Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Medicina

Licenciatura de Biomedicina

Instituto de Fisiología

Laboratorio de Cáncer y comunicación intercelular

Tesis

"Conexinas Implicadas en enfermedades del Sistema Nervioso Central "

Presenta
Katheryne Melissa Paredes Rivera

Para obtener el grado de
Licenciada en Biomedicina

Director de Tesis
D.C. Fabián Galindo Ramírez

Junio, 2021

AGRADECIMIENTOS

Estoy muy agradecida con Dios y el Universo por permitirme llegar a este momento de mi formación académica.

Quiero dar un especial agradecimiento al Dr. Fabián Galindo por permitirme ser parte de su equipo de laboratorio, por darme la oportunidad de formarme profesionalmente junto a grandes profesionistas y por guiarnos en el proceso de esta investigación. También quiero agradecer a Laura Hernández Aragón por apoyarnos en todo momento y por siempre tener esa disponibilidad para enseñarnos y despejar nuestras dudas. A mis compañeros de laboratorio, gracias por hacer mi estancia por el laboratorio muy amena. A José Manuel Bahena, gracias por compartir la experiencia desde el inicio de la licenciatura hasta el final.

Gracias a mi mamá Natividad Rivera, a mi papá Miguel Ángel Paredes y a toda la familia que siempre me apoyaron y estuvieron siempre al pendiente de mí, y que continúan animándome a seguir adelante con cada meta que me propongo.

1. ABREVIATURAS 1
2. RESUMEN 3
3. INTRODUCCIÓN 4
3.1 Antecedentes históricos de la Electrofisiología. 6
3.2 Antecedentes históricos de la sinapsis neural 8
4. JUSTIFICACIÓN 14
5. DESARROLLO 16
5.1 Interacciones celulares 16
5.1.1 Uniones de Oclusión 18
5.1.1.1 Uniones estrechas 18
5.1.2 Uniones de anclaje 19
5.1.2.1 Uniones adherentes 19
5.1.2.2 Hemidesmosomas 19
5.1.2.3 Desmosomas 20
5.1.3 Uniones comunicantes 21
5.1.3.1 Plasmodesmo 21
5.1.3.2 Panexinas 21
5.1.3.3 Inexinas 22
5.1.3.4 Canales iónicos 22
5.2 Tipos de sinapsis 25
5.2.1 Sinapsis química 25
5.2.2 Sinapsis eléctrica 26
5.3 Conexinas 28
5.3.1 Ciclo de vida de las conexinas 31
5.3.1.1 Síntesis de Conexinas 32
5.3.1.2 Degradación de Conexinas 36
5.4 Participación de las conexinas en diferentes procesos fisiológicos 40
5.5 Neurodesarrollo 40

5.5.1 Conexinas en el desarrollo embrionario 48
5.6 Mielina 51
5.7 Células gliales 53
5.7.1. Macroglía 53
5.7.1.1 Oligodendrocitos 53
5.7.1.2.Astrocitos 54
5.7.2 Microglía 54
5.8 Enfermedades causadas por alteraciones en conexinas 55
5.8.1 Enfermedad de Pelizaeus Merzbacher 55
5.8.2 Displasia oculodentodigital 57
5.8.3 Enfermedad de Alzheimer 58
5.8.4 Astrogliosis 60
5.8.5 Isquemia 61
5.8.6 Gliomas 62
6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS 63
7. ANEXOS 63
8. BIBLIOGRÁFIA 63

1. ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AGE	Productos finales de glicación
AKT o PKB	Proteína quinasa B
ATP	Adenosín trifosfato
BPAG1 e	Antígeno penfigoide ampolloso 1
BPAG2	Antígeno del penfigoide ampolloso tipo 2
C	Carboxilo
KO	Knockout
CPA	Células progenitoras de Astrocitos
CPI	Células progenitoras intermedias
CPO	Célula progenitoras de Oligodendrocitos
Cx	Conexina
Cx- ARNm	ARNm de las conexinas
Cxs	Conexinas
DAMP	Patrones moleculares asociados a daños
E	Bucle extracelular
EA	Enfermedad de Alzheimer
EGA	Edad gestacional estimada
ERAD	Complejo de degradación de proteínas mal plegadas
GBM	Glioblastomas
GFAP	Proteína ácida fibrilar glial
GJA1	Proteina de unión gap alfa 1
GTPasas	Enzimas guanosina trifosfatasa o trifosfatasas de guanosina
HC	Hemicanales
IFN-y	Interferon gamma
IL-1 b	Interleucina 1 beta
IRES	Sitio de entrada de ribosoma interno
JAM	Moléculas de Adhesión de Unión
kD	KiloDaltons
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LPS	Lipopolisacáridos
MEC	Matriz extracelular
mGluR	Receptores metabotrópicos de glutamato
N	Amino
ODDD	Displasia oculodentodigital
OMS	Organización mundial de la salud
P2X	Receptores ionotrópicos
P2Y	Receptores metabotrópicos
PAMP	Patrones moleculares asociados a patógenos
Panx	Panexinas
PI3	Fosfoinositol 3

PMLD	Enfermedad de Pelizaeus Merzbacher
PMLD1	Enfermedad de Pelizaeus Merzbacher causada por mutación en el gen GJC2
PRR	Receptores de reconocimiento de patrones microgliales
RE	Retículo endoplásmico
ROS	Especies radicales de Oxígeno
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico
SN	Sistema Nervioso
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Sistema Nervioso Periférico
SP	Placas seniles
TAMP	Proteínas Marvel asociadas a uniones estrechas
TEM	Microscopia electrónica de transmisión
TM	Dominios trans membrana
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa
UTR	Región no traducida
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana

2. RESUMEN

El sistema nervioso es una red de células neuronales que se encarga regular y controlar el funcionamiento de todos los órganos y sistemas, se divide anatómicamente en Sistema Nervioso Central (SNC) el cual está compuesto principalmente por dos estructuras: el Encéfalo y la Médula ósea, mientras que el Sistema Nervioso Periférico (SNP) se compone por los nervios que emergen del encéfalo y de la médula espinal, en esta investigación pondremos especial énfasis en el Sistema Nervioso Central.

El sistema nervioso central está compuesto por dos grupos celulares: neuronas y células gliales. Las células gliales sirven de soporte estructural y metabólico, participan activamente en el funcionamiento del SNC, en este grupo celular se encuentran los astrocitos, oligodendrocitos, microglía, células ependimarias y células progenitoras de oligodendrocitos. Mientras que las neuronas son células especializadas del sistema nervioso que se encargan transmitir la información a través de sinapsis, estas pueden ser químicas, caracterizada por la existencia de neurotransmisores en vesículas presinápticas que se liberan a través de la hendidura sináptica, o a través de sinapsis eléctrica donde se producen impulsos eléctricos a través de uniones gap compuestas por un conjunto proteico especializados de unión llamadas conexinas las cuales permiten el intercambio bidireccional de iones y moléculas pequeñas entre las neuronas adyacentes. Participan en procesos fisiológicos como proliferación celular, diferenciación celular, actividades inmunitarias, vías señalización y mantenimiento de homeostasis celular. Las Cxs se encuentran expresadas en la mayoría de las células. En el SNC se encuentran involucradas en diversas patologías como Enfermedad de Pelizaeus Merzbacher (PMLD), Displasia Oculodentodigital (ODDD), Enfermedad de Alzheimer, Trastornos isquémicos y cáncer. A continuación analizaremos la presencia de conexinas en el sistema nervioso central y las conexinas implicadas en estas enfermedades.

3. INTRODUCCIÓN

El sistema nervioso es una red de células neuronales que se encarga regular y controlar el funcionamiento de todos los órganos y sistemas y de traducir los estímulos sensoriales de entrada del medio exterior y producir una salida de información a través de un órgano efector, así como controlar todas las actividades voluntarias e involuntarias, también juega un papel importante en nuestra conducta, el ciclo sueño-vigilia, mecanismos de hambre y sed entre muchas otras funciones.

El sistema nervioso se divide anatómicamente en Sistema Nervioso Central (Encéfalo y Médula ósea,) y Sistema Nervioso Periférico (nervios que emergen del encéfalo y de la médula espinal).

El sistema nervioso central requiere de protección especial es por ello que el encéfalo está protegido por la bóveda craneal mientras que las vértebras protegen la médula espinal, además de eso están cubiertas por tres capas de tejido conjuntivo llamadas meninges: la duramadre es la capa más externa y gruesa, la aracnoides es una capa que está adherida a la duramadre y la piamadre es la capa interna que recubre el neuroeje, entre la aracnoides y la piamadre se encuentra el espacio subaracnoideo que tiene un sistema de cavidades llamadas ventrículos en donde circula el líquido cefalorraquídeo (LCR), el cual es un protector de los órganos nerviosos.

Además de las células neuronales el sistema nervioso central contiene células gliales que le sirven de soporte y participan activamente en el funcionamiento del SNC, las células gliales se clasifican en: astrocitos, oligodendrocitos, microglía, células ependimarias y células progenitoras de oligodendrocitos o célula glial positiva a antígeno 2.

Las neuronas son células especializadas del sistema nervioso que se encargan transmitir la información a través de una sinapsis eléctrica donde se producen impulsos eléctricos llamados potenciales de acción que permiten la transmisión de información de una neurona presináptica a otra neurona postsináptica a través de canales formados por uniones comunicantes, mientras tanto la sinapsis química se caracteriza por la existencia

de neurotransmisores en vesículas presinápticas que se liberan a través de la hendidura sináptica y a través de difusión pasan a la neurona postsináptica para ejercer ya sea un efecto inhibitorio o excitatorio según sea la acción del neurotransmisor.

La transmisión sináptica eléctrica en las neuronas se caracteriza por la presencia de uniones gap en diversas partes del sistema nervioso central de mamíferos que están compuestas por un conjunto proteico que forma canales especializados de unión llamadas conexinas las cuales permiten el intercambio bidireccional de iones y moléculas pequeñas entre las neuronas adyacentes.

Las conexinas son las proteínas centrales de las uniones gap que forman hemicanales en las membranas plasmáticas, estas conexiones permiten la conducción eléctrica a través de la liberación de iones y metabolitos permitiendo la funcionalidad específica de los canales y con ello la comunicación celular entre células adyacentes o con su medio, estas comunicaciones permiten el adecuado funcionamiento de los organismos multicelulares desempeñando actividades fisiológicas fundamentales como la señalización, diferenciación y crecimiento celular. En los últimos años se ha documentado que algunas anomalías en las uniones celulares causan afectación en el correcto funcionamiento del sistema nervioso.

El propósito de la siguiente investigación es comprender la comunicación celular en las células neuronales del sistema nervioso central y los efectos que causan las anomalías en las conexinas.

Actualmente las mutaciones en diez genes de conexina humana diferentes se han relacionado con veintiocho enfermedades genéticas distintas. Ocho de estos trastornos son el resultado de mutaciones en Cx26 y otras seis enfermedades son causadas por mutaciones en Cx43. El mayor número de mutaciones distintas se ha identificado en Cx32. (Srinivasan, M., Verselis, VK y White, TW. 2018).

Debido a que las conexinas pueden ser homoméricas, es decir que son formadas por una sola isoforma de conexina o heteromérica que se forma por más de una isoforma, la mutación genética de una sola conexina puede afectar patológicamente a distintos canales y producir enfermedades variadas en el Humano.

3.1 Antecedentes históricos de la Electrofisiología.

Para comprender la comunicación neuronal primero debemos conocer a los científicos que hicieron posible las afirmaciones que hoy en día conocemos, a través de sus investigaciones nos ayudan descifrar día a día las incógnitas que van surgiendo.

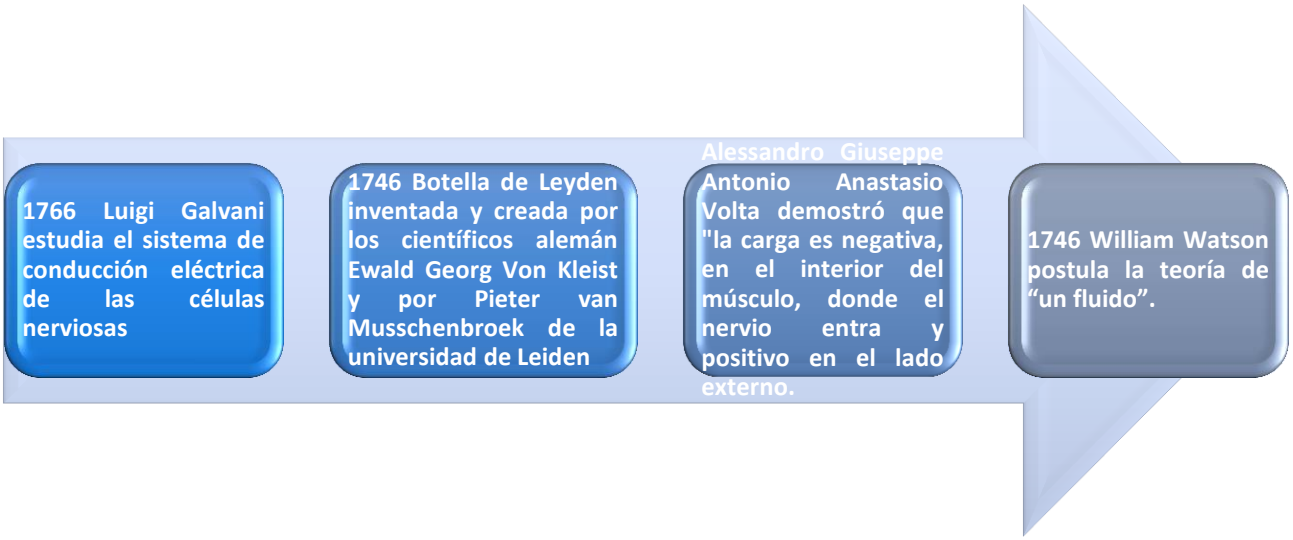
La electrofisiología o llamada también electricidad animal es la ciencia que estudia los fenómenos eléctricos en los animales y en el ser humano según la Real Academia Española y surge en el Siglo XVIII. (Real Academia Española, 2021)

Luigi Galvani fue un médico italiano, conocido por estudiar por primera vez el sistema de conducción eléctrica de las células nerviosas, observó que el tejido cerebral de los animales producía electricidad que se transfería por los nervios y se acumulaba en los músculos para posteriormente producir un movimiento, su experimento más reconocido fue en un modelo animal de rana muerta y disecada en 1776, la extremidad de la rana era conectada a una máquina eléctrica que conducía impulsos eléctricos y que provocaba en la extremidad "violentas convulsiones tónicas". (Galloe, 1976)

Gracias a la famosa Botella de Leyden inventada en 1746 y creada por los científicos alemán Ewald Georg Von Kleist y por Pieter van Musschenbroek de la universidad de Leiden, consiguieron almacenar la energía eléctrica en una botella de cristal con un tapón atravesada verticalmente por una varilla metálica sumergida en agua con una esfera metálica en la parte superior en este extremo se le acerca un agente conductor cargado eléctricamente el cual al separar el agente conductor y acercarse a la varilla se recibe una descarga, este invento fue el primer condensador de cargas eléctrico, comportándose

como un capacitor y posteriormente sometiéndose a distintas modificaciones para mejorarla, sin embargo gracias a este descubrimiento y tras las afirmaciones de Galvani acerca del fluido nervioso en el movimiento muscular, el científico italiano Alessandro Giuseppe Antonio Anastasio Volta repitió los experimentos de Galvani, aplico la descarga de una botella de Leyden entre el nervio y el musculo de rana determinando con ello el umbral del estímulo para la contracción muscular en animales vivos y muertos, esto le permitió demostrar que "la carga es negativa del lado del nervio, es decir, en el interior del músculo, donde el nervio entra y positivo en el lado externo" a lo que concluyó 1) El fluido eléctrico en el experimento de Galvani es puesto en movimiento por la estructura heterogénea y la unión de metales con cuerpos húmedos. 2) Por consiguiente, el fluido eléctrico es producido artificialmente y actúa como un estimulante del nervio, pero no como una fuerza motriz en el músculo.3) El modo por el cual el nervio ejerce su acción "sobre la fuerza innata en los músculos, a lo que los fisiólogos llaman 'irritabilidad', aún permanece como un problema no resuelto".4) Cualquier intervención de algún tipo de electricidad animal es por lo tanto negada. (Galloe, 1986).

William Watson fue un científico médico y botánico británico que a principios del año 1746 empezó a interesarse por fenómenos relacionados con la electricidad y quien a través de modificaciones a la botella de Leyden postula la teoría de "un fluido" donde determinó que, entre dos cuerpos con densidades desiguales, el fluido producirá una descarga eléctrica, donde la electricidad se transfiere de un cuerpo a otro sin crearse ni destruirse e induce por primera vez los términos eléctrico y electricidad. En 1947 realizó colaboraciones para determinar la velocidad de la electricidad, sin embargo, declararon que la velocidad era demasiada y era imposible poder medirla con los instrumentos disponibles de la época. (Micheli. A., 2011)



Línea del tiempo 1.

Antecedentes históricos de la electrofisiología

3.2 Antecedentes históricos de la sinapsis neural

Después de los avances en la electrofisiología y aclarado el punto de que el fluido nervioso no tenía un papel como "fluido eléctrico, fue a finales del S. XIX cuando diversos fisiólogos intentaron responder la incógnita de las conexiones nerviosas, sin embargo, gracias a un método histológico que cambió la perspectiva de los científicos es cómo pudieron llegar a conclusiones precisas. El método de impregnación argéntica neuronal o más conocida como técnica Golgi fue implementada por el médico y neurobiólogo italiano Camillo Golgi en 1873, en este procedimiento se puede observar la estructura neuronal en tres dimensiones, para impregnar la célula nerviosa por completo se requiere la reacción de bicromato de potasio y nitrato de plata lo que producen una reacción negra, el desarrollador de esta técnica compartió el premio nobel de medicina y fisiología en 1906 con el médico y neurobiólogo Santiago Ramón y Cajal en reconocimiento por su trabajo

en la estructura del Sistema Nervioso. A pesar de que ambos observaran las células nerviosas tenían diferentes interpretaciones y por ello se abrió un debate histórico que sentó las bases de las neurociencias. Camillo Golgi plantea la llamada “teoría reticular” donde explica que las neuronas están fusionadas unas con otras a través de sus axones formando una red nerviosa difusa. Mientras que en la perspectiva de Cajal las neuronas son células independientes que se comunicaban unas con otras de manera direccional. Estos argumentos sentaron las bases científicas de lo que hoy en día conocemos como sinapsis nerviosa. Sherrington acuñó el término "sinapsis" (del griego, "unión, conexión") para nombrar al contacto interneuronal que describió Cajal (del griego, "unión, conexión") y nombra a las terminaciones nerviosas funcionales, como "Boutons terminaux”. (García-Sánchez, J. E., 2010)

Sin embargo, el que acuñó el término de neurona fue el analista y patólogo alemán Wilhelm Von Waldeyer-Hartz ya que fue un fiel defensor de la teoría neuronal de Cajal y asignándole significado a la palabra que proviene del griego nêuron ‘nervio’, tomado modernamente para designar la ‘célula nerviosa’. Las características básicas de las neuronas como sus prolongaciones adquirieron su nombre, Wilhelm His propuso el término "dendritas" en 1889 para las "prolongaciones protoplásmicas” mientras que fue Von Kölliker en 1896, nombra a los “cilindros de eje" como "axones".

Años más tarde el científico Kölliker recrea las investigaciones de Cajal y acepta su interpretación de la Doctrina neural e incluso le adjunta su interpretación del sistema nervioso. Sin embargo, Cajal muere en el año de 1934 sin tener la aceptación completa de su teoría, fue hasta dos décadas más tarde en 1950 con ayuda de la microscopía electrónica donde se comprueban los hallazgos mencionados por Cajal y es hasta entonces donde se comprueba la Doctrina Neuronal. (Torres-Fernández, O., 2006).

El sistema nervioso está formado por un conjunto de células que forman una red de comunicación, y aunque las neuronas son las células primordiales en el procesamiento de

información en el sistema nervioso existen células que permiten la homeostasis del medio, aunque por muchos años se ha creído que las células gliales solo sirven de soporte actualmente se ha descubierto que regulan el funcionamiento cerebral a través de múltiples procesos. Las células gliales fueron descritas por primera vez por el médico alemán Rudolf Virchow en 1846 donde observa una especie de sustancia conectiva que rodeaba el cerebro y el cordón espinal, como un cemento que permitía mantener las neuronas en su lugar, en 1858 describe la glía como elementos que se encontraban entre las neuronas y que actuaban como una especie de pegamento entre las neuronas, a esto se debe el origen de la palabra glial o neuroglia (del griego glía, pegamento) como "una sustancia conectiva, que se forma en el cerebro, en la médula espinal y en los nervios sensoriales superiores, en la que están incrustados los elementos del sistema nervioso" (Verkhratsky y Butt, 2007), más tarde publica la primera ilustración de la neuroglia. Otto Friedrich Karl Deiters mostró que la mayoría de las células nerviosas tienen un solo axón y varias dendritas; reconoció la posibilidad de que las células nerviosas pudieran estar funcionalmente polarizadas y produjo las primeras ilustraciones de entradas sinápticas a las dendritas a partir de lo que llamó un segundo sistema de fibras nerviosas. (Deiters, V. S., & Guillery, R. W. 2013). Santiago Ramon y Cajal en 1913 había descrito por primera vez a los astrocitos, sin embargo, años atrás en 1893 Michael Von Lenhossék quien también es considerado como un pionero en la investigación neuronal y participante en la Doctrina Neuronal de Cajal, nombra astrocitos a un tipo celular en forma de estrella.

Las células de Schwann en el sistema nervioso periférico son descubiertas por el fisiólogo, anatomista y naturalista fundador de la famosa Teoría celular: Theodor Schwann, estas células fueron descritas en 1839, son células que rodean al nervio y elaboran vainas de mielina alrededor del nervio.

En 1983 William Lloyd Adriezen clasifica la glía en fibrosa y protoplasmática, la primera ubicada en materia blanca constituida por células estrelladas con prolongaciones largas y poco ramificadas mientras que la glía protoplasmática se encuentra principalmente en

materia gris formada por células con numerosas prolongaciones en todas las direcciones, cortas y ramificadas, sin embargo, Cajal nombra a estos dos tipos de células como Astrocitos. (Ramírez-Expósito, 1998).

Pío del Río-Hortega en 1921 y 1922 realiza algunas publicaciones acerca de la neuroglia, afortunado realiza una pasantía junto Santiago Ramón y Cajal y Wilder Penfield, tras nuevas técnicas de tinción como la impregnación metálica de Cajal y Achucarro, y las coloraciones de carbonato de Plata de Golgi logra identificar dos tipos celulares en Sistema nervioso central: la microglía y la oligodendroglía. En 1925 fue postulado al Premio Nobel de medicina por sus estudios sobre la oligodendroglía, sin embargo, no resulto acreedor a tal reconocimiento. (Domínguez O. R., 2016).

En 1877 el fisiólogo alemán Du Bois-Reymond, planteó la hipótesis de que los nervios podían estimular los músculos mediante sustancias químicas, sin embargo la teoría de la sinapsis eléctrica estaba en su apogeo por lo que no fue muy relevante su aportación sino es hasta treinta años más tarde a finales del S.XIX con la hipótesis química de la neurotransmisión la cual fue postulada en 1904 por Thomas Renton Elliott y John Newport Langley gracias a sus experimentos de estimulación simpática y administración de líquido suprarrenales y adrenérgicos , demostró que ”la adrenalina podría ser entonces el estimulante químico liberado en cada ocasión en que el impulso llega a la periferia”. (López-Muñoz, 2009). Posteriormente en el año de 1946 Ulf Von Euler demuestra que las sustancias responsables de la transmisión química era la noradrenalina y adrenalina en las sinapsis adrenérgicas posganglionar del sistema simpático. Un año después Langley demuestra la existencia de un receptor, al que llamó la “sustancia receptiva de las células diana”.

Otto Loewi fue un famoso médico alemán quien ganó el Premio nobel de medicina en el año de 1936 junto a Dale, gracias a sus descubrimientos relacionados con la neurotransmisión química. Otto Loewi narró el nacimiento de su idea experimental, el cual nació de un sueño en donde colocaba dos corazones de rana en dos cámaras de

perfusión respectivamente, en una contenía el nervio vago intacto mientras que en el otro estaba desnervado. Al estimular el nervio vago que irrigaba el primer corazón, provocaba una disminución en los latidos. Posteriormente aplicó la misma perfusión del primer corazón al segundo corazón, y obtuvo la misma respuesta, los latidos cardiacos estaban disminuidos, sin embargo en esta ocasión no se había estimulado el nervio vago. Lo mismo sucedió al estimular un nervio acelerador, y perfundir con la misma solución, lo que provocaba una aceleración del latido cardiaco. Por lo que Loewi llamó al factor inhibidor 'vagusstoff', que hoy se conoce como acetilcolina. El sueño de Loewi llevó al descubrimiento de que el lenguaje principal de la comunicación de las células nerviosas es químico, no eléctrico. (McCoy, AN y Tan, SY. 2014)

El medico bacteriólogo alemán Paul Ehrlich descubrió la presencia de la barrera hematoencefálica al inyectar un colorante al torrente sanguíneo de un ratón y observar que todos los órganos se tiñeron excepto el cerebro, por ello supuso que había una especie de barrera que regulaba el paso de sustancias de la periferia hasta el cerebro. Ehrlich es considerado por muchos como el padre de la quimioterapia. Pero con grandes atribuciones en los campos de la Microbiología, la Inmunología, las enfermedades infecciosas y la quimioterapia antimicrobiana. Compartió el Premio nobel de medicina con Ilya Mechnikov en 1908 por su trabajo en el terreno de la química inmunológica. (García-Sánchez J.E.,2010)

A partir de principios del S. XX quedan descritos los principales elementos del sistema nervioso que hoy en día conocemos y de los cuales a pesar de los años de investigación aún no se conoce del todo las funciones y alteraciones que se producen en las células del sistema nervioso.

Línea del tiempo 2.

Antecedentes históricos de la sinapsis neural

4. JUSTIFICACIÓN

El sistema nervioso es el conjunto de estructuras anatómicas y fisiológicas más importante del cuerpo humano ya que regula todas las funciones fisiológicas manteniendo la homeostasis celular y la sincronización de todos los órganos y sistemas, también permite la comunicación del medio exterior a través de estímulos y señales.

Los trastornos neurológicos que implican enfermedades tanto del sistema nervioso central como periférico representan un problema de salud pública importante. Según estadísticas de la Organización mundial de la salud cientos de millones de personas en todo el mundo sufren trastornos neurológicos. Más de 6 millones de personas mueren cada año por accidentes cerebrovasculares y más del 80% de estas muertes se producen en países de ingresos bajos o medianos. Según estimaciones 47.5 millones de personas en todo el mundo padecen demencia y se diagnostican 7.7 millones de casos nuevos cada año, siendo la enfermedad de Alzheimer la causa más común de demencia y contribuye al 60-70% de los casos.

Las uniones gap están formados por hemicanales conformados por conexinas las cuales están presentes en todas las células, principalmente se han encontrado en el SNC contribuyendo al mantenimiento de la homeostasis neuronal. La importancia de las conexinas radica en el descubrimiento de esta familia de proteínas implicadas en varias patologías causadas por alteraciones genéticas. En el sistema nervioso central las conexinas están implicadas en enfermedades de importancia médica, como en cáncer, la enfermedad de Alzheimer y la isquemia, sin embargo, se encuentran otras enfermedades que, aunque son poco frecuentes se necesita obtener mayor conocimiento para entender y tratar a la población que las padece.

Actualmente se han encontrado más de 10 tipos de conexinas en el cerebro de mamíferos, las neuronas expresan más de un gen que codifica para un tipo de conexina. Las proteínas Cx se expresan diferencialmente entre los tipos de células. En los tejidos cerebrales adultos, las células madre neurales expresan principalmente Cx43 y Cx26; las

neuronas expresan Cx36, Cx26 y Cx45; los astrocitos expresan Cx43, Cx30, Cx45, Cx40 y Cx32; y los oligodendrocitos expresan Cx45, Cx32 y Cx47.

Encontrar tratamientos alternativos a las terapias convencionales son la meta principal, pero para llegar a ella es necesario comprender el funcionamiento de cada uno de los componentes que provocan estas alteraciones. Por ello considero necesario realizar la presente investigación para conocer el estado de los componentes del SNC en estado sano y en estado activo interviniendo en algún proceso patológico, demostrando que las conexinas forman parte de la homeostasis desde el minuto uno de vida participando tanto en los procesos de embriogénesis, como de la vida adulta.

5. DESARROLLO

5.1 Interacciones celulares.

La comunicación celular es un requisito primordial para el desarrollo y función de los organismos multicelulares, estas interacciones permiten que las células se comuniquen entre sí, percibiendo y respondiendo a las fluctuaciones de su medio externo, manteniendo la homeostasis de su microambiente y las funciones óptimas en órganos y tejidos. (Kasper D., Anthony F., 2021).

La comunicación celular propició que algunas células se especializaran en funciones concretas y permitieran la organización de un organismo multicelular, desarrollando con esto órganos y sistemas cada uno con sus características y funciones propias. (Haines, D. 2014)

Las células se comunican mediante señalización directa e indirecta. La comunicación directa célula-célula implica tanto la autocomunicación (intracrina y autocrina) como la comunicación adyacente con células cercanas (yuxtacrina), que a su vez están reguladas por vías distintas. La comunicación intercelular indirecta implica la comunicación local a distancias cortas (señalización paracrina y sináptica) o a grandes distancias a través de hormonas (endocrinas). Los componentes esenciales de la comunicación célula-célula involucran uniones de comunicación (Conexinas, Plasmodesmos, Canales iónicos Sinapsis Químicas, y Panexinas), uniones de oclusión (uniones estrechas) y uniones de anclaje (adherentes, desmosomas, adherencias focales y hemidesmosomas) vías de comunicación pasan a través de uniones en las uniones físicas de célula a célula, (Esq 1) y también atraviesan la matriz extracelular (MEC) a través de las diferentes proteínas de adhesión transmembrana (Cadherinas e Integrinas). (Brücher, B. L., 2014)

Una comunicación inadecuada provoca cambios en las vías de señalización intracelulares, alteraciones en el crecimiento y desarrollo celular; dando como resultado un sin fin de patologías. (Kasper D., Anthony F., 2021). Es por ello que se han investigado

los mecanismos que intervienen en las interacciones celulares debido a que permiten una adecuada comunicación celular.

A continuación se describen brevemente las uniones celulares (Fig. 1) que se encuentran en los tejidos de vertebrados como las uniones comunicantes, uniones de oclusión, uniones de anclaje y hemidesmosomas como las uniones que podemos encontrar en invertebrados y plantas como las panexinas, inexinas y plasmodesmo.

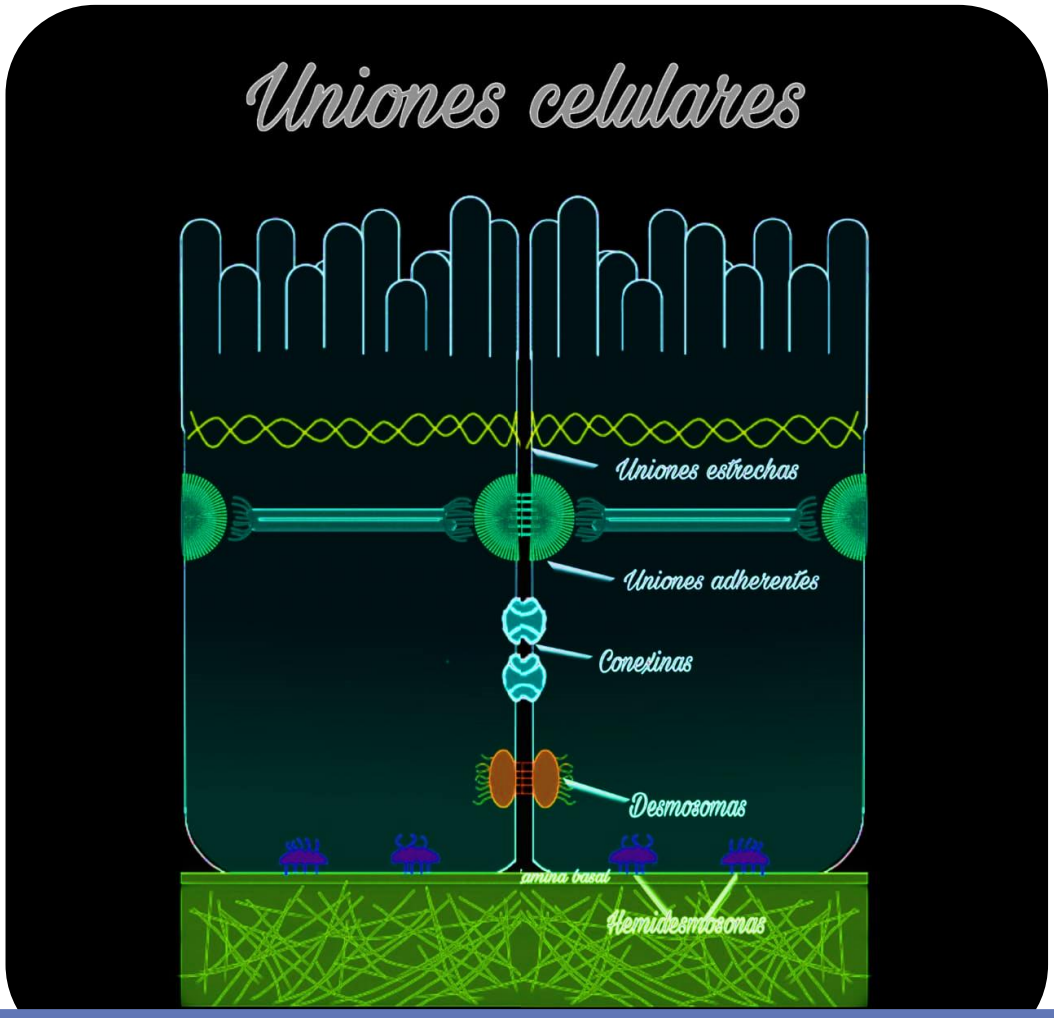


Figura 1. Comunicación celular

Las uniones estrechas forman una barrera paracelular, rodeando como un cinturón la zona más apical de las células epiteliales. Las uniones adherentes son elementos de unión célula- célula en la que los receptores de cadherina forman un puente entre las membranas plasmáticas. Los desmosomas son un complejo multiprotéico de unión célula – célula, tienen forma de disco, contienen cadherinas que unen dos células. Los hemidesmosomas permiten la unión célula- matriz extracelular, formadas por complejos multiprotéicos asociados al citoesqueleto de queratina. Las conexinas son proteínas transmembrana que origina hemicanales o conexones.

5.1.1 Uniones de Oclusión

5.1.1.1 Uniones estrechas

Las uniones estrechas o tight junction son estructuras que forman y regulan una barrera paracelular, rodeando como un cinturón la zona más apical de las células epiteliales, manteniendo un punto de contacto con la célula adyacente, permitiendo el movimiento de solutos y sustancias a través del epitelio. (Garrido-Urbani S., 2014). Se propusieron en 1963 haciendo referencia como puntos de fusión o puntos de beso. Tienen dos funciones clásicas, la función de barrera y la función de valla. El primero regula el paso de iones, agua y diversas moléculas a través de los espacios paracelulares, por lo que se relaciona con edema, ictericia, diarrea y metástasis sanguíneas. La última función mantiene la polaridad celular formando una valla para evitar la mezcla de moléculas en la membrana apical con las de la membrana lateral. Esta función está profundamente involucrada en las propiedades de las células cancerosas en términos de pérdida de polaridad celular (Sawada N., 2013).

Los principales componentes de las uniones estrechas son las proteínas transmembrana llamadas claudinas, TAMP (ocludinas, tricelulina, MarvelD3), moléculas de adhesión de la unión (JAM), superfamilia de las inmunoglobulinas y receptor de lipoproteínas, además de muchas proteínas citoplasmáticas como cingulina. (Se sabe que las uniones estrechas están reguladas por procesos de fosforilación.(Sawada N., 2013)

Las proteínas de uniones estrechas tienen funciones de sellado (claudinas 1, 3, 5, 11, 14, 19 y tricelulina). Por el contrario, un número significativo de claudinas forman canales a través de TJ que presentan selectividad por cationes (claudinas 2, 10b y 15), aniones (claudina-10a y -17) o son permeables al agua (claudina-2). Mientras que otras su función aún no está clara, ya que sus efectos sobre las barreras epiteliales son inconsistentes (claudinas 4, 7, 8, 16 y ocludina). (Günzel, D., & Fromm, M., 2012)

5.1.2 Uniones de anclaje

Están compuestas por un grupo de proteínas transmembrana: uniones adherentes, desmosomas y hemidesmosomas.

5.1.2.1 Uniones adherentes

Las uniones adherentes son elementos de unión célula- célula en la que los receptores de cadherina forman un puente entre las membranas plasmáticas vecinas a través de sus interacciones homofílicas. Las cadherinas se asocian con proteínas citoplasmáticas, llamadas cateninas, que a su vez se unen a componentes citoesqueléticos, como filamentos de actina y microtúbulos. Estos complejos moleculares interactúan aún más con otras proteínas, incluidas las moléculas de señalización, lo que convierte a las uniones adherentes en estructuras altamente dinámicas y regulables. (Meng, W., & Takeichi, M., 2009)

La familia de las Cadherinas está compuesta por 20 miembros, cada uno se distribuye en diferentes tejidos. Las uniones se ensamblan mediante interacciones cis y trans entre las moléculas de cadherina de las células adyacentes, están reguladas por vías de señalización intracelular y con su citoesqueleto de actina, esto ocasiona que las uniones permanezcan en continuo cambio. Contiene un dominio celular que a su vez se divide en 5 y estos contienen secuencias que permiten la unión a calcio, lo que permite controlar su conformación y activar y desactivar la adhesión. (Meng, W., & Takeichi, M., 2009)

5.1.2.2 Hemidesmosomas

Son uniones especializadas que permiten la unión célula- matriz extracelular, son uniones estáticas formadas por complejos multiprotéicos asociados al citoesqueleto de queratina, contienen una placa densa en la superficie interna de la membrana basal la cual está unida por integrinas que la atraviesan y se unen a los filamentos de queratina que se dirigen hacia el citoplasma. (Karp, G, 2011)

El núcleo de este complejo lo proporcionan las integrinas α6β4 y P1a, una isoforma de la proteína enlazadora citoesquelética plectina que se asocia específicamente con las hemidesmosomas. La integrina α6β4 se une a la proteína de la matriz extracelular laminina-332, mientras que la P1a forma un puente a la red de filamentos intermedios de queratina citoplásmica. Otros componentes importantes son BPAG1e, la isoforma epitelial del antígeno 1 del penfigoide ampolloso, BPAG2, una proteína transmembrana de tipo colágeno y CD151, asociada a patologías cutáneas que producen fragilidad en los tejidos. Se han identificado al menos 12 mutaciones en los Hemidesmosomas que producen epidermólisis ampollosa. (Walko, G., Castañón, M. J., & Wiche, G., 2015).

5.1.2.3 Desmosomas

Son un complejo multiprotéico de unión célula - célula. Son muy abundantes en tejidos sometidos a tensión mecánica tienen forma de disco, contienen cadherinas que unen dos células, pero estas cadherinas tienen modificaciones en sus dominios por lo que reciben el nombre de: desmogleína y desmocolina.

Los desmosomas contienen proteínas de adhesión transmembrana dinámicas como la desmogleína y la desmocolina, que son miembros de la familia de las Cadherinas y que unen la adhesión intercelular de las células epiteliales. Sus vías de señalización intercelular incluyen la vía de señalización de beta-catenina (Wnt), la superfamilia p120, la superfamilia de placófilina, receptores de tirosina quinasas / receptores del factor de crecimiento, señalización basada en nectina, pequeñas guanosinas trifosfatosas (GTPasas), fosfoinositida-3 quinasa (PI3 quinasa) y proteína quinasa B (AKT o PKB). Se han identificado seis proteínas transmembrana asociadas a la unión estrecha: ocludina, claudina, tricelulina, JAM, Proteína Homóloga 3 y sustancia de vasos sanguíneos / epicárdicos. (Brücher, B. L., & Jamall, I. S., 2014)

5.1.3 Uniones comunicantes

Las uniones que permiten la comunicación celular son proteínas transmembrana que forman canales y permite la comunicación de una célula con otra o con su medio extracelular, en ellas se encuentran las panexinas, plasmodesmo, canales iónicos, sinapsis química y conexinas

5.1.3.1 Plasmodesmo

La palabra plasmodesmo proviene del latín "plasmo" que significa fluido y del griego "desma" que significa enlace. Son poros revestidos de membrana plasmática que atraviesan la pared celular de la planta y conectan las células adyacentes. Los plasmodesmos están compuestos por elementos del retículo endoplásmico, la membrana plasmática, el citosol y la pared celular y, por lo tanto, como estructuras multicompuestas que están incrustadas en la pared celular, son notoriamente difíciles de aislar del tejido vegetal completo. (Faulkner C., Bayer EMF., 2017)

Facilitan el movimiento intercelular de diversas moléculas y iones con diversas cargas. Son de características muy variadas debido a que tiene la capacidad de ajustar su permeabilidad de acuerdo a las señales recibidas. Son esenciales para la diversificación de plantas. (Sager, R. E., & Lee, J. Y., 2018).

5.1.3.2 Panexinas

Las panexinas son un grupo de proteínas transmembrana que se encuentran en los organismos vertebrados. La palabra panexina deriva del griego 'πᾶν', pan, "todo", y del latín 'nexus', unión. Es una familia compuesta por tres miembros de glicoproteínas formadoras de canales: Panx1, Panx2 y Panx3. Panx1 se expresa de forma ubicua en muchos tejidos de mamíferos, mientras que Panx2 y Panx3 parecen estar más restringidos en su expresión. La Panx1 se ha relacionado con la propagación de ondas de calcio, la regulación del tono vascular, aclaramiento pulmonar mucociliar, función de las papilas gustativas y se ha demostrado que actúa como supresor de tumores en los

gliomas. La apertura del canal Panx1 también puede ser perjudicial, contribuyendo a la muerte celular y las convulsiones en condiciones isquémicas o epilépticas e incluso facilitando la infección viral por VIH-1. Panx2 participa en la diferenciación de neuronas, mientras que Panx3 desempeña un papel en la diferenciación de condrocitos, osteoblastos y la maduración y transporte de espermatozoides.(Penuela, S., Gehi, R., & Laird, D. W., 2013).

Las panexinas están formadas por cuatro segmentos transmembranales, dos bucles extracelulares y una localización citoplasmática del término amino, el bucle citoplásmico y el término carboxilo. La Panx1 está formada por seis segmentos transmembranales y la Panx2 está formada por ocho segmentos, a la conformación de sus segmentos respectivamente se le llama “Panexón”. (Sosinsky, G. E. et al., 2011).

5.1.3.3 Inexinas

Las proteínas de inexina (Inx) forman canales de unión gap y canales sin unión (denominados hemicanales) en los invertebrados. Estos canales participan en la comunicación celular jugando un papel relevante en varios procesos fisiológicos. Los estudios pioneros realizados principalmente en gusanos y moscas han demostrado que las inexinas participan en el desarrollo y el comportamiento del embrión.(Güiza, J., Barría, I., Sáez, J. C., & Vega, J. L., 2018)

5.1.3.4 Canales iónicos

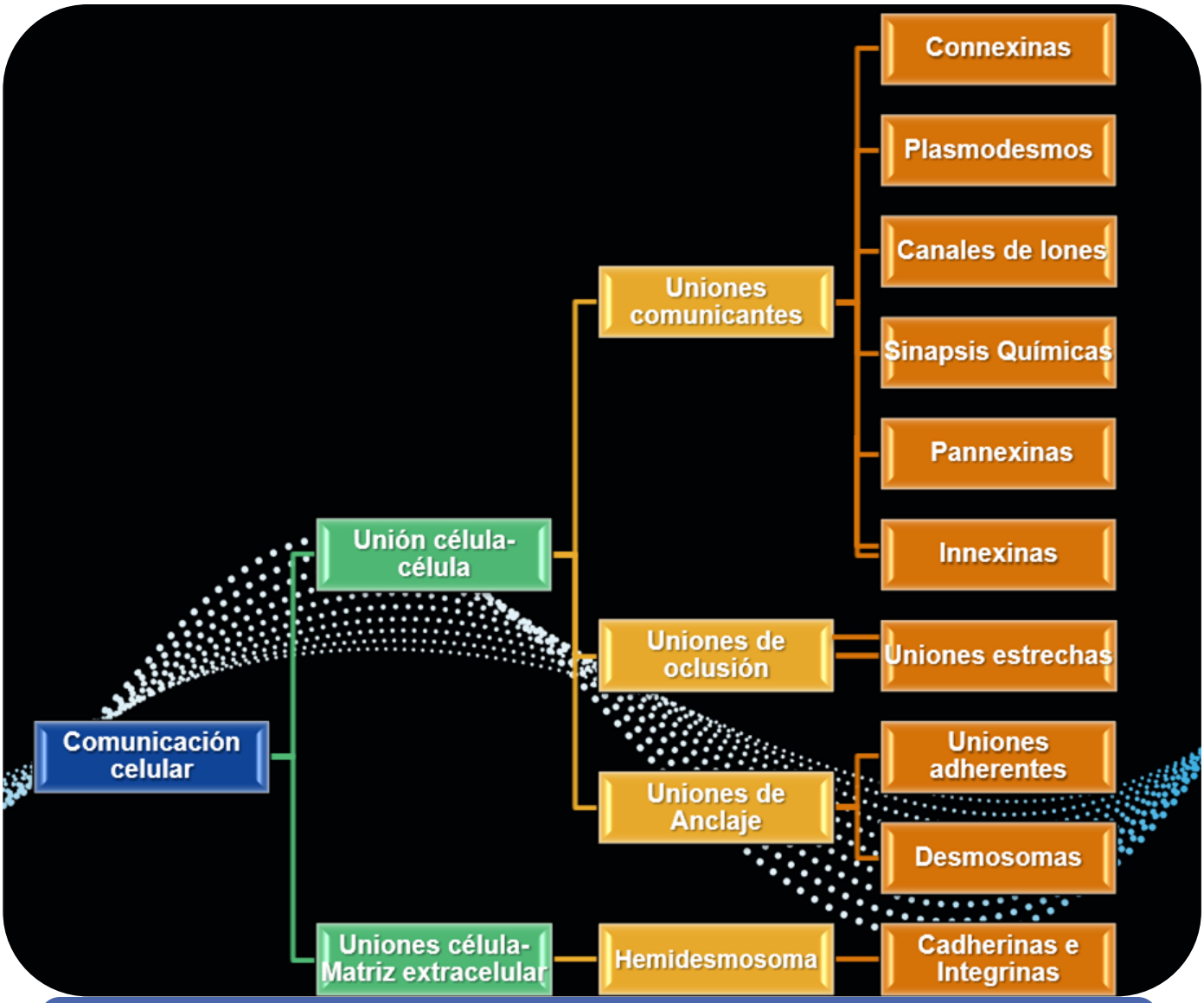
Los canales iónicos son proteínas integrales ubicados en las membranas celulares y de los orgánulos, forman poros con el objetivo de controlar el flujo específico de iones, del exterior de la célula al interior o del espacio intracelular a los organelos correspondientes, mantienen el equilibrio electroquímico de las células ya que el flujo de iones a través del canal genera un potencial de acción que es esencial para el funcionamiento celular. (Demirbilek, H. et al., 2019). Esta función es esencial para las células excitables como las células cardiacas, neuronas, células endocrinas y células musculares, ya que contribuyen

al potencial de membrana, señalización celular y la homeostasis.(Trebak, M., & Parekh, A. B., 2012).

Para que el canal cumpla su objetivo es necesario que la sección integral de la membrana del canal debe formar una vía de conducción de iones, un filtro de selectividad y una puerta para controlar los movimientos de los iones. (Doyle, DA.,2004).

Hasta ahora conocemos los siguientes canales iónicos: canales de cationes, a través de los cuales pueden pasar iones como: K^{+}, Na^{+} y Ca^{+2} y canales de aniones, para Cl^{-}, NO_3^{-} y $C_3H_2O_4^{-2}$, pero podemos imaginar que existen otros. (Brücher, B. L., & Jamall, I. S., 2014).

Los canales iónicos se pueden clasificar según su: a) Selectividad, b) Dependencia (voltaje, ligando, estiramiento). b) Conductancia (tamaño del poro). Algunos canales son sensibles al potencial de membrana, otros son abiertos por señales químicas intracelulares como neurotransmisores y otros por señales de segundos mensajeros. Otros canales pueden responder a estímulos mecánicos y/o temperatura. (D. Purves., 2007)



Esquema 1. Comunicación celular.

Clasificación de las uniones célula-célula y uniones célula- matriz extracelular

5.2 Tipos de sinapsis

5.2.1 Sinapsis química

La función neuronal está sustentada en la capacidad de las neuronas para comunicarse entre sí y realizar el tráfico de información de manera correcta, es por ello que las neuronas emplean dos procesos esenciales para realizar la transmisión eléctrica: Sinapsis química y sinapsis eléctrica.

Las sinapsis químicas (Fig. 2) son uniones intercelulares que conectan las terminales presinápticas de los axones con las dendritas postsinápticas de otra neurona. Los neurotransmisores se liberan en la hendidura sináptica después de que un potencial de acción provoque la entrada de iones Ca^{+2} a través de los canales iónicos dependientes de voltaje y active la exocitosis vesicular (la concentración extracelular de calcio es de aproximadamente de 10^{-3} M, mientras que la concentración interna del calcio es de 10^{-7} M). (D. Purves., 2007). La cercanía de la vesícula a los canales de calcio aumenta la eficacia y la velocidad de transmisión (Petzoldt, A. G., & Sigrist, S. J., 2014). Se le conoce como “zona activa” al sitio de fusión de las vesículas y la liberación del neurotransmisor (D. Purves., 2007). Para la transmisión directa, los neurotransmisores liberados se unen a los receptores correspondientes en la terminal postsináptica para provocar una respuesta. Tanto la neurona presináptica que autorregula la cantidad liberada de neurotransmisores como la neurona postsináptica que es capaz de detectar y traducir la información, como cambios en el potencial de reposo o incluso inducir la expresión de genes requieren una maquinaria molecular compleja, que incluya receptores ionotrópicos (canales iónicos activados por ligandos) y metabotrópicos (receptores acoplados a proteína G). Los neurotransmisores se eliminan por captación a través de transportadores o difusión. El cerebro humano promedio tiene 11,5 billones de neuronas mientras que la neurona promedio tiene 29.800 sinapsis. (Shin, M., et al. 2019).

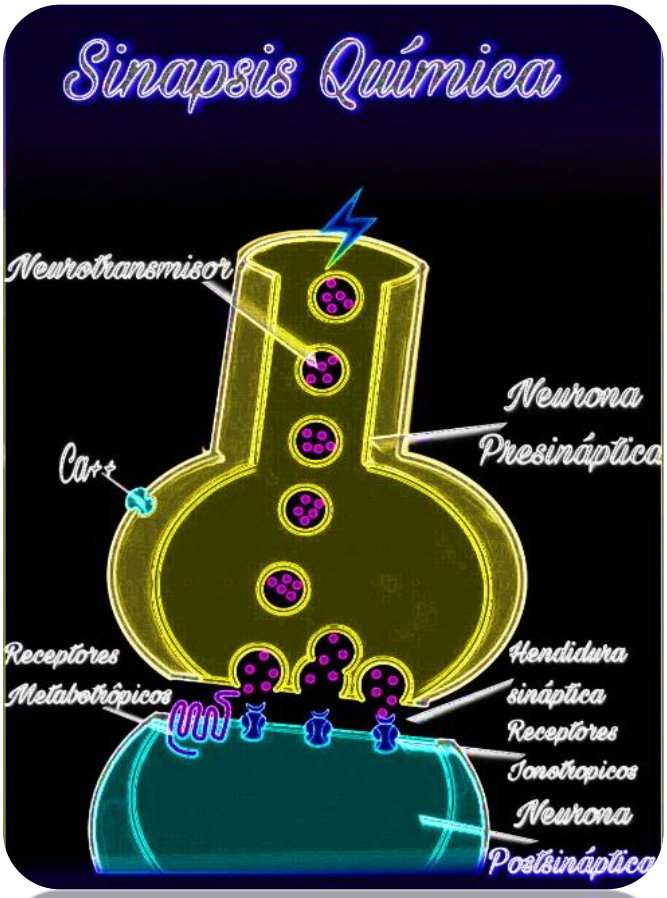


Figura 2. Sinapsis química

Las sinapsis químicas son uniones intercelulares que conectan las terminales presinápticas de los axones con las dendritas postsinápticas de otra neurona . Los neurotransmisores se liberan en la hendidura sináptica después de que un potencial de acción provoque la entrada de iones Ca 2+ y active la exocitosis

En el año 2013 el Premio Nobel de Fisiología y Medicina fue otorgado a James E. Rothman, Randy W. Schekman y Thomas C. Südhof “por sus descubrimientos de la maquinaria que regula el tráfico de vesículas, un importante sistema de transporte en nuestras células".

5.2.2 Sinapsis eléctrica

Por otro lado, las sinapsis eléctricas se realizan gracias a la presencia de conexinas las cuales son proteínas transmembrana que forman canales en los compartimentos intracelulares los cuales permiten la comunicación de una neurona con otra neurona adyacente, formando una “unión gap” las cuales permiten el paso bidireccional de

corrientes eléctricas, moléculas pequeñas e iones. (Fig. 3) Las uniones gap están formadas por la unión de dos “hemicanales o conexones” ubicados cada una en las células adyacentes, los cuales contienen una estructura compuesta por seis conexinas. La conexina 36 (Cx36) es considerada la principal conexina sináptica en las neuronas. (Pereda AE., 2014) Las sinapsis eléctricas no requieren un potencial de acción ya que están perfectamente acopladas a las neuronas adyacentes que son capaces de sensar las despolarizaciones subumbrales simultáneamente lo que aumenta la excitabilidad neuronal y a este fenómeno se le conoce como un proceso sincrónico en las células.

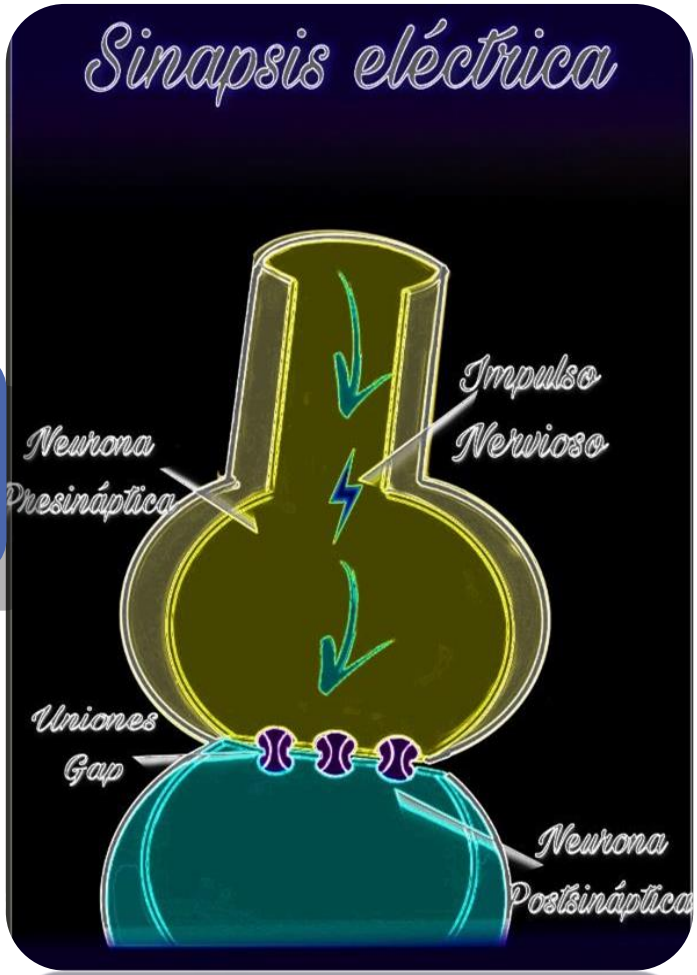


Figura 3. Sinapsis eléctricas

las sinapsis eléctricas se realizan a través de conexinas que forman canales en los compartimentos intracelulares que permiten la comunicación de una neurona con otra neurona adyacente, formando una “unión gap”

5.3 Conexinas

Silvio Weidmann fue el primero en descubrir las uniones gap en 1952 realizando experimentos con fibras de Purkinje del corazón de un cabrito. Sus hallazgos fueron que la constante de longitud eléctrica, λ, es mucho mayor que la longitud de la célula y la resistencia longitudinal interna (mioplasma en serie con contacto célula-célula) es mucho menor que la resistencia de la membrana. Por lo tanto, razonó que la resistencia entre las células vecinas es baja. Sentó las bases para lo que más tarde se denominaron canales de unión de brechas, en un momento en el que no se disponía de evidencia estructural. (Niggli, E., Kléber, A. y Weingart, R., 2006).

Las uniones gap o uniones en hendidura son canales formados por dos hemicanales, cada uno formado por seis subunidades de proteína conexina en la membrana plasmática, cada conexina comprende cuatro dominios transmembrana TM1-TM4, conectados por dos bucles extracelulares, E1 y E2 que median el acoplamiento. Los extremos N y C, y un bucle que conecta TM2 y TM3 se encuentran en el lado citoplásmico de la membrana plasmática. Estos canales se agrupan en máculas polimórficas o placas que contienen de unas pocas a miles de unidades. La estrecha aposición de membrana necesaria para permitir el acoplamiento entre conexiones excluye estéricamente a la mayoría de las demás proteínas de membrana, dejando un estrecho "espacio" extracelular de ~ 2 nm por el que se nombra la unión. (Goodenough, D. A., & Paul, D. L., 2009)

Actualmente se han encontrado 20 genes de conexinas en el genoma de ratón y 21 genes en el genoma humano. Se denominan con la abreviación Cx seguido de su masa molecular aproximada expresada en kilo Daltons, es decir la conexina 43 tiene un peso de 43kD.

Se les conoce como hemicanales homoméricos si se forman a partir de una única isoforma de conexina o conexina heteromérica cuando se forma por más de un tipo, esta característica depende de la capacidad de interactuar con las demás isoformas de

conexina.(Fig. 4). El acoplamiento de hemicanales para formar canales de unión gap homotípicos y heterotípicos agrega un nivel adicional de complejidad. (Srinivas, M., Verselis, V. K., & White, T. W., 2018). La compatibilidad de acoplamiento está regulada por secuencias específicas en el dominio E2. Por tanto, la mutación genética de un único gen de conexina puede influir en muchos tipos de canales, lo que puede contribuir a la diversa variedad de enfermedades que pueden resultar. (Decrock, E., et al., 2015).

La investigación ha descubierto una plataforma multinivel a través de la cual Cxs y Panxs pueden influir en diferentes funciones celulares dentro de un tejido: (1) Cx GJCs permiten una comunicación directa célula-célula de moléculas pequeñas, (2) Cx hemicanales y canales Panx pueden contribuir a autocrino / paracrino las vías de señalización y (3) los diferentes dominios estructurales de estas proteínas permiten funciones independientes del canal, como la adhesión célula-célula, las interacciones con el citoesqueleto y la activación de las vías de señalización intracelular como citocinas, factores de crecimiento, transmisores y especies de radicales libres para detectar cambios en el microambiente y adaptarse a ellos. (Saez, J. C., et al., 2003)

Los hemicanales tienden a cerrarse por potenciales de membrana negativos, altas concentraciones de Ca^{2+} extracelular y iones H^{+} intracelulares, bloqueadores de las uniones gap y fosforilación de proteínas. Los hemicanales tienden a abrirse por potenciales de membrana positivos y Ca^{2+} extracelular bajo, y posiblemente por moléculas de señalización citoplasmática aún no identificadas. La apertura de hemicanales exacerbada ocurre en células inhibidas metabólicamente, incluidos los astrocitos corticales, lo que contribuye a la pérdida de gradientes químicos a través de la membrana plasmática y acelera la muerte celular. (Srinivas, M., Verselis, V. K., & White, T. W., 2018).

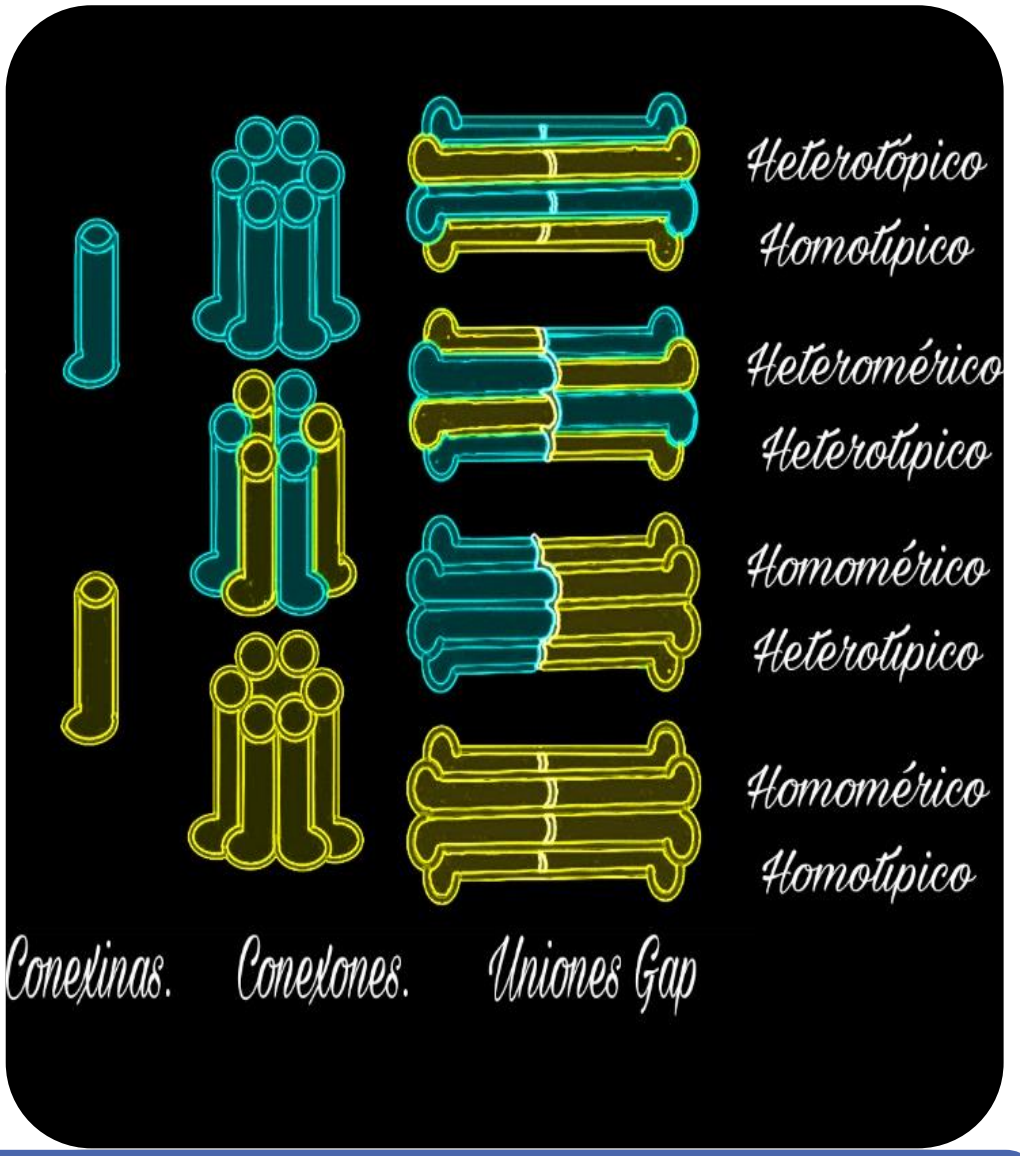


Figura 4.Conexinas

Las Cxs homoméricas se forman a partir de una única isoforma de conexina. Las Cxs heteromérica se forma por más de una isoforma, esta característica depende de la capacidad de las Cxs para interactuar con otras isoformas. El acoplamiento de hemicanales para formar canales de unión gap pueden ser homotípicos y heterotípicos

5.3.1 Ciclo de vida de las conexinas

Las conexinas tienen un ciclo de vida complejo, están reguladas con precisión y por diferentes moléculas que permiten la regulación de su expresión, así como su degradación. Dado que el tiempo de vida de las conexinas es de solo unas horas, dependiendo de su tipo celular y las condiciones en que se encuentren. Viviana, M. y Colaboradores en el artículo “Pathways for degradation of connexins and gap junctions”, indican que la vida media de las conexinas en células cultivadas es de 1.5- 4h. La técnica para medir este parámetro en las conexinas es por medio del análisis “Pulse-chase” o también llamado Pulso de persecución o radioactivo, sirve para medir la vida media de una sustancia. (Fritzsche, S., & Springer, S., 2014)

Es una herramienta bien establecida y altamente adaptable para estudiar el ciclo de vida de las proteínas endógenas, incluida su síntesis, plegamiento, ensamblaje de subunidades, transporte intracelular, procesamiento postraduccional y degradación. Los experimentos de seguimiento de pulsos se basan en el radiomarcaje metabólico de la entidad proteica para evaluar su plegamiento intracelular y el transporte de la superficie celular. Las etapas de síntesis y plegado se visualizan utilizando anticuerpos específicos dependientes o independientes de la conformación para el aislamiento de proteínas después de la lisis con detergente. El transporte de proteínas a través de la vía secretora se monitoriza mediante el estado de procesamiento de los N-glicanos unidos covalentemente. En un experimento de persecución de pulsos de radiomarcaje estándar, las células se cultivan brevemente en presencia de aminoácidos radiactivos, que se incorporan al proteoma ("pulso"), y luego se evita ("persecución") una mayor absorción de radiactividad por parte de las células. Las proteínas marcadas luego se pliegan y finalmente se transportan a su destino intracelular mientras se someten a un procesamiento específico de proteínas (por ejemplo, modificación de glucanos, escisión proteolítica). Para la persecución del pulso, las células primero se privan de cisteína y metionina y luego se cultivan en presencia de estos aminoácidos que contienen el isótopo

radiactivo 35s (marcaje por pulsos). A continuación, se incuban alícuotas iguales de células marcadas en medio suplementado con un exceso de aminoácidos no radiactivos durante varios tiempos (persecución). A continuación, la proteína de interés se aísla de cada muestra mediante extracción con detergente e inmunoprecipitación. Para monitorear el progreso de la proteína en la vía secretora, los inmunoaislados se tratan con endoglicosidasas H o F1 (EndoH o EndoF1; Trimble y Tarentino, 1991), que escinden glicanos con alto contenido de manosa (sensibles; glicoproteínas en el RE y cis-Golgi.) del polipéptido, pero no glucanos complejos (resistentes; medial y trans-Golgi, membrana plasmática). Los productos de la digestión se resuelven mediante SDS-PAGE, que separa las moléculas sensibles y resistentes a endoglicosidasas por su diferencia de tamaño, y se visualizan por autorradiografía. obtenidos de este análisis se utilizan para investigar el plegamiento y el transporte intracelular de una glicoproteína. (Aasen, T., et al., 2018)

5.3.1.1 Síntesis de Conexinas

Se han encontrado 21 genes que codifican conexinas en humanos y se han identificado diecinueve que, aunque no contienen una secuenciación igual o similar, provienen de un mismo ancestro en común. La mayoría de los genes de conexina comparten una estructura común que consta de dos exones separados por un intrón de tamaño variable. La mayor parte de la 5 ′ UTR (región no traducida) se localiza en el exón 1, mientras que la región codificante completa y la 3 ′ UTR se encuentran en el exón 2. Algunos genes de conexina contienen más de dos exones (para la 5 ′ UTR de la transcripción), como GJA5 humano (Cx40), que contiene tres exones que producen dos transcripciones distintas y específicas de tejido, y GJB6 (Cx30), que contiene seis exones que permiten el empalme específico de tejido. En unos pocos casos, la región codificante también se distribuye en más de un exón. Un promotor basal (P1) se encuentra típicamente dentro de los 300 pb corriente arriba del sitio de inicio de la transcripción del exón 1. (Salameh A., 2006)

CONEXINAS HUMANAS	GENES	CROMOSOMA	EXONES	EXPRESION EN TEJIDOS
Cx23.	GJE1	6	3	En investigación
Cx25.	GJB7	6	4	Expresión sesgada en placenta, pulmón y otros tejidos como estómago, testículos y vejiga. Encontrada en 29 tejidos
Cx26.	GJB2	13	3	Expresión sesgada en esófago y piel
Cx29 o 32.2 o 31.3.	GJC3	7	2	Amplia expresión en próstata, páncreas y otros 14 tejidos
Cx30.	GJB6	13	6	Expresión sesgada en esófago y médula ósea y otros tejidos como: piel, tiroides, cerebro y vejiga.
CX30.3.	GJB4	1	3	Expresión sesgada en piel, vesícula biliar y otros como: esófago y vejiga.
Cx31.	GJB3	1	3	Expresión sesgada en piel, esófago y otros tejidos como vesícula biliar, estomago, vejiga, colon y apéndice
Cx31.1.	GJB5	1	2	Expresión sesgada en piel, esófago y otros tejidos como: vejiga, vesícula biliar y cerebro, Encontrada en 27 tejidos.
Cx31.9 o 30.2	GJD3	17	1	Encontrada en la corteza cerebral, hígado, corazón, bazo, pulmón y riñón.
Cx32.	GJB1	X	4	Expresión sesgada en hígado, riñón y otros 10 tejidos entre ellos vesícula biliar duodeno y colon.
Cx36.	GJD2	15	2	Expresión sesgada en suprarrenales, cerebro y otros tejidos como: corazón riñones y páncreas.
Cx37.	GJA4	1	3	Amplia expresión en placenta, grasa y otros 17 tejidos entre ellos endometrio, corazón y pulmones.
Cx40.	GJA5	1	4	Expresión sesgada en placenta, pulmón

				y otros 11 tejidos entre ellos corazón, riñones y grasa.
Cx40.1.	GJD4	10	2	Baja expresión observada en el conjunto de datos de referencia en cerebro, endometrio y vesícula biliar
Cx43.	GJA1	6	2	Amplia expresión en piel, suprarrenales, cerebro, placenta, endometrio, corazón y pulmones otros 12 tejidos.
Cx45.	GJC1	17	9	Amplia expresión en endometrio, placenta y otros 14 tejidos como: grasa, próstata, corazón y pulmones
Cx46.	GJA3	13	3	Expresión sesgada en corazón, placenta, riñones, testículos y esófago.
Cc46.6 o47.	GJC2	1	2	Amplia expresión en cerebro, endometrio y otros 19 tejidos como pulmones, ovario, hígado y próstata
Cx50.	GJA8	1	3	Expresión restringida hacia los testículos.
Cx58 o 59.	GJA9	1	2	Expresión sesgada en testículos, piel y otros 6 tejidos como estómago y colón.
Cx62.	GJA10	6	1	Se transcriben en el músculo esquelético, aunque este último también se expresa ligeramente en el corazón.

Tabla 1. Genes que codifican conexinas, ubicación genética y órganos de expresión.

Los genes que codifican proteínas conexinas se dividen en tres grupos: conexinas alfa conexinas beta y un tercer grupo formado por conexinas gamma, delta y épsilon. Esta división se realiza debido a la secuenciación homologa de sus aminoácidos

La síntesis de las proteínas conexinas tienen lugar en los ribosomas, el ARNm de las conexinas (Cx-ARNm) tiene un sitio de “entrada de ribosoma interno” conocido como IRES, el cual está compuesto por una secuencia de nucleótidos, ubicada dentro de la UTR 5 ′ del Cx-ARNm (Salameh A., 2006). También se necesita un traslocón una secuencia promotora que se une a factores de transcripción los cuales van a regular la expresión del Cx-ARNm y la transcripción de los genes de conexina. La translocación de la proteína puede ser tanto cotraduccional como postraduccional o incluso fusionarse a la

membrana plasmática de manera directa. La traducción de Cx-ARNm en el ribosoma, debe mantenerse en todo momento, incluso en condiciones de estrés. (Laird D. W., 2006). Si la proteína recién sintetizada no está plegada correctamente pasa al complejo de degradación de proteínas asociadas al retículo endoplásmico (ERAD) que como su nombre lo indica se encarga de la degradación de proteínas mal pegadas, sin embargo, si la proteína se plegó adecuadamente pasa en forma monomérica al aparato de Golgi para su oligomerización en la red trans-Golgi.

El siguiente reto de las conexinas es transportarse a la superficie celular, este proceso lo logran al entrar en una variedad de productos intermedios de transporte de diferentes tamaños y formas que se utilizan para la entrega de la carga de conexina a estas vesículas pleomórficas y de superficie celular. Extensiones tubulares pueden verse emanando de la red trans -Golgi. Varias líneas de evidencia también sugieren que el transporte de conexinas está mediado en parte por microtúbulos. Aunque los microtúbulos facilitan el suministro de transportadores de conexina a la superficie celular, parecen no ser esenciales, sino que actúan para mejorar la eficiencia del proceso de suministro. (John W. Baynes, Marek H. Dominiczak., 2019). Llegan a la superficie celular a través de la vía secretora y se entregan de manera cerrada. Una vez insertadas en las membranas plasmáticas, las conexiones parecen difundirse libremente dentro de la bicapa lipídica y, bajo la guía de eventos de adhesión específicos basados en N- y E-cadherina, se acoplan a las conexiones de las células adyacentes para formar canales de unión gap. (Salameh A., 2006).

Los canales de unión gap se agrupan generalmente formando placas de uniones gap, las cuales trabajan en conjunto para mantener la homeostasis celular, estas placas están formadas por miles de canales de unión gap y este número a su vez dependen la cantidad de vesículas secretoras que llegan a la superficie celular.

5.3.1.2 Degradación de Conexinas

En la actualidad se conocen tres vías de degradación de las conexinas: proteosomal, lisosomal y autofágica.

Los proteosomas son un complejo multicatalítico diseñado para degradar proteínas citosólicas. El proteosoma 26s está formado por dos tipos de subunidades: una proteína multicatalítica multimérica de 20s y una ATPasa 19s. El proteosoma es una estructura en forma de barril formada por una pila de cuatro anillos de siete monómeros homólogos, subunidades tipo alfa en los extremos externos y subunidades de tipo beta en los Anillos internos. La actividad proteolítica reside en las subunidades Beta con centros activos dispuestos hacia el interior del barril, con lo que se protege a las proteínas citoplasmáticas de una degradación inadecuada. Las subunidades ATPasa están unidas a ambos extremos del barril y actúan permitiendo que entren sólo proteínas que han de ser destruidas. Las proteínas se despliegan en un proceso que requiere ATP y se proteolizan generando péptidos de seis a nueve aminoácidos que se liberan al citoplasma para su posterior degradación. (Laing, J. G., & Beyer, E. C. 1995).

Para que la degradación se lleve a cabo debe haber una especie de marcaje en las proteínas que van a ser degradadas por los proteosomas: la ubiquitinación. La ubiquitina es un polipéptido de 76 aminoácidos, que se activa con una enzima activadora de ubiquitina E1 formando un enlace tioéster y posteriormente forma otro enlace tioéster con una enzima conjugadora de ubiquitina E2 y esta última se conjugara con una ubiquitina ligasa E3, la cual va a facilitar el enlace covalente de la ubiquitina activada con los residuos de lisina de la proteína diana y polimerizando una cadena de ubiquitina, la cual es reconocida por un sitio de unión a la ubiquitina en la subunidad 19S en el proteosoma y dando inicio a la degradación de la proteín. (Bell, CL, Shakespeare, TI, Smith, AR y Murray, SA 2018).

En 1995 James G. Laing y Eric C. Beyer investigaron la degradación de la conexina 43 en células de ovario de hámster chino E36 y células BWEM derivadas de cardiomiocitos de rata utilizando inhibidores de proteasas, dando por resultado que la cantidad de conexina 43 aumentara hasta seis veces al no poder ser degradada por esta vía. Ellos concluyeron que la degradación proteosomal podría ser la ruta principal de la proteólisis de Cx43.

Los lisosomas son organelos que se encuentran en el citosol de las células animales, en su interior contienen alrededor de cincuenta enzimas hidrolíticas que se producen en el retículo endoplásmico rugoso, las cuales se encargan de degradar las proteínas con su PH interno ácido. El material que es degradado es transportado a través de endocitosis y fagocitosis.

Una de las teorías de degradación endo/lisosomal son mediante la eliminación de las placas de unión gap de la superficie celular mediante un evento de internalización. El desmontaje y eliminación de las placas de unión gap de la membrana plasmática implica un proceso de internalización único dependiente de clatrina / dinamina en el que la placa de unión gap que conecta dos células adyacentes se internaliza en el citoplasma de una de las dos celdas para formar una unión de espacio anular. Estas uniones de brecha anular se identificaron por primera vez con microscopía electrónica de transmisión (TEM) y se distinguieron de otros orgánulos por la presencia de una doble membrana (membrana pentalaminar) y un lumen central. Ahora se ha demostrado con técnicas de imagen de células vivas que las uniones anulares (también llamadas conexosomas) se forman a partir de la internalización en las regiones centrales de la placa de la unión gap o la internalización de toda la placa de la unión gap. (Falk, M. M., et al. 2012).

Los conexosomas o uniones anulares son vesículas que están asociadas a los lisosomas con el fin de eliminar conexinas. Sin embargo en el 2018 Cherry Bell y colaboradores realizaron investigaciones en la conexina 43, encontraron que las uniones anulares tienen asociación con los lisosomas y observaron que la bicapa de las uniones se separa, la interna se degrada mientras que la externa se fusiona con la membrana lisosomal,

también demuestran que estas uniones no solo se encuentran en los lisosomas, sino que también interactúan con las mitocondrias, sin embargo aún no se ha dilucidado el propósito de este contacto. Se han sugerido la presencia de distintas vías debido a que interactúa con diversas proteínas asociadas como la caveolina-1 y la clatrina sugiriendo mecanismos de reciclaje o reposicionamiento de conexinas a la membrana, no obstante, estas hipótesis necesitan más investigación para dilucidar el propósito de la internalización de las uniones gap.

También se propone que las placas de uniones gap se endocitan de la membrana plasmática y las uniones anulares se degradan por medio de un proceso fago/lisosómico o conocido como autofagia. La autofagia es una vía de degradación celular diseñada para eliminar, proteínas, patógenos o incluso organelos celulares. Consiste en que las estructuras citoplasmáticas destinadas a la degradación se rodean con una doble membrana formando una estructura llamada autofagosoma, el cual posteriormente se fusiona a un lisosoma por medio de su membrana, mezclando el contenido con sus enzimas hidrolíticas. La degradación autofágica de las uniones gap juega un papel importante en la regulación de la función de la unión gap, ya que la inhibición de la autofagia celular aumenta la comunicación intercelular directa, previene la internalización de las uniones gap, ralentiza la degradación de conexinas y causa la acumulación citoplásmica de vesículas uniones Gap internalizadas *in situ,* así como en células cultivadas que expresan proteínas conexinas endógena o exógenamente. (Bergmann, O., Spalding, K. L., & Frisén, J., 2015)

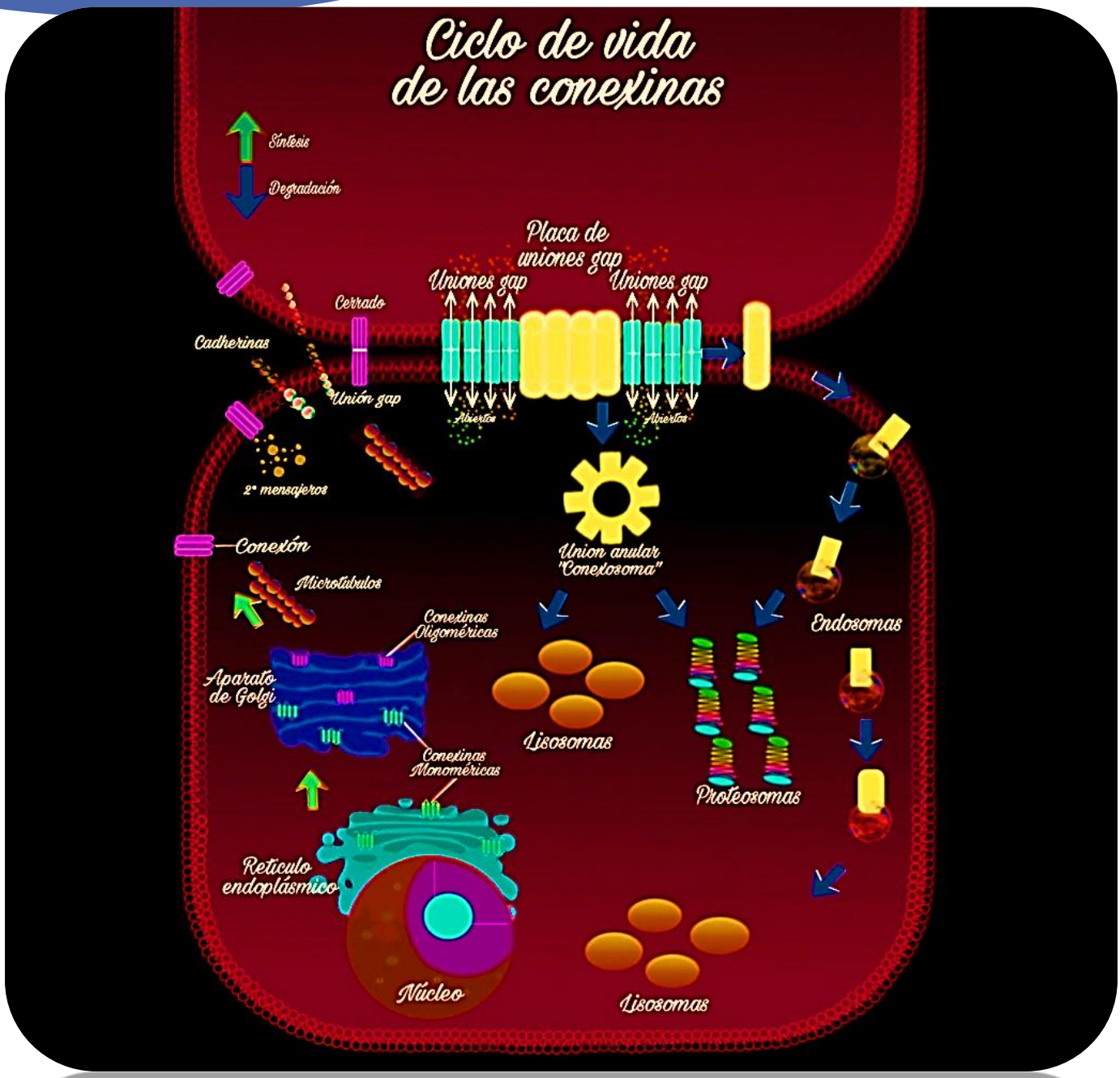


Figura 5. Ciclo de vida de las conexinas

Síntesis de Cxs: el ARNm de las conexinas (Cx-ARNm) entra al IRES. Un translocon y una secuencia promotora se une a factores de transcripción. Si la proteína sintetizada no está plegada correctamente pasa al ERAD, si la proteína se plegó adecuadamente pasa en forma monomérica al aparato de Golgi para su oligomerización en la red trans-Golgi. El transporte a la superficie celular es a través de productos intermedios, entrega la carga de conexina a las vesículas. Extensiones tubulares pueden emanan de la red trans -Golgi. y microtúbulos facilitan el suministro de transportadores de conexina y son insertadas en las membranas plasmáticas,
Degradación
Proteosomal: El proteosoma 26s las proteínas se despliegan, requieren ATP y se proteolizan
Lisosomal: enzimas hidrolíticas que se producen en el retículo endoplásmico rugoso, degradar las proteínas con su PH interno ácido, se endocitan y fagocitan
Autofagocitosis: estructuras citoplasmáticas rodean con una doble membrana formando una estructura llamada autofagosoma.

5.4 Participación de las conexinas en diferentes procesos fisiológicos

El sistema nervioso es fundamental para el desarrollo de los órganos y sistemas. Una tercera parte de los 23 000 genes que codifican el genoma humano se expresa en el sistema nervioso. Todo cerebro maduro está compuesto por 100 000 millones de neuronas, varios millones de kilómetros de axones y dendritas y más de 10^{15} sinapsis. (Bergmann, O., Spalding, K. L., & Frisén, J., 2015)

5.5 Neurodesarrollo

La formación del sistema nervioso central es de suma importancia ya que el 3% de los nacimientos se asocian con malformaciones graves, la mayoría de los fetos y recién nacidos de este grupo no sobreviven. Alrededor del 75% de los fetos que sufren un aborto espontaneo y el 40% de los niños que fallecen durante el primer año de vida tienen malformaciones graves del SNC. (Brücher, B. L., & Jamall, I. S., 2014).

Se ha demostrado que el SNC no solo se desarrolla durante el periodo embrionario y fetal, sino hasta los tres y cuatro años de edad, e incluso en la adultez ya que regiones especificas en el hipocampo y bulbo olfatorio humano principalmente, estas regiones son llamadas “nichos neurogénicos” los cuales permiten la regeneración neuronal a través de células madre neuronales Las células madre neurales que residen en las paredes de los ventrículos laterales del cerebro dan lugar a neuroblastos que migran al bulbo olfatorio durante toda la vida en la mayoría de los mamíferos. (Hernández Flórez, C. E., et al., 2019)

La formación del sistema nervioso central se puede dividir en cuatro periodos: Proliferación (semana 1 a 7), Migración (semana 8 a 15), Diferenciación (semana 16 a 26) y Maduración (semana 27 a la adultez).

Durante la segunda semana de gestación el periodo de proliferación tiene relevancia ya que la fecundación ha iniciado con la segmentación celular formando una capa bilaminar formada por células epiblásticas e hipoblásticas. Las células epiblásticas se van a diferenciar en tres láminas de células madre que posteriormente se van a diferenciar en diversos órganos y sistemas incluyendo el SNC mientras que las células hipoblásticas van a formar estructuras extraembrionarias. Durante la gastrulación, el sistema nervioso comienza su desarrollo con la formación de las primeras tres capas germinativas: ectodermo, mesodermo y endodermo. El SN deriva del ectodermo, en la tercera semana de gestación aparece una línea media de células progenitoras que van a regular la expresión génica y la migración celular lo cual permitirá la diferenciación celular llamada “línea primitiva”, posteriormente está línea va formando los bordes posteriores alargándose y formando el tubo neural y así comienza el periodo de neurulación con la aparición del tubo neural. (Moore, K., 2020).

El sistema nervioso central, proviene del epitelio del tubo neural, mientras que la mayor parte sistema nervioso periférico y sistema nervioso autónomo se desarrolla partir de la cresta neural. La neurulación es el periodo de formación del tubo neural y la placa neural la cual se forma durante el día 22 y 23.

Los dos primeros tercios de esta estructura formarán en cerebro, mientras que el tercio posterior formará la medula espinal. Para estos días de gestación se comienzan a observar vesículas cerebrales primarias que posteriormente van a subdividirse (Fig. 6) para formar estructuras esenciales del SNC como: el prosencéfalo (cerebro anterior) que va a dividirse en telencéfalo(prosencéfalo secundario) y diencéfalo, mesencéfalo (cerebro medio) se dividirá en techo, tegmento y pedúnculos cerebrales, mientras que el rombencéfalo (cerebro posterior) se subdividirá en metencéfalo y mielencéfalo

Durante la neurulación aparece el surco neural formado por los pliegues neurales que surgen en la línea media de la placa neural, estas células se agrupan en el centro del tubo neural y forman una especie de invaginación denominada “zona ventral” la cual dará

origen a los ventrículos cerebrales que formaran el tallo cerebral y el conducto central de la médula espinal (Rakic, 1988), en este proceso se sintetiza ADN, se realiza una translocación nuclear donde lo, división celular mitótica, compromiso fenotípico y migración a su destino final. Aunque oscilante, migración nuclear intercinética alterna (de un lado a otro) durante la división celular, que requiere la reordenación de los orgánulos citoplasmáticos tubulares y filamentosos posteriormente los pliegues neurales se fusionan para formar el tubo neural, sin embargo, en los extremos craneal y caudal quedan abiertos unos orificios llamados neuróporos, los cuales posteriormente se cierran para separar el sistema ventricular del líquido amniótico alrededor del día 29. (Fig. 7). También se localiza la zona intermedia donde se encuentran los neuroblastos en diferenciación, mientras que en la zona marginal periférica se encuentran prolongaciones neuronales. Posteriormente la zona intermedia se convertirá en sustancia gris ya que contendrán los cuerpos neuronales y la zona marginal en sustancia blanca por lo que contendrá las fibras nerviosas mielínicas. (Navarro-Quiroz, E., 2018).

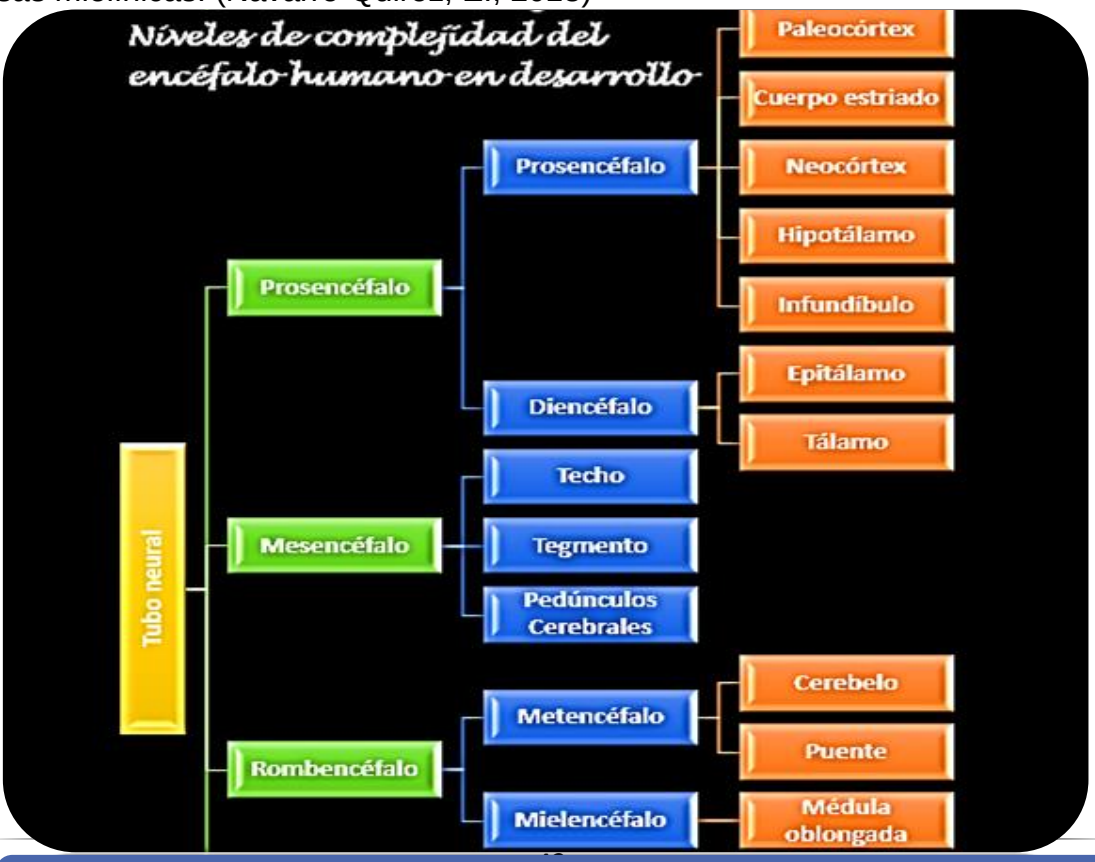


Figura 6. Niveles de complejidad del encéfalo humano en desarrollo

Las vesículas cerebrales primarias van a subdividirse para formar estructuras esenciales del SNC

Mientras tanto las crestas neurales se forman durante la separación del ectodermo del tubo neural, gracias a que las células de la cresta neural migran a los laterales del tubo neural formando una estructura aplanada conocida como cresta neural, esta estructura es de suma importancia ya que dará lugar al SNP, dando origen a los ganglios raquídeos y los nervios espinales dividiéndose en izquierdos y derechos respectivamente.

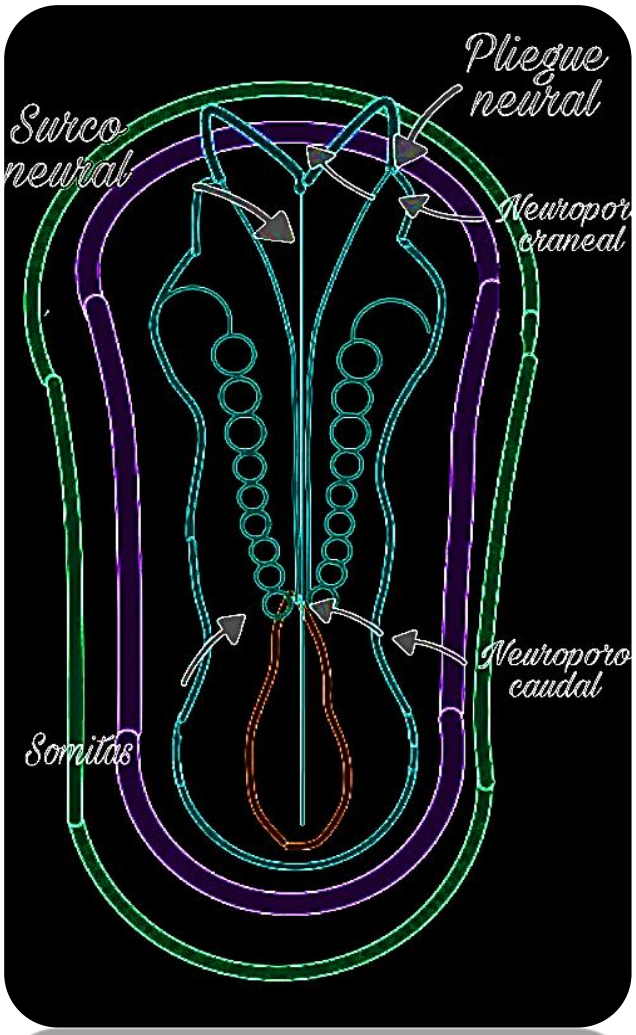


Figura 7. Placa neural y su plegamiento y formación del tubo neural.

Visión dorsal de un embrión. Neurulación: periodo de formación del tubo neural y la placa neural la cual se forma durante el día 22 y 23., aparece el surco neural formado por los pliegues neurales que surgen en la línea media de la placa neural.

La neurogénesis es el procedimiento por el cual se forman células nerviosas a partir de células madres o células progenitoras.

Las células madres son células que tienen la capacidad de autorrenovarse mediante divisiones celulares, sin embrago su principal característica es que son células que son capaces de diferenciarse en cualquier linaje celular utilizando el mismo mecanismo de autorrenovación: la división, ya sea simétrica (resultando dos células hijas idénticas, es decir dos células madre idénticas) o asimétrica (dando como resultado una célula madre y una célula progenitora especializada en algún tipo celular) según sea el caso.

La capacidad de tener divisiones asimétricas en las células madre se conoce como potencialidad, y depende del estadio de desarrollo del organismo y del tejido donde se encuentren estas células. Así, el cuerpo humano está compuesto por más de 400 tipos distintos de células, todos y cada uno originados de una sola célula madre. Por su nivel de potencialidad, las células madre se pueden clasificar en totipotentes, pluripotentes, multipotentes y unipotentes.

- Las células madre totipotentes tienen la capacidad de producir cualquier célula diferenciada en el organismo y en tejidos extraembrionarios.
- Las células pluripotentes son aquellas que pueden dar lugar a cualquier tipo celular que se encuentre en las tres capas germinales primarias del embrión, y son conocidas como células madre embrionarias
- Las células madre específicas de tejido, también conocidas como células madre de adulto o somáticas, son células multipotenciales que permanecen tras el desarrollo embrionario en tejidos diferenciados u órganos y pueden dar origen a todos o muchos de los tipos celulares de ese órgano o tejido. (Navarro-Quiroz, E., 2018)

En el sistema nervioso central, el linaje celular proviene de las células madre neuroepiteliales multipotenciales que se encuentran en el surco del tubo neural las cuales mediante la expresión genética de activación y desactivación de bases genéticas se

generan nuevas células neuronales. Esto sucede gracias a una serie de divisiones mitóticas simétricas y asimétricas un nuevo tipo celular surge: célula precursora radial, las cuales realizan la misma serie de divisiones simétricas con la finalidad de expandir la progenie de células madres y posteriormente con divisiones asimétricas puedan producir células especializadas (Fig. 8). Las células precursoras radiales pueden especializarse en dos linajes celulares, neuroblastos o en células progenitoras intermedias que al dividirse dará origen a dos neuroblastos. Sin embargo sucede un evento llamado “Neurona-Glía” donde las células progenitoras son inhibidas gracias a la regulación negativa de la neuregulina, expresión de factores de crecimiento o vías de señalización que contribuyen a la inhibición de la proliferación neuronal, lo que va a provocar la activación de la generación de células gliales radial, una vez realizado ese cambio se comenzaran a producir las células progenitoras de astrocitos y oligodentrocitos, los cuales se caracterizan por expresar proteína acida fibrilar glial. También generaran células ependimarias las cuales son células que van a recubrir el canal central (Carlson, BM., 2009).

Múltiples genes son los encargados de regular estos complejos procesos de determinación y diferenciación con subsecuente proliferación celular. Algunos de ellos son el Forhead Box G1 (FoxG1), LIM Homebox 2 (Lhx2), Paired Box 6 (Pax6) y Empty Spiracle Homologue 2 (Emx2), además de ciertos precursores intermedios de diferenciación como los factores de transcripción Tbr2, neurogenina 2 y Cutlike Homebox 1 y 2 (Cux 1 y 2). Es en este instante cuando desempeñan un rol vital los sistemas de circulación, oxigenación, interacciones metabólicas y respuestas inmunes, para garantizar un armónico trabajo que garantice la ausencia de fallas estructurales, complicaciones o malformaciones.(Moore, K., 2020).

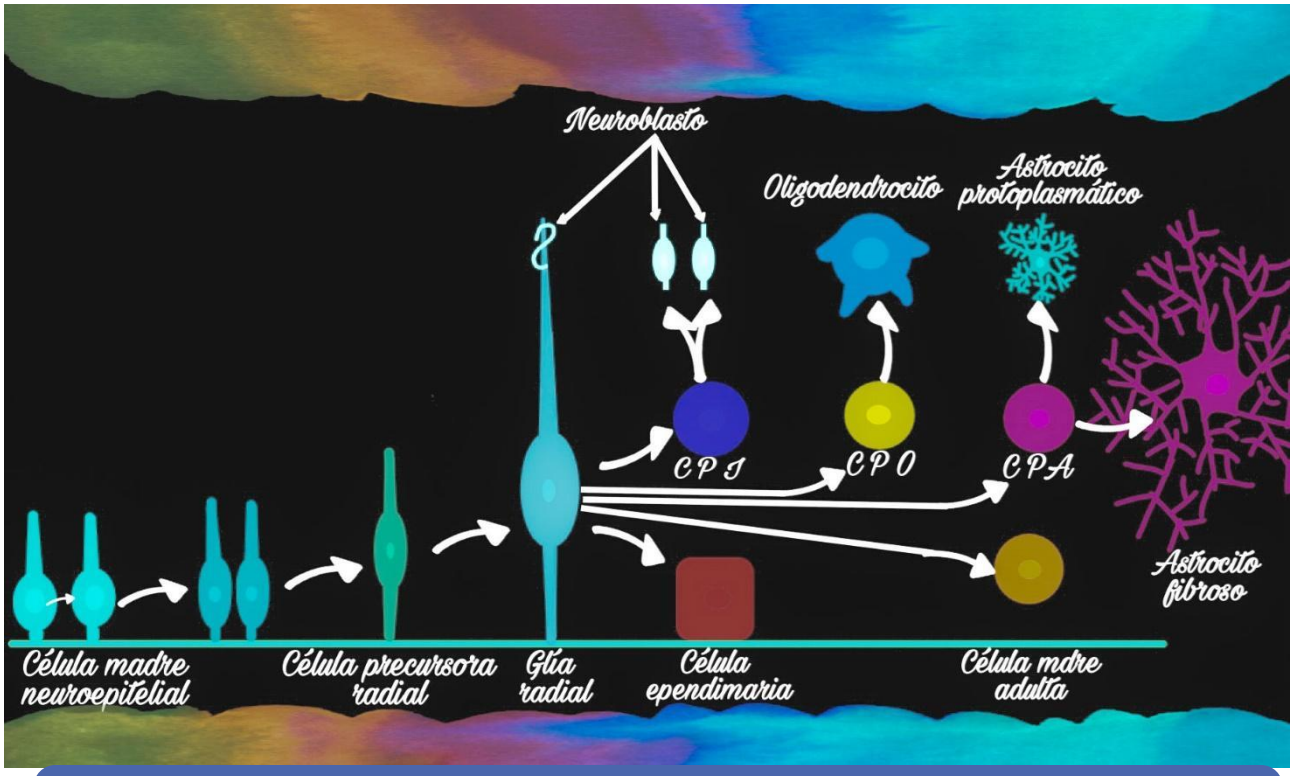


Figura 8. Líneas celulares germinativas en el desarrollo del sistema nervioso central

La neurogénesis formación de células nerviosas a partir de células madres o células progenitoras. Célula Progenitora de Astrocitos(CPA), Célula Progenitora Intermedia (CPI), Célula Progenitora de Oligodendrocitos (CPO).

La migración neuronal comienza a partir de la 8va semana de gestación, todas las estructuras neurológicas proceden del ectodermo embrionario y la notocorda subyacente es el principal emisor de señales mediante procesos genéticos, moleculares y celulares lo que permite que las células neurológicas migren a sitios para proliferar y formar órganos y tejidos. La migración neuronal comienza a partir de la formación de las tres vesículas primarias con la expresión de señales inductoras y factores de transcripción que modulan el proceso migratorio, las neuronas que se encuentran en la zona ventricular comienzan a migrar a la superficie hasta formar la corteza cerebral y es ahí donde logran diferenciarse.

La migración neuronal puede ser de dos tipos: la tangencial caracterizada por la migración paralela de las neuronas a la superficie cortical a lo largo de sus axones y otras neuronas,

mientras que la migración radial se realiza por medio de las fibras gliales en movimientos ortogonales en todo el parénquima cerebral. (Laird, D. W., & Lampe, P. D., 2018).

La etapa de diferenciación y maduración estas etapas comienzan desde la semana 16 hasta la adultez. La diferenciación es el proceso en el cual las células precursoras comienzan a producir linajes celulares especificados genéticamente y se comienzan a formar los circuitos neuronales.

5.5.1 Conexinas en el desarrollo embrionario

Las uniones gap conformada por hemicanales y conexinas han sido el blanco de múltiples investigaciones debido a su importancia en el área de las neurociencias ya que resultan imprescindibles para la transmisión de señales eléctricas y bioquímicas, sin embargo se ha demostrado que alteraciones fisiológicas producidas por su expresión inadecuada afectan las uniones célula - célula en el sistema nervioso, viéndose reflejadas en algunas patologías de importancia médica tanto en el neurodesarrollo como en el sistema nervioso adulto, es por ello que consideramos valioso discutir el papel de las conexinas en los procesos neurológicos principalmente en el sistema nervioso central.

Se han encontrado más de diez tipos de conexinas en el cerebro de mamíferos, sin embargo, las células neuronales expresan más de un gen que codifica para un tipo de conexina. Las proteínas Cx se expresan diferencialmente entre los tipos de células. En los tejidos cerebrales adultos, las células madre neurales expresan principalmente Cx43 y Cx26; las neuronas expresan Cx36, Cx26 y Cx45; los astrocitos expresan Cx43, Cx30, Cx45, Cx40 y Cx32; y los oligodendrocitos expresan Cx45, Cx32 y Cx47. La expresión de las Conexinas y la incidencia de acoplamiento de uniones gap se reducen gradualmente durante el desarrollo posnatal, pero todavía hay una distribución de uniones gap en el SNC de mamíferos adultos.

Los investigadores Nakase, T., y Naus, C. C. (2004) elaboraron una tabla donde relacionan las conexinas con las células del sistema nervioso central encontrando once subtipos de estas proteínas, variando su expresión según la etapa de desarrollo. Por ejemplo, en el corazón fetal, la Cx40 se expresa ampliamente sólo para estar restringido a las aurículas y al sistema de conducción en el adulto, mientras que la expresión de Cx43 sirve para orquestar la contracción sincronizada del músculo ventricular. Por el contrario, Cx43 se expresa abundantemente en los mioblastos embrionarios solo para ser eliminado en el músculo esquelético adulto.[46]

Durante el periodo embrionario las conexinas se expresan desde la fecundación del cigoto principalmente la Cx30, Cx31, Cx36, Cx43, Cx45 y Cx57 expresándose desde la etapa de dos a cuatro células, y Cx30.3, Cx31.1 y Cx40 desde la etapa de ocho células. Los embriones humanos preimplantados expresan predominantemente Cx43 y los niveles de proteína aumentan durante el desarrollo hasta la etapa de blastocisto, donde se encontró que Cx31 y Cx43 se expresaban durante todo el desarrollo; Cx26 y Cx45 mostraron una expresión inconsistente, mientras que Cx32 y Cx40 no se expresaron en ninguna etapa. [46]

Durante la embriogénesis las uniones gap no solo modulan la comunicación intercelular, también se encargan de la expresión o inactivación de vías de señalización, segundos mensajeros y la concentración de iones principalmente la de Ca^{2+}. Esto contribuye a la diferenciación neuronal del sistema nervioso central. Un estudio realizado por Rozental, R. y Col. en 1998 investiga la existencia de conexinas en el SNC durante el periodo de diferenciación celular in vitro en una línea celular de hipocampo inmortalizada condicionalmente (MK31), encontrando evidencia de la expresión de Cx43 durante la diferenciación, la aparición de Cx40 en una etapa de desarrollo intermedia y la expresión de Cx33 después del tratamiento con agentes neurogénicos. La expresión de distintos tipos de conexina durante la diferenciación neuronal puede desempeñar un papel fundamental en el neurodesarrollo.

En el SNC de los mamíferos, la expresión de la proteína de la unión gap neuronal, conexina 36, aumenta durante las dos primeras semanas de desarrollo posnatal y luego disminuye durante las dos semanas siguientes. Recientemente se demostró que el aumento prolongado, durante el desarrollo, implica la regulación mecanismos transcripcionales mientras que en el aumento agudo por lesión neuronal la regulación se realiza mediante el control postranscripcional de la expresión de Cx36, sin embargo, en ambos casos la expresión de la proteína Cx36 están regulados por la actividad de los receptores metabotrópicos de glutamato del grupo II (mGluR). (Song, JH., et al., 2012)

Por otro lado, la proteína de unión gap, conexina 43, solo está presente y se expresa abundantemente en los astrocitos, pero está ausente en las neuronas de los tejidos cerebrales maduros. La Cx43 se expresa en las neuronas migratorias en la etapa embrionaria del cerebro. Qi, G. y Col (2016) realizo una investigación en ratones knockout condicional de Cx43 (cKO) donde observaron que la Cx 43 altera la migración neuronal y la formación de la estructura laminar en la corteza cerebral durante el desarrollo embrionario del cerebro. Las pruebas de comportamiento animal demostraron que, en la etapa adulta, los ratones neuronales Cx43 cKO exhiben funciones normales de aprendizaje y memoria, pero un comportamiento similar al aumento de ansiedad. Sus hallazgos revelaron que la expresión embrionaria de Cx43 en neuronas regula los procesos de migración neuronal y posicionamiento en el cerebro en desarrollo al controlar las interacciones astrocito-neurona durante el desarrollo embrionario del cerebro, y Cdk5 fosforila directamente Cx43, que regula la localización y degradación de la membrana de Cx43 en neuronas.[48]

Arita, K., et al. han revelado la presencia de Cx43 y Cx26 en la epidermis humana, y así como en la formación de uniones gap durante el desarrollo epidérmico fetal humano, por inmunofluorescencia, observaron la expresión de Cx26 entre los 49 y los 96 días de edad gestacional estimada (EGA), pero no estuvo presente a partir de los 108 días de EGA en adelante. Por el contrario, la expresión de Cx43 se observó a partir de los 88 días de EGA. Utilizando microscopía electrónica, se observó la estructura típica de las uniones gap a partir de una EGA de 120 días. El número de uniones gap aumentó con el tiempo y fueron más comunes en las capas superiores (Arita, K., 2002).

5.6 Mielina

La mielina en el SNC es formada por los oligodendrocitos, la membrana plasmática de estas células forman capas que rodea a los axones neuronales, con la principal función de aumentar la velocidad de conducción de los impulsos eléctricos. Esta principalmente compuesta de lípidos que aproximadamente llegan a ser de alrededor de un 70% del peso seco en el SNC. Los principales componentes de la mielina son el colesterol, glicerofosfolípidos y esfingolípidos. El glucoesfingolípido cerebrósido, representa el 20% del peso seco de la mielina en el SNC y el 15% en el SNP.

En cuanto a la mielinización, esta es necesaria para garantizar tanto el aporte energético como el metabolismo neuronal, y se realiza de manera conjunta con la proliferación y diferenciación de los oligodendrocitos. La mielinización de la sustancia blanca comienza uno o dos meses antes del nacimiento y se extiende hasta los nueve meses postnatales.40 El cerebro humano maduro atraviesa por una degeneración fisiológica a partir de los 50 años, especialmente de materia gris.

La formación de las vainas de mielina (Fig. 9) se debe a la interacción célula-célula, es decir, la interacción de un oligodendrocito y un axón, por medio de señales electroquímicas el axón induce al oligodendrocito a generar una prolongación citoplasmática aplanada que se enrolla al rededor del axón, sin embargo esta prolongación no es uniforme a lo largo del axón, más bien varios oligodendrocitos se enrollan en un mismo axón dejando espacios sin mielinizar llamados nodos de Ranvier, los cuales permiten el adecuado intercambio iónico que generando y propagando potenciales de acción que producirán la conducción saltatoria.

Para comprender mejor la fisiopatología del sistema nervioso central consideramos importante mencionar la clasificación propuesta recientemente de los trastornos hereditarios de la sustancia blanca, se han distinguido las siguientes categorías: trastornos de la mielina (hipomielinización, dismielinización, desmielinización y

vacuolización de la mielina), astrocitopatías, leuco-axonopatías, microgliopatías y leuco-vasculopatías. Los trastornos de la mielina son causados por defectos en la deposición, estructura e integridad de la mielina. Los defectos de la mielina muestran una hipomielinización con un depósito de mielina predominantemente deficiente o una dismielinización caracterizada por una estructura y función incorrectas de la mielina. (Bribián, A. & De Castro, F., 2007)

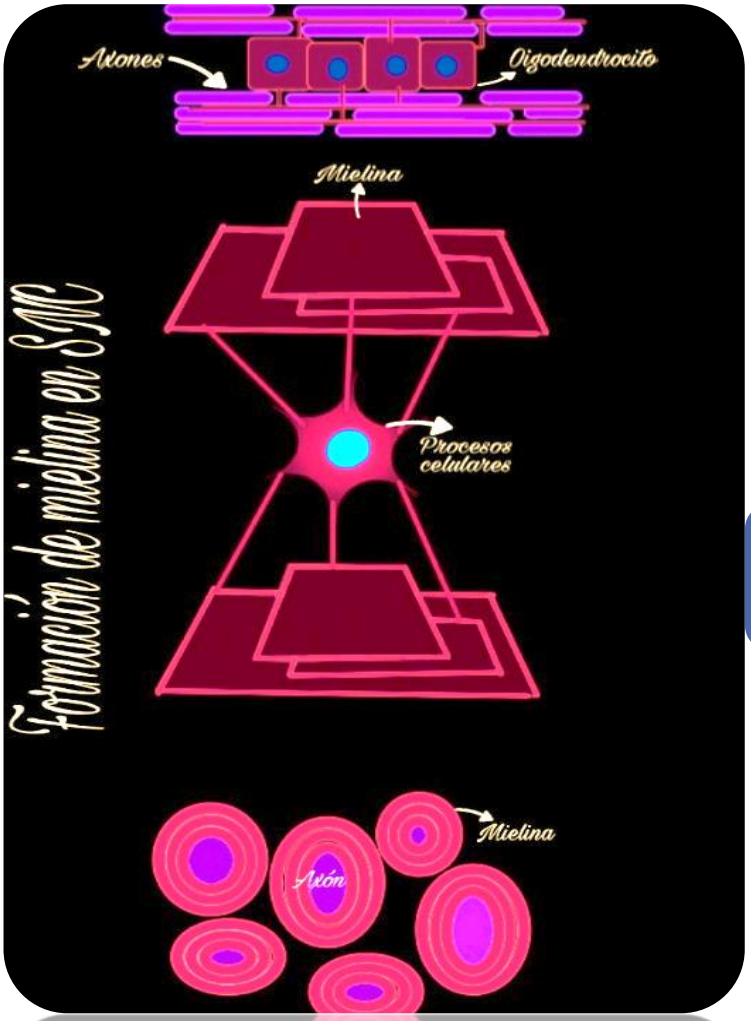


Figura 9. Oligodendrocitos formadores de mielina
El oligodendrocito cubre con la vaina de mielina varios axones simultáneamente, las vainas de mielina se extienden del núcleo externo.

5.7 Células gliales

Las neuronas se conectan entre sí a través de los axones y las dendritas permitiendo la sincronización neuronal, sin embargo, resulta importante que las neuronas se comuniquen con el medio que las rodea a través de las células gliales las cuales son células de soporte estructural y metabólico del sistema nervioso. Estas células se clasifican en dos grupos celulares: la macroglía y la microglía. Dentro del primer grupo podemos encontrar a los astrocitos y a los oligodendrocitos en el sistema nervioso central, ambos linajes celulares se originan a partir de células precursoras del ectodermo embrionario, y en el sistema nervioso periférico encontramos a las células de Schwann, estas a su vez se van a dividir en tres subgrupos: las formadoras de mielina, las que no forman mielina y las presinápticas, estos tres linajes derivan de células de la cresta neural embrionaria. En el segundo grupo, la célula microgliales se encuentran exclusivamente en SNC, son células inmunitarias que patrullan el parénquima cerebral en busca de agente patológicos, tiene origen mesodérmico. La comunicación intercelular en el sistema nervioso central ocurre entre neuronas, astrocitos, oligodendrocitos, células ependimarias y microglía, esta comunicación se realiza por medio de uniones gap a través de proteínas conexinas.

5.7.1. Macroglía

5.7.1.1 Oligodendrocitos

Los oligodendrocitos son células que interactúan directamente con el axón y los somas de las neuronas del SNC, su principal función es formar vainas de mielina, esenciales para el aislamiento de los axones y la correcta conducción saltatoria de los impulsos eléctricos. (Kammoun Jellouli, N., et al. 2013). La expresión de múltiples conexinas en los oligodendrocitos sugieren ser la etiología de enfermedades en el sistema nervioso central causadas por mutaciones genéticas en las conexinas, las cuales se encuentran relacionadas con trastornos de la mielina que sin duda son enfermedades poco frecuentes

pero que resulta importante conocerlas, como es el caso de la enfermedad similar a Pelizaeus Merzbacher.

5.7.1.2.Astrocitos

Los astrocitos son las células de la macroglía que se expresan en mayor proporción en el sistema nervioso central, presentan una morfología estrellada, extienden su soma para rodear a las neuronas y conectarlas con los microvasos sanguíneos, fungen un papel importante en la homeostasis del sistema nervioso participan en la diferenciación del SNC, la excitabilidad neuronal, la producción de factores neurotróficos, el control de los metabolitos sinápticos extracelulares, la señalización sincitial, la plasticidad sináptica, la formación de tejido cicatricial después de la pérdida neuronal, la activación inmunitaria, la inflamación y la integridad de la barrera hematoencefálica. Estudios demuestran que la conexina 43 se expresa en los astrocitos y la inhibición aumenta la propagación de depresión y actividad locomotora en ratones. También disminuye la proliferación astroglial después de la lesión y cuando esta intercomunicada con las neuronas aumenta la expresión de esta proteína. (Yi, C., et al., 2016).

5.7.2 Microglía

Las microglías son macrófagos tisulares especializados del cerebro con funciones dedicadas al desarrollo neural, la homeostasis y la recuperación de la patología. Se originan durante la embriogénesis a partir de progenitores del saco vitelino y proceden de células precursoras de monocitos de la medula espinal. En estados normales la microglía permanece en reposo, expresa principalmente Cx32 y Cx36 y es activada en casos de lesión o enfermedad se expresan las conexinas 29, 32, 36 y mayormente la Cx43 la cual es activada por factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) más interferón gamma (IFN-γ), promoviendo la activación de la microglía. La activación del receptor PX2 aumenta de la concentración de calcio produciendo la liberación de IL-1β y aumenta la comunicación entre uniones gap. El estado funcional de los HC, los panexinas y las GJC está finamente regulado durante la inflamación en las células microgliales. Diferentes Patrones

Moleculares asociados a patógenos (PAMP) p. Ej., Productos finales de glicación (AGE), Lipopolisacáridos (LPS) y Patrones moleculares asociados a daño (DAMP) (p. Ej., ATP) son reconocidos por receptores de reconocimiento de patrones microgliales (PRR), lo que da como resultado la activación de la vía NF-κβ y el complejo inflamasoma. Estas vías inducen la liberación autocrina / paracrina de citocinas proinflamatorias (p. Ej., IL-1β y TNF-α), que activan la apertura de canales basados en conexina y panexina y la liberación de ATP a través de HC Cx43 y canales Panx1 (Gajardo-Gómez R., 2019).

5.8 Enfermedades causadas por alteraciones en conexinas

5.8.1 Enfermedad de Pelizaeus Merzbacher

La enfermedad de Pelizaeus Merzbacher y la enfermedad similar a Pelizaeus Merzbacher (PMLD) son leucodistrofias hipomielinizantes del sistema nervioso central (SNC) con un fenotipo muy similar. La PMD es una afección recesiva ligada al cromosoma X causada por mutaciones, duplicación por deleción o triplicación del gen de la proteína proteolípida 1 (PLP1). Sin embargo, la PMLD1 es una leucodistrofia hipomielinizante autosómica recesiva causada por mutaciones del gen GJC2 (proteína de unión gap gen gamma-2) que codifica para la proteína conexina 47. (Eugenin, E. A., et al., 2012) Altamente expresado en oligodendrocitos, contribuyendo a la formación y mantenimiento de mielina. La mutación del gen GJC2 además de inhibir el funcionamiento de la Cx47, también se ha observado que causa la incapacidad de la Cx47 para unirse con la Cx43 para formar canales homotípicos funcionales, así como la formación de canales heterotípicos de la Cx47 oligodentrocitacia con la Cx43 astrocitaria, este último canal es reconocido por formar parte de la vía de comunicación intercelular glial especializada en la difusión de iones de potasio, el mal funcionamiento de este canal provoca la acumulación de agua y de potasio en la región periaxonal produciendo bloqueo de la conducción, edema y destrucción de la mielina. (Pace, NP., 2019)

El gen GJC2 está compuesto por un solo exón codificante. Su producto génico, también conocido como conexina 47 (Cx47) consta de 439 aminoácidos y pertenece a una familia de proteínas de membrana altamente conservada de conexinas. Hasta la fecha, se han identificado más de 50 mutaciones diferentes en el gen GJC2, que en su mayoría conducen a una pérdida de función de la proteína Cx47 y causan PMLD1 en pacientes pediátricos. (Bribián, A. & De Castro, F., 2007)Se caracteriza por la presencia de nistagmo, hipotonía, temblores, espasticidad, ataxia, retraso en el desarrollo y disartria. Clínicamente, se han caracterizado dos fenotipos, el más grave denominado Pelizaeus Merzbacher de tipo II, es de comienzo connatal y de rápida evolución fatal porque se asocia trastornos respiratorios y de alimentación. El Pelizaeus Merzbacher tipo I es de comienzo infantil, con hipotonía, movimientos oculares pendulares, sacudidas de la cabeza, coreoatetosis y signos piramidales.(Yi, C., et al., 2016). Otros autores también la clasifican en tres subgrupos principales: connatal (un PMD no tigroide, que comienza en el período neonatal), clásico (un PMD tigroide que se desarrolla en una etapa temprana de la vida) y transicional (una forma indirecta de PMD que vincula las características clínicas de los tipos connatal y clásico). (Bribián, A. & De Castro, F., 2007) El aspecto tigroide se refiere a la observación patológica observable con islotes mielinizados alrededor de los ejes vasculares de la sustancia blanca. El diagnostico por medio de resonancias magnéticas muestra la insuficiencia de sustancia blanca, el diagnóstico clínico debe estar aunado a un análisis genético en busca de alguna mutación en del gen de la proteína proteolípida 1 (PLP1), en caso de no encontrar indicios en este gen, se podría deducir y confirmar la mutación genética en el gen GJC2 que codifica para la proteína conexina 47. La esperanza de vida de los pacientes que sufren Pelizaeus Merzbacher depende de los síntomas y las complicaciones que presenten. Y aunque no se encuentra alguna terapia dirigida a la enfermedad, la sintomatología debe tratarse con especialistas en el área de neurología, medicina física y rehabilitación, gastroenterología y neumología para tratar todas las posibles afecciones que los pacientes con PMD y PMLD1 lleguen a presentar.

5.8.2 Displasia oculodentodigital

La displasia oculodentodigital (ODDD) es una enfermedad autosómica dominante ligada al gen GJA1 (proteína de unión gap alfa 1) que codifica a la proteína Cx43. Involucrada en 70 mutaciones. Los pacientes que tienen este trastorno sufren anomalías oftalmológicas típicas incluyen microftalmia, microcórnea y diversas anomalías que afectan al iris, que pueden provocar glaucoma, cataratas y neuropatía óptica. Las características dentales afectan tanto a la dentición primaria como a la secundaria e incluyen hipoplasia del esmalte, microdoncia, hipodoncia y pérdida prematura de dientes. Las anomalías esqueléticas típicas incluyen sindactilia bilateral del 2º al 4º dedo del pie y / o del 4º y 5º dedos, camptodactilia y clinodactilia. Los individuos afectados también exhiben características dismórficas craneofaciales, que incluyen una nariz delgada, narinas antevertidas estrechas, fisuras palpebrales cortas y microcefalia. Se han informado diversas manifestaciones neurológicas, que incluyen paraparesia espástica de las extremidades inferiores, marcha atáxica, convulsiones, vejiga neurógena y, con poca frecuencia, retraso psicomotor. ODDD exhibe pleiotropía fenotípica extensa y también se han reportado anomalías que involucran el corazón, los linfáticos y la piel. (Liang, Z., et al., 2020). Las mutaciones que suceden en el gen GJA1 son mutaciones en sentido erróneo , sin embargo Nikolai P. Pace y Col. ha identificado dos nuevas mutaciones sin sentido que afecta los dos primeros tercios de la secuenciación de la proteína además también afectan el primero y segundo dominio transmembrana de la proteína e incluso la ODDD no se encontraba en el examen genético de los padres, lo que hace pensar que la mutación es una expresión nuevas y de novo, aunque se están considerando los agentes causales. Debido a que es un trastorno poco común el rango de investigación ha sido corto y en cada caso se han encontrado variaciones genéticas importantes por lo que es aún más complicado unificar variables para llegar al origen de las variaciones genéticas.

5.8.3 Enfermedad de Alzheimer

La Enfermedad de Alzheimer (EA) fue descrita por primera vez por el doctor Lois Alzheimer, es considerado como un trastorno neurodegenerativo, es la forma más común de demencia en que afecta a la población de edad avanzada, su histopatología afecta a la corteza límbica y de asociación. La EA está caracterizada por: *a)* atrofia cerebral; *b)* astrogliosis (proliferación y activación de la microglía y de los astrocitos); *c)* depósitos intra y extracelulares de la proteína beta amiloide de 40-42 aminoácidos (Fig.10); *d)* formación de placas seniles (SP), y *e)* desarrollo de la angiopatía amiloidea. Por otra parte, también se describen cambios en el citoesqueleto neuronal con la presencia de la proteína tau que conduce a la formación de ovillos neurofibrilares y formación de placas neuríticas.(Rodrigo, J.,200). Se ha observado la presencia de Conexinas astrogliales: Cx43 y Cx30 en las placas b-mieloides. Sin embargo, se observó que las conexinas astrogliales están sobrexpresadas en las placas reactivas de los astrocitos que se encuentran en contacto con las placas amiloides. La apertura de los hemicanales aumenta la concentración de calcio intracelular en los astrocitos lo que provoca la liberación de neurotransmisores, ATP y glutamato produciendo un efecto neurotóxico.

Yi, C. y sus colaboradores en 2016, demuestra que un exceso de glutamato extracelular podría actuar sobre los receptores NMDA neuronales, en particular los receptores extrasinápticos, y contribuir a desregular la homeostasis del Ca^{2+} neuronal y promover la pérdida sináptica. segundo lugar, un exceso de ATP también puede estimular los receptores ionotrópicos (P2X) y metabotrópicos (P2Y) que median múltiples funciones en las células cerebrales. Al activar los receptores P2X7 en astrocitos y microglía, el ATP podría favorecer la liberación rápida de IL-1 β, que es potencialmente neurotóxica. Sin embargo, no se informó ninguna pérdida neuronal, ya que cuenta con mecanismos neuroprotectores compensatorios para prevenir la muerte neuronal. (Sofroniew MV., 2014)

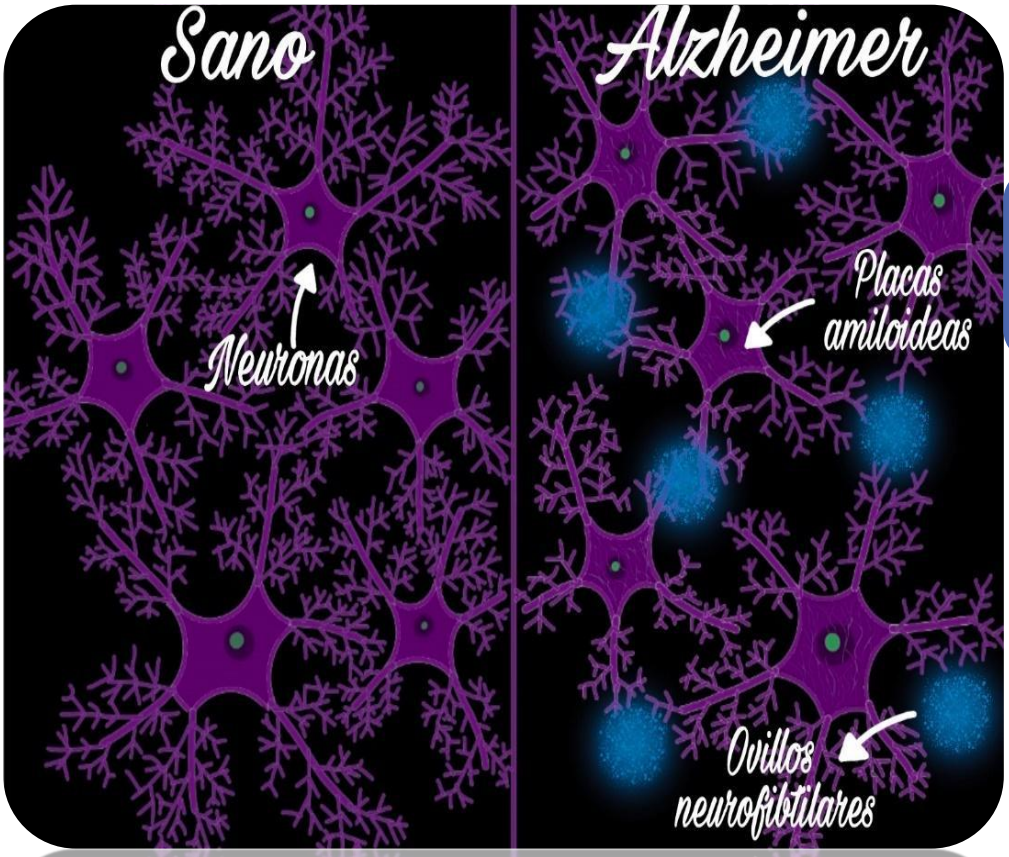


Figura 10. Neuronas sanas vs neuronas con enfermedad de Alzheimer con placas amiloides en el cuerpo neuronal y Ovillos neurofibrilares citoplasmáticos

La conexina 43 astrocitaria también está involucrada en el mecanismo de fisiopatogencidad en el trastorno isquémico, tiene una etiología multifactorial, sin embargo, a causa más frecuente es el evento cerebrovascular causado por oclusión del riego sanguíneo o estenosis. El papel de la conexina 43 astrocitaria en la isquemia aún es muy controvertida, mientras que pueden ayudar a mantener la homeostasis del microambiente del SNC para proteger las neuronas al mantener el equilibrio de iones y pH, transportar sustratos metabólicos y eliminar los desechos neuronales. Por el contrario, los mediadores inflamatorios y los aminoácidos excitadores producidos y liberados por los astrocitos podrían promover la muerte de las neuronas. (Sofroniew MV., 2014)

5.8.4 Astrogliosis

Después de una lesión o enfermedad en el SNC los astrocitos sufren un proceso conocido como astrogliosis, caracterizado por un cambio en su expresión génica, estructura y función, lo que provoca una activación y proliferación. A continuación, se menciona una definición más detallada propuesta por el autor Sofroniew MV (2014). (1) la astrogliosis es un espectro de posibles cambios moleculares, celulares y funcionales en astrocitos que ocurren en respuesta a todas las formas y severidades de lesiones y enfermedades del SNC; (2) los cambios que sufren los astrocitos reactivos varían con la gravedad de la agresión a lo largo de un continuo gradual; (3) los cambios asociados con la astrogliosis están regulados de una manera específica del contexto por muchas moléculas de señalización inter e intracelulares diferentes; y (4) los cambios sufridos durante la astrogliosis tienen el potencial de alterar las actividades de los astrocitos tanto a través de la ganancia como de la pérdida de funciones. Se pueden distinguir 3 grados de severidad.(Sánchez, O. F. et al., 2020):

1) Astrogliosis reactiva leve o moderada. En este nivel aumenta la expresión de GFAP (proteína ácida fibrilar glial) por los astrocitos y hay hipertrofia tanto del cuerpo celular como de los procesos astrocitarios. Esto se produce dentro del propio dominio del astrocito y no hay solapamiento con astrocitos vecinos, y hay poca o ninguna proliferación. Este grado de astrogliosis reactiva es reversible y se da en traumatismos leves y no penetrantes, en caso de activación difusa de inmunidad innata y en áreas distantes del lugar de una lesión focal.

   2) Astrogliosis reactiva severa difusa. En caso de lesiones focales graves, infecciones o áreas con neurodegeneración crónica, la sobreexpresión de GFAP y la hipertrofia de cuerpo celular y procesos son más pronunciadas. Además, hay solapamiento de astrocitos y aumento de su proliferación. Estos cambios pueden conducir a una reorganización tisular duradera.

   3) Astrogliosis reactiva severa con formación de cicatriz glial compacta. En este caso, además de los cambios anteriores, se forma la cicatriz glial, que inhibe la

regeneración axonal y la migración celular, pero también protege frente a la llegada de células inflamatorias y agentes infecciosos. Los desencadenantes son lesiones graves del SNC, penetrantes y/o contusas, infecciones invasivas y abscesos, neurodegeneración crónica e incluso infecciones sistémicas. La cicatriz glial supone reorganización tisular y cambios estructurales persistentes, que permanecen incluso cuando ha desaparecido el desencadenante. (Artesi, M., et al., 2015).

5.8.5 Isquemia

Las uniones gap en los astrocitos durante la isquemia ha sido un marcador ya que su expresión y distribución se ha visto relacionado con el pronóstico de la enfermedad debido a que influye en las funciones astrociticas y neuronales. Se ha demostrado que la fosforilación de la Cx43 podría surgir después de un evento cerebrovascular, este proceso es desencadenado por la hipoxia generada por el evento isquémico, lo que provoca en el astrocito un desacoplamiento. Las uniones gap también regulan la astrogliosis y la eliminación de moléculas citotóxicas. Además, la red astrocítica formada por uniones gap también podría proporcionar sustratos de energía (glucosa y lactato) a las neuronas. Las Cx43 astrociticas pueden proteger a los astrocitos al permitir la salida de moléculas tóxicas [incluido el Ca^{2+}, ATP, Glu, NO y especies radicales de oxígeno (ROS)] del astrocito lesionado y la entrada de metabolitos neuroprotectores (incluidos Na^{+}, K^{+}, glutamina, antioxidantes, glucosa) en los astrocitos en condiciones isquémicas. Sin embargo, si se transfieren demasiadas moléculas tóxicas a los astrocitos sanos, más allá de su carga, la lesión astrociticas podría extenderse a los astrocitos adyacentes y reducir el apoyo mutuo de los astrocitos, agravando su lesión. Los metabolitos liberados por los hemicanales Cx43 también pueden actuar sobre los astrocitos vecinos. (Guillamón-Vivancos, U., et al., 2015). La regulación de los astrocitos en los procesos isquémicos ayudaría a disminuir el daño cerebral causado por la isquemia en los eventos cerebrovasculares.

5.8.6 Gliomas

Los gliomas son neoplasias malignas cerebrales más frecuentes del SNC, se originan por una proliferación anormal de las células gliales. La OMS en 2016 clasifica a los gliomas a partir de su expresión génica en: Focales (BRAF 1) y Difusos IDH (mutado/nativo). Histológicamente los gliomas se pueden clasificar en cuatro tipos: astrocitoma difuso, oligoastrocitoma, oligodendroglioma y glioblastoma. Los glioblastomas (GBM) se consideran los más agresivos, los más difíciles de tratar y los de peor pronóstico. Los GBM se caracterizan por un alto grado de heterogeneidad celular y células madre tumorigénicas autorrenovables que contribuyen a la propagación del tumor, resistencia terapéutica y bajos niveles de Cxs. La adquisición de un fenotipo maligno de GBM puede verse favorecida por la reducción de la expresión de Cx. Factores de crecimiento, oncogenes y sustancias químicas que promueven tumores pueden fosforilar Cx, que se ha asociado con la degradación de la autofagia, inhibiendo las GJIC. (Prinz, M., et al., 2014) La expresión de Cx43 y Cx30 se ha demostrado que es nula en el proceso de gliomagénesis, sin embargo también se encontró que el aumento de la expresión de estas conexinas tiene un efecto supresor del crecimiento de los gliomas. El tratamiento con radioterapia es vital para detener la progresión de la enfermedad sin embargo en algunos pacientes se ha observado resistencia a la radioterapia por lo que se ha propuesto el tratamiento conjunto con Cx30, demostrando con esto efectos radioprotectores y supresores del crecimiento en los glioblastomas humanos, y su expresión se correlaciona de manera significativa, pero adversa, con la supervivencia del paciente después de la irradiación. (Gajardo-Gómez R., et al., 2016).

La comprensión detallada del funcionamiento fisiológico de las conexinas nos ayudara a comprender el mecanismo de fisiopatogencidad para poder encontrar nuevas alternativas en los tratamientos utilizados comúnmente en las patologías donde los trastornos genéticos de las conexinas se encuentran involucrados.

6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Las uniones gap o uniones en hendidura son canales formados por dos hemicanales, cada uno formado por seis subunidades de proteína conexina en la membrana plasmática, esta unión permite la comunicación celular con células adyacentes, se encuentran expresadas en la mayoría de las células. En el sistema nervioso central resultan imprescindibles para la transmisión de señales eléctricas y bioquímicas que contribuyen a mantener la homeostasis cerebral. Se han encontrado más de diez tipos de conexinas en el cerebro de los mamíferos desde la embriogénesis hasta la adultez, por lo que se encuentran involucradas en diversas patologías como Enfermedad de Pelizaeus Merzbacher (PMLD), Displasia Oculodentodigital, Enfermedad de Alzheimer, Trastornos isquémicos y cáncer.

En las células gliales las conexinas permiten se encuentran ampliamente distribuida y realiza funciones importantes, en el caso de los oligodendrocitos su principal función es formar vainas de mielina, esenciales para el aislamiento de los axones y la correcta conducción saltatoria de los impulsos eléctricos, sin embargo la mutación en el gen GJC2 que expresa para la Cx 47 y la incapacidad de unirse con la Cx43, esta alteración provoca la enfermedad similar a Pelizaeus Merzbacher (PMLD) es una de las leucodistrofias hipomielinizantes del sistema nervioso central, es una afección recesiva ligada al cromosoma X, caracterizada por la presencia de nistagmo, hipotonía, temblores, espasticidad, ataxia, retraso en el desarrollo y disartria. En los astrocitos las conexinas que se vieron implicadas en enfermedades, como la displasia oculodentodigital, la cual es una enfermedad autosómica dominante ligada al gen GJA1 (proteína de unión gap alfa 1) que codifica a la proteína Cx43, ya que está involucrada en 70 mutaciones. Los pacientes que tienen este trastorno sufren anomalías oftalmológicas típicas incluyen microftalmia, microcórnea y diversas anomalías que afectan al iris, que pueden provocar glaucoma, cataratas y neuropatía óptica. En la enfermedad de Alzheimer también se encontraron alteraciones en las conexinas astrocitarias debido a que aumenta la concentración de calcio intracelular en los astrocitos lo que provoca la liberación de neurotransmisores, ATP

y glutamato produciendo un efecto neurotóxico. Mientras que en el trastorno isquémico el papel de las conexinas astrocitarias y microgliales tienen un papel controversial al debido a que ejercen una actividad inmunitaria frente a lesiones y patógenos, sin embargo esta actividad desencadena procesos de astrogliosis, caracterizado por un cambio en su expresión génica, estructura y función, lo que provoca una activación y proliferación de los astrocitos, pero una activación inmunitaria excesiva genera efectos neurotóxicos en las neuronas, aunque en la literatura también se han descritos efectos positivos a través de las Cx43 astrociticas pueden proteger a los astrocitos al permitir la salida de moléculas tóxicas [incluido el Ca 2+, ATP, Glu, NO y especies radicales de oxígeno (ROS)] del astrocito lesionado y la entrada de metabolitos neuroprotectores (incluidos Na + , K + , glutamina, antioxidantes, glucosa) en los astrocitos en condiciones isquémicas.

Las conexinas también están implicadas en cáncer, en factores de crecimiento, en oncogenes y en sustancias químicas que promueven tumores pueden fosforilar Cxs, alterando su función y distribución fisiológica, en los gliomas se observa una alteración en la expresión de las Cx, la expresión nula de las Cx 30 y Cx43 se asocia con efectos supresores tumorales. La fisiopatología del cáncer es muy extensa ya que implica diversas vías y procesos que intervienen en la progresión de la enfermedad.

Aunque hoy en día hay muchos debates acerca del papel que desarrollan las conexinas en el funcionamiento normal como en la enfermedad de las células del sistema nervioso central, la comprensión de su actividad así como los causas que provocan la alteración en estas proteínas es vital para poder proponer alternativas terapéuticas más específicas que se puedan ofrecer a los pacientes. Actualmente las mutaciones en diez genes de conexina humana diferentes se han relacionado con veintiocho enfermedades genéticas distintas.

Las perspectivas de este trabajo es continuar con la investigación acerca de las conexinas implicadas en enfermedades del sistema nervioso central especialmente en los gliomas o tumores cerebrales, debido a que el papel de la conexina Cx30 en los tumores cerebrales resulta ser de gran interés debido a que resulta tener un efecto supresor de crecimiento en los gliomas e incluso se ha propuesto como tratamiento en conjunto con la radioterapia al disminuir la resistencia a la misma. La investigación enfocada en esta conexina, nos permitiría conocer los mecanismos por los cuales esta conexina logra tener estos efectos al intervenir en los diferentes procesos que evitan el crecimiento tumoral. El objetivo es trabajar no solo con recursos teóricos sino realizar la investigación de manera experimental en cultivos celulares y posteriormente en casos clínicos, una vez que la contingencia sanitaria lo permita y podamos regresar a la nueva normalidad.

7. ANEXOS

Material didáctico de apoyo a la enseñanza - “Conexinas Implicadas en enfermedades del Sistema Nervioso Central ”.pdf

8. BIBLIOGRÁFIA

1. Aasen, T., Johnstone, S., Vidal-Brime, L., Lynn, K. S., & Koval, M. (2018). Connexins: Synthesis, Post-Translational Modifications, and Trafficking in Health and Disease. International journal of molecular sciences, 19(5), 1296. https://doi.org/10.3390/ijms19051296
2. Alfredo de Micheli. (mayo 2011). Los primeros estudios de electrofisiología 339. Arch Cardiol Mex, 81, 337-342. Diciembre 2010, De Elsevier Base de datos.
3. Arita, K., Akiyama, M., Tsuji, Y., McMillan, JR, Eady, RAJ y Shimizu, H. (2002). Cambios en la distribución de la unión gap y el patrón de expresión de la conexina durante el desarrollo de la piel del feto humano. Revista de histoquímica y citoquímica , 50 (11), 1493-1500. https://doi.org/10.1177/002215540205001109
4. Artesi, M., Kroonen, J., Bredel, M., Nguyen-Khac, M., Deprez, M., Schoysman, L., Poulet, C., Chakravarti, A., Kim, H., Scholtens, D ., Seute, T., Rogister, B., Bours, V. y Robe, PA (2015). La expresión de Connexin 30 inhibe el crecimiento de los gliomas malignos humanos pero los protege contra la radioterapia. Neurooncología , 17 (3), 392–406. https://doi.org/10.1093/neuonc/nou215
5. Bell, CL, Shakespeare, TI, Smith, AR y Murray, SA (2018). Visualización del procesamiento de vesículas de la unión del espacio anular: la interacción entre las uniones del espacio anular y las mitocondrias. Revista internacional de ciencias moleculares , 20 (1), 44. https://doi.org/10.3390/ijms20010044
6. Bergmann, O., Spalding, K. L., & Frisén, J. (2015). Adult Neurogenesis in Humans. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 7(7), a018994. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018994
7. Bribián, Ana & De Castro, Fernando. (2007). Oligodendrocitos: origen embrionario, migración e implicaciones terapéuticas. Revista de Neurología. 45. 535. 10.33588/rn.4509.2007117.
8. Brücher, B. L., & Jamall, I. S. (2014). Cell-cell communication in the tumor microenvironment, carcinogenesis, and anticancer treatment. Cellular physiology

and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology, 34(2), 213–243. https://doi.org/10.1159/000362978

9. Carlson, BM. (2009). Embriología Humana y Biología del Desarrollo. 4ª ed. Barcelona, España: Ed. Elsevier Mosby.
10. César Eduardo Montalvo Arenas M.V; Ms. C. B. Asesoría técnica: Técnico Académico: Francisco Pasos Nájera. Laboratorista: Ricardo Hernández Trujillo. Biología celular e histología médica tejido y sistema nervioso
11. D. Purves. Neurociencia.Editorial Médica Panamericana, 3ed. 2007
12. Decrock, E., De Bock, M., Wang, N., Bultynck, G., Giaume, C., Naus, C. C., Green, C. R., & Leybaert, L. (2015). Connexin and pannexin signaling pathways, an architectural blueprint for CNS physiology and pathology?. Cellular and molecular life sciences : CMLS, 72(15), 2823–2851. https://doi.org/10.1007/s00018-015-1962-7
13. Demirbilek, H., Galcheva, S., Vuralli, D., Al-Khawaga, S. y Hussain, K. (2019). Transportadores de iones, canalopatías y trastornos de la glucosa. Revista internacional de ciencias moleculares , 20 (10), 2590. https://doi.org/10.3390/ijms20102590
14. Domínguez O. R., (2016). Prof. Pío del Río-Hortega: de la oligodendroglia a la desmielinización-remielinización. Historia previa y el exilio en la Argentina 1940-1945. Neurología Argentina. Elsevier, Vol. 8. Núm. 1., 61-64.
15. Doyle, DA Temas estructurales en canales iónicos. Eur Biophys J 33, 175-179 (2004). https://doi.org/10.1007/s00249-003-0382-z
16. Eugenin, E. A., Basilio, D., Sáez, J. C., Orellana, J. A., Raine, C. S., Bukauskas, F., Bennett, M. V., & Berman, J. W. (2012). The role of gap junction channels during physiologic and pathologic conditions of the human central nervous system. Journal

of neuroimmune pharmacology : the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology, 7(3), 499–518. https://doi.org/10.1007/s11481-012-9352-5

17. Falk, M. M., Fong, J. T., Kells, R. M., O'Laughlin, M. C., Kowal, T. J., & Thévenin, A. F. (2012). Degradation of endocytosed gap junctions by autophagosomal and endo-/lysosomal pathways: a perspective. The Journal of membrane biology, 245(8), 465–476. https://doi.org/10.1007/s00232-012-9464-0
18. Faulkner C., Bayer EMF (2017) Aislamiento de Plasmodesmata. En: Taylor N., Millar A. (eds) Aislamiento de orgánulos y estructuras vegetales. Methods in Molecular Biology, vol. 1511. Humana Press, Nueva York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6533-5_15
19. Fritzsche, S., & Springer, S. (2014). Pulse-chase analysis for studying protein synthesis and maturation. Current protocols in protein science, 78, 30.3.1–30.3.23. https://doi.org/10.1002/0471140864.ps3003s78.
20. Gajardo-Gómez R., Labra Valeria C., Orellana Juan A.(2016).Connexins and Pannexins: New Insights into Microglial Functions and Dysfunction.Frontiers in Molecular Neuroscience. Vol. 9. https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnmol.2016.0008.
21. García-Sáncheza J.E.,b, Enrique Garcíaa, M.. María Lucila Merinoc. (octubre 2010). Cien años de la bala mágica del Dr. Ehrlich (1909–2009). Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Elsevier, Vol. 28. Núm. 8., páginas 521-533.
22. Garrido-Urbani, S., Bradfield, P. F., & Imhof, B. A. (2014). Tight junction dynamics: the role of junctional adhesion molecules (JAMs). *Cell and tissue research*, *355*(3), 701–715. https://doi.org/10.1007/s00441-014-1820-1
23. Gomez, Martinez. Comunicación entre células gliales y neuronas I. Astrocitos, células de Schwann que no forman mielina y células de Schwann perisinápticas. Vol. 2. Núm. 2.páginas 75-84 (Julio - Diciembre 2014) https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medicina-e-investigacion-353-articulo-comunicacion-entre-celulas-gliales-neuronas-

S2214310615300030#:~:text=La%20comunicaci%C3%B3n%20entre%20neuronas%20y,de%20materia%20blanca%20del%20hipocampo

24. Goodenough, D. A., & Paul, D. L. (2009). Gap junctions. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 1(1), a002576. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002576.
25. Guillamón-Vivancos, U. Gómez-Pinedo, J. Matías-Guiu, (2015) Astrocitos en las enfermedades neurodegenerativas (I): función y caracterización molecular,Neurología, Volume 30, Issue 2, Pages 119-129, ISSN 0213-4853, https://doi.org/10.1016/j.nrl.2012.12.007.
26. Güiza, J., Barría, I., Sáez, J. C., & Vega, J. L. (2018). Innexins: Expression, Regulation, and Functions. Frontiers in physiology, 9, 1414. https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01414
27. Günzel, D., & Fromm, M. (2012). Claudins and other tight junction proteins. Comprehensive Physiology, 2(3), 1819–1852. https://doi.org/10.1002/cphy.c110045
28. Haines, D. (2014). Principios de Neurociencia: Aplicaciones Básicas Y Clínicas. Elsevier, 4ed. España.
29. Harrison Principios de Medicina Interna, 2021
30. Hernández Flórez, C. E., Contreras García, G. A., & Beltrán Avendaño, M. A. (2019). Desarrollo neuroembriológico: el camino desde la proliferación hasta la perfección. Universidad Medica, 59(3), 1-10.https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed59-3.dneu
31. Houghton, F. D. (2005). Role of gap junctions during early embryo development, Reproduction, 129(2), 129-135. Retrieved Apr 9, 2021, from https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/129/2/1290129.xml
32. John W. Baynes, Marek H. Dominiczak. (2019). Bioquímica Médica. España: Elsevier.
33. Kammoun Jellouli, N., Salem, I. H., Ellouz, E., Louhichi, N., tlili, A., Kammoun, F., Triki, C., Fakhfakh, F., & Tunisian Network on Mental Retardation Study (2013).

Molecular confirmation of founder mutation c.-167A>G in Tunisian patients with PMLD disease. Gene, 513(2), 233–238. https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.10.070

34. Karp, G. (2011). Biología Celular y Molecular . McGrawHill. 6ed.
35. Kasper D., Anthony F. (2021). Biología de enfermedades neurológicas. En Harrison. Principios de Medicina Interna, 19ed. México: McGraw Hill.
36. Laing, J. G., & Beyer, E. C. (1995). The gap junction protein connexin43 is degraded via the ubiquitin proteasome pathway. The Journal of biological chemistry, 270(44), 26399–26403. https://doi.org/10.1074/jbc.270.44.26399
37. Laird D. W. (2006). Life cycle of connexins in health and disease. The Biochemical journal, 394(Pt 3), 527–543. https://doi.org/10.1042/BJ20051922.
38. Laird, D. W., & Lampe, P. D. (2018). Therapeutic strategies targeting connexins. Nature reviews. Drug discovery, 17(12), 905–921. https://doi.org/10.1038/nrd.2018.138.
39. Liang, Z., Wang, X., Hao, Y., Qiu, L., Lou, Y., Zhang, Y., Ma, D., & Feng, J. (2020). The Multifaceted Role of Astrocyte Connexin 43 in Ischemic Stroke Through Forming Hemichannels and Gap Junctions. Frontiers in neurology, 11, 703. https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00703.
40. Meng, W., & Takeichi, M. (2009). Adherens junction: molecular architecture and regulation. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 1(6), a002899. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002899
41. Moore, K. (2020). Embriología Clínica. Elsevier. España
42. Navarro-Quiroz, Elkin, Navarro-Quiroz, Roberto, España-Puccini, Pierine, Ahmad, Mostapha, Díaz-Pérez, Anderson, Villarreal, José Luis, Vásquez, Lucy, & Torres, Augusto. (2018). Neurogénesis en cerebro adulto. Revista Salud Uninorte, 34(1), 144-159. https://doi.org/10.14482/sun.34.1.9992
43. Niggli, E., Kléber, A. y Weingart, R. (2006). Fundador de la electrofisiología celular cardíaca: honrando a Silvio Weidmann, 7 de abril de 1921-11 de julio de 2005. The

Journal of Physiology , 570 (Pt 3), 431-432. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.101550

44. Owczarek-Lipska, M., Mulahasanovic, L., Obermaier, CD y col. Nuevas mutaciones en el gen GJC2 asociadas con la enfermedad similar a Pelizaeus-Merzbacher. Mol Biol Rep 46, 4507–4516 (2019). https://doi.org/10.1007/s11033-019-04906-4
45. Pace, NP, Benoit, V., Agius, D., Grima, MA, Parascandalo, R., Hilbert, P. y Borg, I. (2019). Dos variantes novedosas de GJA1 en displasia oculodentodigital. Genética molecular y medicina genómica , 7 (9), e882. https://doi.org/10.1002/mgg3.882
46. Pedernera, E (2006). Embriología en la clínica. Casos médicos. 1ª ed. Editorial Médica Panamericana. México.
47. Penuela, S., Gehi, R., & Laird, D. W. (2013). The biochemistry and function of pannexin channels. Biochimica et biophysica acta, 1828(1), 15–22. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.01.017
48. Pereda AE (2014). Sinapsis eléctricas y sus interacciones funcionales con las sinapsis químicas. Reseñas de la naturaleza. Neurociencia , 15 (4), 250–263. https://doi.org/10.1038/nrn3708
49. Petzoldt, A. G., & Sigrist, S. J. (2014). Synaptogenesis. Current biology : CB, 24(22), R1076–R1080. https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.024
50. Prinz, M., Tay,, T, L., Wolf, Y., & Jug, S. (2014). Microglia: unique and common features with other tissue macrophages. Acta neuropathologica, 128(3),,319-331. https://doi.org/10.1007/s00401-014-1267-1
51. Qi, G. J., Chen, Q., Chen, L. J., Shu, Y., Bu, L. L., Shao, X. Y., Zhang, P., Jiao, F. J., Shi, J., & Tian, B. (2016). Phosphorylation of Connexin 43 by Cdk5 Modulates Neuronal Migration During Embryonic Brain Development. Molecular neurobiology, 53(5), 2969–2982. https://doi.org/10.1007/s12035-015-9190-6
52. Ramírez-Expósito, María Jesús & Martínez-Martos, José Manuel. (1998). [Structure and functions of the macroglia in the central nervous system. Response to degenerative disorders]. Revista de neurologia. 26. 600-11.

53. Saez, J. C., Berthoud, V. M., Branes, M. C., Martinez, A. D., & Beyer, E. C. (2003). Plasma membrane channels formed by connexins: their regulation and functions. Physiological reviews, 83(4), 1359–1400. https://doi.org/10.1152/physrev.00007.2003
54. Sager RE, Lee JY. Plasmodesmata at a glance. J Cell Sci. 2018 Jun 7;131(11):jcs209346. doi: 10.1242/jcs.209346. PMID: 29880547.
55. Salameh A. (2006). Life cycle of connexins: regulation of connexin synthesis and degradation. Advances in cardiology, 42, 57–70. https://doi.org/10.1159/000092562
56. Sánchez, O. F., Rodríguez, A. V., Velasco-España, J. M., Murillo, L. C., Sutachan, J. J., & Albarracin, S. L. (2020). Role of Connexins 30, 36, and 43 in Brain Tumors, Neurodegenerative Diseases, and Neuroprotection. Cells, 9(4), 846. https://doi.org/10.3390/cells9040846
57. Sawada N. (2013). Enfermedades humanas relacionadas con la unión estrecha. Patología internacional , 63 (1), 1-12. https://doi.org/10.1111/pin.12021
58. Shin, M., Wang, Y., Borgus, J. R., & Venton, B. J. (2019). Electrochemistry at the Synapse. Annual review of analytical chemistry (Palo Alto, Calif.), 12(1), 297–321. https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-061318-115434
59. Sofroniew MV (2014). Astrogliosis. Perspectivas de Cold Spring Harbor en biología , 7 (2), a020420. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020420.
60. Song, JH, Wang, Y., Fontes, JD y Belousov, AB (2012). Regulación de la expresión de conexina 36 durante el desarrollo. Cartas de neurociencia , 513 (1), 17-19. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.01.075
61. Sosinsky, GE, Boassa, D., Dermietzel, R., Duffy, HS, Laird, DW, MacVicar, B., Naus, CC, Penuela, S., Scemes, E., Spray, DC, Thompson, RJ, Zhao , HB y Dahl, G. (2011). Los canales de panexina no son hemicanales de unión gap. Canales (Austin, Texas) , 5 (3), 193-197. https://doi.org/10.4161/chan.5.3.15765

62. Srinivas, M., Verselis, V. K., & White, T. W. (2018). Human diseases associated with connexin mutations. Biochimica et biophysica acta. Biomembranes, 1860(1), 192–201. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.04.024
63. Srinivasan, M., Verselis, VK y White, TW. 2018
64. Torres-Fernández, O., (2006). La técnica de impregnación argéntica de Golgi. Conmemoración del centenario del premio nobel de Medicina (1906) compartido por Camillo Golgi y Santiago Ramón y Cajal. Laboratorio de Microscopía, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C., Colombia., 26, 498-508.
65. Trebak, M., & Parekh, A. B. (2012). Ion channels in patho-physiology. The Journal of physiology, 590(6), 1347. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.230219
66. Viviana M Berthoud, Peter J Minogue, James G Laing, Eric C Beyer. (May 2004). Pathways for degradation of connexins and gap junctions,. Cardiovascular Research , Volumen 62, Issue 2, pages 256–267. https://doi.org/ 10.1016 / j.cardiores.2003.12.021
67. Walko, G., Castañón, M. J., & Wiche, G. (2015). Molecular architecture and function of the hemidesmosome. Cell and tissue research, 360(3), 529–544. https://doi.org/10.1007/s00441-015-2216-6
68. Yi, C., Mei, X., Ezan, P., Mato, S., Matias, I., Giaume, C. y Koulakoff, A. (2016). La conexina astroglial 43 contribuye al sufrimiento neuronal en un modelo de ratón de la enfermedad de Alzheimer. Diferenciación y muerte celular , 23 (10), 1691-1701. https://doi.org/10.1038/cdd.2016.63