial learning deficit in transgenic mice that conditionally over-express GSK-3beta in the brain but do not form tau filaments. *J Neurochem* 2002;83:1529-33.
69. LIM F, HERNANDEZ F, LUCAS JJ, GOMEZ-RAMOS P, MORAN MA, AVILA J. FTDP-17 mutations in tau transgenic mice provoke lysosomal abnormalities and Tau filaments in forebrain. *Mol Cell Neurosci* 2001;18:702-14.
70. PEREZ M, HERNANDEZ F, LIM F, DIAZ-NIDO J, AVILA J. Chronic lithium treatment decreases mutant tau protein aggregation in a transgenic mouse model. *J Alz Dis* 2003;in press.
71. PHIEL CJ, WILSON CA, LEE VM, KLEIN PS. GSK-3alpha regulates production of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides. *Nature* 2003;423:435-9.
72. BHAT RV, XUE Y, BERG S, et al. Structural insights and biological effects of glycogen synthase kinase 3 specific inhibitor AR-A014418. *J Biol Chem* 2003.
73. YAMAMOTO A, LUCAS JJ, HEN R. Reversal of neuropathology and motor dysfunction in a conditional model of Huntington's disease. *Cell* 2000;101:57-66.
74. AGUDO M, TREJO JL, LIM F, et al. Highly efficient and specific gene transfer to Purkinje cells in vivo using a herpes simplex virus I amplicon. *Hum Gene Ther* 2002;13:665-74.
75. RAMON Y CAJAL S. Degeneration and Regeneration of the Nervous System. Hafner Ed., New York 1928.
76. RAMON-CUETO A, CORDERO MI, SANTOS-BENITO FF, AVILA J. Functional recovery of paraplegic rats and motor axon

regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia. *Neuron* 2000;25:425-35.

77. RAMON-CUETO A, PLANT GW, AVILA J, BUNGE MB. Long-distance axonal regeneration in the transected adult rat spinal cord is promoted by olfactory ensheathing glia transplants. *J Neurosci* 1998;18:3803-15.
78. MORENO-FLORES MT, LIM F, MARTIN-BERMEJO MJ, DIAZ-NIDO J, AVILA J, WANDOSELL F. Immortalized olfactory ensheathing glia promote axonal regeneration of rat retinal ganglion neurons. *J Neurochem* 2003;85:861-71.
79. RHODES KE, MOON LD, FAWCETT JW. Inhibiting cell proliferation during formation of the glial scar: effects on axon regeneration in the CNS. *Neuroscience* 2003;120:41-56.
80. CARONI P, SCHWAB ME. Two membrane protein fractions from rat central myelin with inhibitory properties for neurite growth and fibroblast spreading. *J Cell Biol* 1988;106:1281-8.
81. WOOLF CJ, BLOECHLINGER S. Neuroscience. It takes more than two to Nogo. *Science* 2002;297:1132-4.
82. SCHWAB ME, KAPFHAMMER JP, BANDTLOW CE. Inhibitors of neurite growth. *Annu Rev Neurosci* 1993;16:565-95.
83. YU TW, BARGMANN CI. Dynamic regulation of axon guidance. *Nat Neurosci* 2001;4 Suppl:1169-76.
84. RAPER JA. Semaphorins and their receptors in vertebrates and invertebrates. *Curr Opin Neurobiol* 2000;10:88-94.
85. WONG K, PARK HT, WU JY, RAO Y. Slit proteins: molecular guidance cues for cells ranging from neurons to leukocytes. *Curr Opin Genet Dev* 2002;12:583-91.

86. MOREAU-FAUVARQUE C, KUMANOGOH A, CAMAND E, et al. The transmembrane semaphorin Sema4D/CD100, an inhibitor of axonal growth, is expressed on oligodendrocytes and upregulated after CNS lesion. *J Neurosci* 2003;23:9229-39.

**CONTESTACIÓN DE LA
EXCMA. SRA. DOÑA MARGARITA SALAS FALGUERAS**

Excmo. Sr. Presidente, Excmos. Sres. Académicos,

Tengo hoy el grato honor de dar la bienvenida al Excmo. Sr. D. Jesús Ávila de Grado, en nombre de los miembros de esta Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Quiero, en primer lugar expresar mi profundo agradecimiento a esta Real Academia por haberme otorgado este cometido en el que haré una relación de los méritos que nos llevaron a elegir a Jesús Ávila Académico de número de la misma. Es para mi una satisfacción muy especial el que se me haya confiado esta misión ya que me cabe el privilegio de que Jesús Ávila fue el primer doctorando que tuve a mi vuelta de Estados Unidos. Para un maestro, yo creo que es una satisfacción el ser aventajado por sus discípulos. Pues bien, en este caso es para mi un orgullo decir que el que fuera mi discípulo, Jesús Ávila, ha superado con creces a su maestra. Esta es una excelente ocasión para mí de sentirme orgullosa de mi primer discípulo.

Jesús Ávila nació en Madrid, se educó en el Instituto Ramiro de Maeztu, se licenció en 1967 en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid obteniendo el grado de Doctor en 1971 en la misma Facultad. Conozco a Jesús Ávila desde que, tras instalarnos Eladio Viñuela y yo en España a nuestra vuelta de Estados Unidos, empezamos a realizar nuestra labor investigadora eligiendo como modelo el bacteriófago $\phi 29$ que infecta a la bacteria *Bacillus subtilis*. Como primer paso para entender el control de la expresión génica de $\phi 29$, el trabajo de tesis de Jesús Ávila consistió en caracterizar la RNA polimerasa de *B. subtilis*, siendo las conclusiones de dicha tesis doctoral que la estructura cuaternaria de la proteína estaba compuesta por diferentes subunidades denominadas β , β' , α y σ . La función de las primeras estaba relacionada con el proceso de elongación de la transcripción del DNA, y la función de la subunidad σ con la iniciación de dicha transcripción. Este primer trabajo, que fue realizado en el Centro de Investigaciones Biológicas del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, fue publicado en la prestigiosa revista Nature. Posteriormente, Jesús Ávila se desplazó a los Institutos Nacionales de la Salud en Estados Unidos a trabajar con un virus que infecta a simios, llamado SV40, con un genoma pequeño, pero capaz de transformar e inducir la proliferación celular, por lo que podría utilizarse como modelo para estudiar la formación de tumores. En el trabajo realizado en el laboratorio del Dr. Robert G. Martin

describió el gen del SV40, denominado gen A, que expresaba la proteína conocida como antígeno T, implicado en la transformación celular.

De vuelta a España, comenzó a trabajar en un campo que empezaba a destacar a nivel internacional y del que ha sido pionero, el estudio del citoesqueleto.

El trabajo de Jesús Ávila como investigador independiente ha estado fundamentalmente relacionado con la función de un componente del citoesqueleto, los microtúbulos. Los microtúbulos están implicados en diversos procesos celulares tales como determinar la forma celular en la segregación cromosómica, que tiene lugar durante la mitosis y la meiosis, en la organización intracelular, y en algunos tipos de transporte intracelular, como el transporte axonal que tiene lugar en las neuronas. Los microtúbulos están formados por un componente fundamental, la tubulina, y unas proteínas asociadas a los microtúbulos, o MAPs, que han sido fundamentalmente caracterizadas en neuronas. Estas MAPs neuronales se conocen como MAP1 (A y B), MAP2 y tau. La labor inicial de Jesús Ávila se centró en el análisis de la estructura y función de estas proteínas. Su trabajo empezó con la caracterización de la posible función a nivel molecular de las proteínas microtubulares en el proceso de mitosis ¹. Posteriormente, y dado que la tubulina es el componente fundamental de los microtúbulos, estudió la relación estructura-función en esta proteína describiéndose por primera vez la importancia de la región carboxilo-terminal de la

proteína en la regulación del ensamblaje de los microtúbulos. Esta región es el lugar de interacción de las proteínas asociadas a los microtúbulos (MAP1, MAP2 y tau), que facilitan el ensamblaje del microtúbulo ². La región carboxilo-terminal de la tubulina es la diana de las modificaciones post-traduccionales como su fosforilación ³, o el sitio donde se unen inhibidores del ensamblaje como el calcio ⁴. También estudió su influencia en el plegamiento de la tubulina ⁵. Adicionalmente, describió una nueva MAP en células de invertebrados, con una función en la división celular ⁶.

Dado que la tubulina es la proteína que está en mayor cantidad en el cerebro de los vertebrados, en una etapa posterior el equipo dirigido por Jesús Ávila estudió las características de las proteínas microtubulares, tubulina y MAPs, en actividades relacionadas con funciones neuronales. Analizaron las MAPs (fundamentalmente la MAP1B) y estudiaron su posible implicación en neurogénesis ⁷⁻⁹. Para estos estudios caracterizaron un ratón que carecía de la proteína MAP1B, aislado tras la inserción de un fragmento de DNA exógeno en el gen que expresa la proteína, produciendo esta inserción la interrupción de la expresión de MAP1B.

La función en la morfogénesis neuronal de otras proteínas asociadas a los microtúbulos como MAP2 y tau, la estudiaron mediante el uso de oligonucleótidos antisentido que previnieron la expresión de dichas proteínas. Como resultado de todos estos estudios llegaron a la conclusión de que MAP1B y MAP2 son necesarias para la

diferenciación morfológica que tiene lugar en la transición mediante la cual un neuroblasto se convierte en una neurona, siendo facilitada la axonogénesis por MAP1B. Dicha axonogénesis puede ser acelerada por la proteína tau.

Estos trabajos fueron completados con el estudio de la posible función de la proteína tau en procesos neuropatológicos describiéndose por primera vez en el grupo de Jesús Ávila la capacidad de tau para autoensamblarse dando lugar a polímeros similares a los encontrados en los cerebros de pacientes que padecen la enfermedad de Alzheimer^{10, 11} (filamentos apareados helicoidales: PHFs) describiendo, posteriormente, una modificación nueva, la glicación de la proteína, que podría estar implicada en la agregación de PHF en ovillos neurofibrilares¹². Dado que en los ovillos neurofibrilares que se encuentran en los cerebros de los pacientes que padecen la enfermedad de Alzheimer la proteína tau está hiperfosforilada, y puesto que una de las proteínas quinasas que está fundamentalmente implicada en dicha fosforilación es la proteína quinasa GSK3, aislaron un ratón transgénico condicional que sobreexpresaba, en condiciones permisivas, la quinasa GSK3, para estudiar algunos aspectos de la patología relacionada con la disfunción de tau, basándose en la hipótesis de que dicha disfunción podría estar relacionada con la hiperfosforilación de tau¹³. Este modelo indicó que la hiperfosforilación de tau daba lugar a defectos de aprendizaje en el ratón transgénico, mimetizando en este aspecto la patología

encontrada en la enfermedad de Alzheimer. Actualmente, y como posible terapia, han iniciado un trabajo del análisis de posibles inhibidores de esta quinasa ¹⁴.

Dado que se han descrito otras demencias (tauopatías), como la demencia frontotemporal asociada al cromosoma 17 (FTDP-17), donde se forman también agregados aberrantes de la proteína tau hiperfosforilada, y que en algunos casos la etiología de la enfermedad se relaciona con mutaciones en el gen que expresa la proteína tau, el equipo de Jesús Ávila aisló un ratón transgénico que expresaba la proteína tau mutada en aquellos residuos descritos en la FTDP-17. Este ratón transgénico desarrolló la formación de agregados aberrantes de tau y otros aspectos similares a los descritos en la FTDP-17 ¹⁵.

¿Cuál es la ventaja de aislar todos estos ratones modificados genéticamente? Obviamente, el tener buenos modelos para estudiar las diferentes patologías y utilizar estos modelos para el desarrollo de nuevos fármacos para dichas enfermedades.

También, y más recientemente, Jesús Ávila ha realizado otros trabajos en los que se han mostrado unas condiciones relacionadas con el estrés oxidativo ¹⁶ que podrían explicar cómo la proteína tau fosforilada muestra una mayor capacidad para formar los agregados patológicos que se encuentran, no sólo en la enfermedad de Alzheimer, sino en otro tipo de demencias conocidas como tauopatías. También ha descrito que moléculas posiblemente relacionadas con

procesos redox como las quinonas facilitan el ensamblaje de la proteína tau fosforilada.

Adicionalmente, el equipo dirigido por Jesús Ávila ha llevado a cabo, no sólo estudios sobre la degeneración nerviosa, sino también han realizado estudios de regeneración axonal en neuronas del sistema nervioso central, habiendo observado que el trasplante de células de glia envolvente facilita dicha regeneración en ratas con lesiones medulares ¹⁷. Este proceso ha sido parcialmente caracterizado a nivel molecular, y podría facilitar el desarrollo de métodos terapéuticos para lesiones que pueden producirse en el sistema nervioso central.

En resumen, el trabajo de Jesús Ávila sobre el citoesqueleto neuronal ha consistido en el estudio de:

- La implicación de un elemento del citoesqueleto, los microtúbulos, en el desarrollo de la morfología neuronal.
- La implicación de las proteínas microtubulares en procesos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer.
- La posible implicación de estas proteínas en procesos de regeneración axonal.

Todos estos trabajos han dado lugar a más de 300 publicaciones en revistas internacionales, algunas de ellas del mayor prestigio como Cell, Nature, Proc. Natl. Acad. Sci., EMBO J., Science o Neuron,

fundamentalmente en los campos de la Bioquímica y Biología Molecular, la Biología Celular y las Neurociencias.

Jesús Ávila ha sido galardonado con importantes premios, entre ellos el de esta Real Academia, y los de la Fundación Carmen y Severo Ochoa, la Comunidad de Madrid y la Fundación Lilly, así como la Medalla de Oro de la Comunidad de Madrid.

Es miembro de importantes instituciones como la European Molecular Biology Organization (EMBO) y la Academia Europea, de Sociedades como la American Physiological Society y la American Society for Cell Biology, y de Asociaciones como la Alzheimer's Association y la European Neural Network. Ha sido, o es, miembro de Comités Editoriales de revistas como EMBO Journal, FEBS Letters, Journal of Alzheimer's Disease, entre otras.

En la actualidad es Presidente de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular donde realiza una fecunda labor.

Además de su labor investigadora, Jesús Ávila ha desarrollado una función organizativa en instituciones como la Comisión Asesora de Ciencia y Tecnología y en otras agencias evaluadoras extranjeras o de carácter privado. También ha ocupado, y ocupa en la actualidad, el cargo de Director del Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", organismo dependiente del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y de la Universidad Autónoma de Madrid.

Por otra parte, querría comentar que en el discurso de Jesús Ávila ha sido mencionada una persona de un modo notorio, Santiago Ramón y

Cajal. Quisiera resaltar el hecho de que la labor de Ramón y Cajal sigue citándose de un modo importante hoy en día, y que quizás Santiago Ramón y Cajal haya sido, y es, el modelo al que todos los que nos dedicamos a la investigación nos gustaría parecernos, y que ha sido un miembro muy destacado de esta Academia en la que hizo una fructífera labor.

También quisiera comentar un aspecto final del discurso de Jesús Ávila, y es su mención a sus numerosos colaboradores. En relación con esto tengo que decir que, a lo largo de su carrera científica, Jesús Ávila ha formado a excelentes científicos, muchos de los cuales dirigen sus propios grupos de investigación. Además, el ambiente científico lo mantiene fuera del laboratorio, dado que su mujer, Nieves Villanueva, también trabaja con éxito en el campo de la biología experimental.

Quiero finalizar dándole a Jesús Ávila la bienvenida a esta Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, en la que el azar ha hecho que tenga la medalla nº 46, un número que para un miembro de la sección de Naturales tiene un significado especial, los veintitrés pares de cromosomas que contiene una célula humana.

Muchas gracias

Referencias

1. WICHE G, CORCES VG, AVILA J. Preferential binding of hog brain microtubule-associated proteins to mouse satellite versus bulk DNA preparations. *Nature* 1978;273:403-5.
2. SERRANO L, DE LA TORRE J, MACCIONI RB, AVILA J. Involvement of the carboxyl-terminal domain of tubulin in the regulation of its assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984;81:5989-93.
3. HARGREAVES AJ, WANDOSELL F, AVILA J. Phosphorylation of tubulin enhances its interaction with membranes. *Nature* 1986;323:827-8.
4. SERRANO L, VALENCIA A, CABALLERO R, AVILA J. Localization of the high affinity calcium-binding site on tubulin molecule. *J Biol Chem* 1986;261:7076-81.
5. FONTALBA A, AVILA J, ZABALA JC. Beta-tubulin folding is modulated by the isotype-specific carboxy-terminal domain. *J Mol Biol* 1995;246:628-36.
6. RIPOLL P, PIMPINELLI S, VALDIVIA MM, AVILA J. A cell division mutant of *Drosophila* with a functionally abnormal spindle. *Cell* 1985;41:907-12.
7. ULLOA L, DIAZ-NIDO J, AVILA J. Depletion of casein kinase II by antisense oligonucleotide prevents neuritogenesis in neuroblastoma cells. *Embo J* 1993;12:1633-40.
8. DIAZ-NIDO J, SERRANO L, MENDEZ E, AVILA J. A casein kinase II-related activity is involved in phosphorylation of

- microtubule-associated protein MAP-1B during neuroblastoma cell differentiation. *J Cell Biol* 1988;106:2057-65.
9. GONZALEZ-BILLAULT C, DEMANDT E, WANDOSELL F, et al. Perinatal lethality of microtubule-associated protein 1B-deficient mice expressing alternative isoforms of the protein at low levels. *Mol Cell Neurosci* 2000;16:408-21.
 10. MONTEJO DE GARCINI E, CARRASCOSA JL, CORREAS I, NIETO A, AVILA J. Tau factor polymers are similar to paired helical filaments of Alzheimer's disease. *FEBS Lett* 1988;236:150-4.
 11. PEREZ M, VALPUESTA JM, MEDINA M, MONTEJO DE GARCINI E, AVILA J. Polymerization of tau into filaments in the presence of heparin: the minimal sequence required for tau-tau interaction. *J Neurochem* 1996;67:1183-90.
 12. LEDESMA MD, BONAY P, COLACO C, AVILA J. Analysis of microtubule-associated protein tau glycation in paired helical filaments. *J Biol Chem* 1994;269:21614-9.
 13. LUCAS JJ, HERNANDEZ F, GOMEZ-RAMOS P, MORAN MA, HEN R, AVILA J. Decreased nuclear beta-catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3beta conditional transgenic mice. *Embo J* 2001;20:27-39.
 14. BHAT R, XUE Y, BERG S, et al. Structural insights and biological effects of glycogen synthase kinase 3-specific inhibitor AR-A014418. *J Biol Chem* 2003;278:45937-45.
 15. LIM F, HERNANDEZ F, LUCAS JJ, GOMEZ-RAMOS P, MORAN MA, AVILA J. FTDP-17 mutations in tau transgenic mice provoke lysosomal abnormalities and Tau filaments in forebrain. *Mol Cell Neurosci* 2001;18:702-14.

16. PERRY G, AVILA J, ESPEY MG, WINK DA, ATWOOD CS, SMITH MA. Biochemistry of neurodegeneration. *Science* 2001;291:595-7.
17. RAMON-CUETO A, CORDERO MI, SANTOS-BENITO FF, AVILA J. Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia. *Neuron* 2000;25:425-35.