

EL LÍQUID CEREBROSPINAL

Un fluid vital per al sistema nerviós central

Escrit per

Maryam Parvas i David Bueno

Departament de Genètica de la Universitat de Barcelona

Moltes civilitzacions s'han desenvolupat al costat de rius i mars, uns medis fluids que han servit de vehicle de cohesió i transport i que han afavorit la supervivència de les persones que vivien a les seves ribes. Per als egipcis va ser el Nil; per als mesopotamis, el Tigris i l'Eufrates, i per als grecs i fenicis, la Mediterrània. Un dels sistemes dels animals més complexos funcionalment és el nerviós, el qual assoleix l'expressió màxima en els vertebrats, molt especialment en òrgans com el cervell. Sorprenentment, el cervell també s'organitza, des de l'inici embrionari i durant tota la vida adulta, al voltant d'un fluid extraordinàriament dinàmic i complex: el líquid cerebrospinal.

La formació del sistema nerviós central

El sistema nerviós central (SNC) és un dels sistemes dels vertebrats més interessants i estudiats, atès que controla totes les funcions vitals de l'organisme. L'òrgan més gran i complex de l'SNC des del punt de vista funcional i estructural és el cervell. El cervell, com tota la resta de l'SNC, es comença a formar molt aviat durant el desenvolupament embrionari, quan una zona de l'ectoderma dorsal es comença a diferenciar en neuroectoderma i es converteix en la placa neural (fig. 1). A continuació, la placa neural es plega longitudinalment i forma un solc —el solc neural— fins que es tanca dorsalment i genera el tub neural, a partir del qual es formarà la medulla espinal i, amb l'eixamplament del tub neural a la part més anterior, el cervell.

El desenvolupament de l'SNC a partir d'aquest primordi neural implica l'acció simultània i interdependent de diversos mecanismes, com l'establiment d'identitats posicionals que el regionalitzen i complexos processos d'histogènesi i morfogènesi. S'ha demostrat que en aquests processos intervenen un gran nombre de molècules, entre les quals destaquen molècules difusibles com a factors de creixement i morfògens, els quals actuen sobre les cèl·lules

veïnes i regulen l'expressió de multitud de factors de transcripció, que estableixen les complexes xarxes gèniques que conclouen en la formació d'un SNC funcional. S'ha descrit que moltes d'aquestes molècules difusibles es poden difondre a través dels teixits, però l'abast d'aquest tipus de difusió és limitat i es restringeix a les cèl·lules veïnes. Per a senyalitzacions de més abast, cal que hi hagi un medi fluid adequat que les transporti.

L'arquitectura del primordi cerebral revela l'existència d'unes cavitats internes —les vesícules cefàliques—, les quals esdevenen el sistema ventricular del cervell quan el desenvolupament ateny l'edat fetal i adulta (fig. 1). Tant les vesícules cefàliques embrionàries com els ventricles del cervell adult són plens d'un fluid complex molt ric en proteïnes: el líquid cefalospinal (o també anomenat *líquid cefaloraquidi* [LCR], en anglès [CSF]), el qual actua d'element de cohesió i de difusió de senyals per a totes les cèl·lules que hi estan en contacte. De fet, en els adults moltes patologies de l'SNC queden reflectides en la composició específica de l'LCR, ja sigui com a causa o com a conseqüència, com per exemple la hidrocefàlia, diversos defectes de formació i tancament del tub neural, com l'espina bífida, processos d'inflamació i reparació

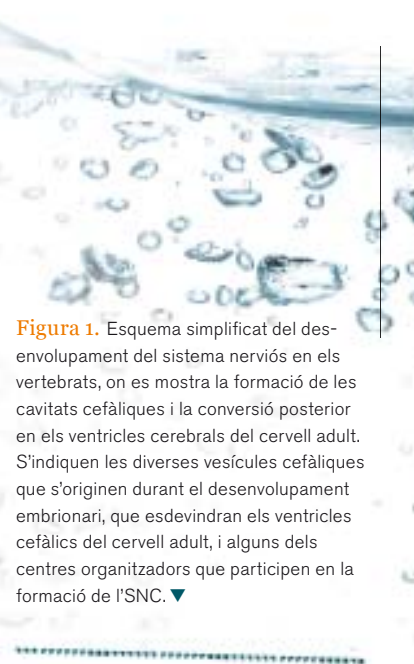
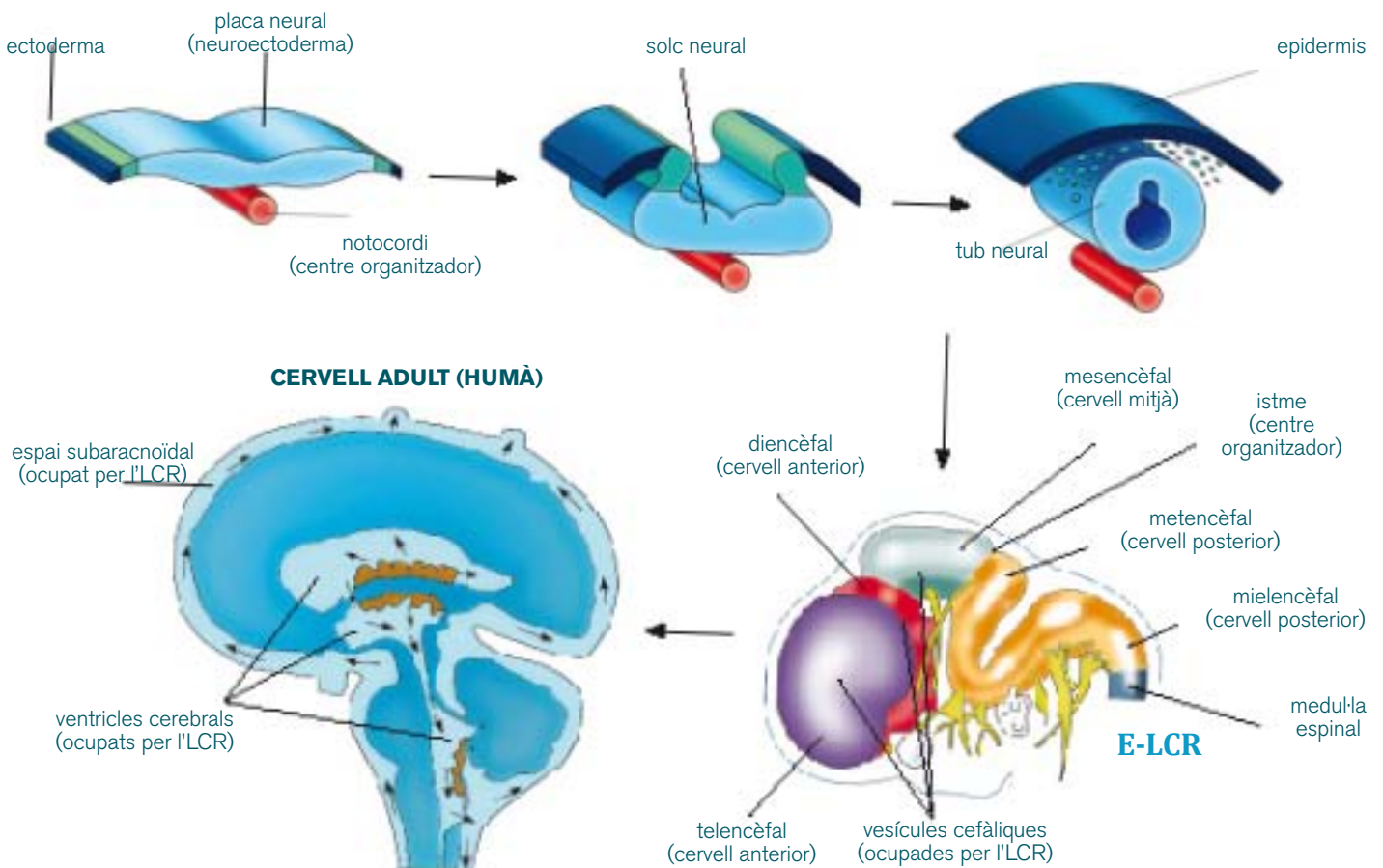


Figura 1. Esquema simplificat del desenvolupament del sistema nerviós en els vertebrats, on es mostra la formació de les cavitats cefàliques i la seva conversió posterior en els ventricles cerebrals del cervell adult. S'indiquen les diverses vesícules cefàliques que s'originen durant el desenvolupament embrionari, que esdevindran els ventricles cefàlics del cervell adult, i alguns dels centres organitzadors que participen en la formació de l'SNC. ▼



cerebral, i alteracions neurodegeneratives com l'esclerosi múltiple i les malalties d'Alzheimer i Parkinson. En aquest sentit, l'anàlisi de l'LCR ja s'utilitza com a eina diagnòstica en els adults, i la ràpida accessibilitat que permet aquest fluid cap als teixits cerebrals fa que es pugui usar com a via per subministrar agents terapèutics directament al cervell (per a una introducció a aquests temes, vegeu el número de desembre de 2004 d'*Omnis Cellula*, p. 13-17).

El líquid cerebrospinal en el cervell adult

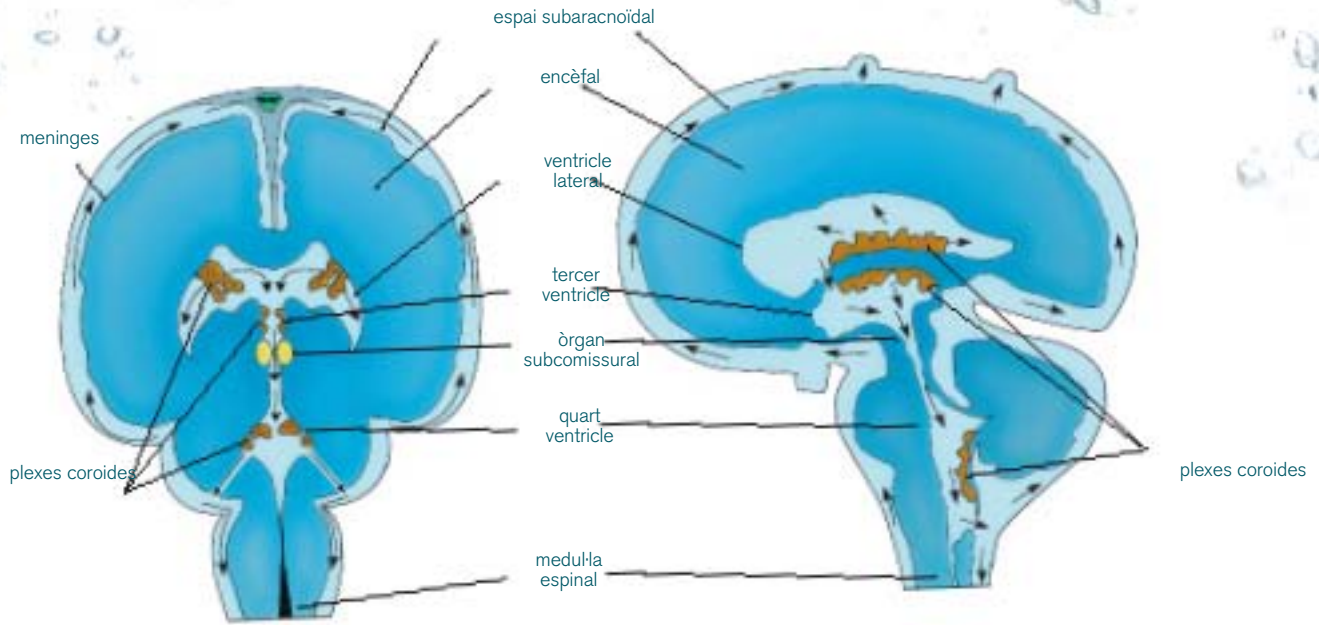
La presència de LCR dins els ventricles cerebrals (fig. 2) es coneix des de l'antiguitat (taula 1). Les funcions que tradicionalment s'han atribuït a aquest fluid són: mantenir el teixit cerebral en flotació permanent, fet que en redueix el pes i evita que la part inferior s'aixafi; servir de vehicle per transportar nutrients al cervell i eliminar els residus que aquest genera, i fluir entre el crani i l'espina dorsal per compensar els canvis en el volum de sang intracranial. Malgrat que totes aquestes funcions siguin certes, treballs recents han demostrat que no són pas les úniques

que exerceix aquest fluid. Actualment es considera que l'LCR adult és un element multifuncional amb mecanismes homeostàtics, hormonals i de senyalització amb funcions rellevants per al funcionament correcte d'aquest òrgan i, per extensió, per al manteniment de la salut, com es posa de manifest en moltes patologies que afecten el cervell, com les esmentades a l'apartat anterior i, fins i tot, en algunes malalties mentals com l'esquizofrènia.

Una de les troballes més recents i mèdicament més significatives relatives a la funció de l'SNC en els adults fa referència a la possibilitat d'usar aquest fluid com a vehicle per estimular la regeneració neural, per exemple en el tractament de malalties neurodegeneratives. Recentment s'ha detectat la presència de cèl·lules progenitores neurals (cèl·lules mare) en diferents llocs del cervell dels mamífers (Álvarez-Buylla i García-Verdugo, 2002), com la zona subventricular dels ventricles laterals del cervell, el bulb olfatori i la zona subgranular de l'hipocamp. El més interessant és que totes les cèl·lules mare d'aquestes localitzacions estan en contacte amb

Dades	Pensador i/o científic	Descoberta i/o postulat
Segle IV aC	Hipòcrates: metge grec considerat el pare de la medicina	Registra per primer cop la presència de l'LCR en l'SNC. Suggereix que l'LCR és el responsable de l'obstrucció ventricular en els pacients amb hidrocefàlia (avui sabem que certament hi està relacionat).
Segle II dC	Galè: metge grec considerat el pare de la tecnologia farmacèutica	Describeix l'anatomia dels ventricles cerebrals. Estableix el dogma que els ventricles contenen un esperit vital gasós.
1509	Leonardo da Vinci: geni polifacètic del Renaixement	Describeix i dibuixa amb gran precisió el sistema ventricular del cervell, especialment el tercer ventricle, part on se suposava que s'elaborava el <i>sensus communis</i> (avui sabem que part de l'LCR es produeix al plexe coroides d'aquest ventricle).
1543	Vesalius: anatomista i fisiòleg d'origen belga	Fa observacions detallades de l'anatomia cerebral i retorna a la hipòtesi de l'LCR com a fluid intern del cervell.
Segles XVII i XVIII	Haller: anatomista i fisiòleg suís Cotugno: metge italià Valsalva: metge italià	Elaboren i difonen la hipòtesi de l'LCR en diversos treballs.
1825	Magendie: fisiòleg francès	Fa els primers estudis químics i fisiològics de l'LCR. Observa moviments pulsatius i conclou que l'LCR es troba sota pressió positiva. Encunya el terme líquid cerebrospinal.
Segle XIX	Key: metge anglès Retzius: anatomista i metge suec	Fan estudis detallats dels ventricles cerebrals i de les membranes del cervell. Inicien el camí de l'estudi modern de l'LCR.
1977	Desmond i Jacobson: investigadors nord-americans	Fan la primera referència a la presència de LCR en els embrions (E-LCR).
Segle XX i primera dècada del segle XXI	Nombre creixent de científics	Es descriu l'origen de l'LCR als plexes coroides i la seva circulació a través de les cavitats internes. Es relaciona l'LCR amb diverses malalties neurals. Se'n descriu amb precisió creixent la composició. Els estudis funcionals aporten un nombre creixent d'evidències sobre la seva funció polifacètica i vital en els adults, els fetus i els embrions.

Taula 1. Breu història de l'estudi i del coneixement de l'LCR.



Il·lustracions d'Oriol Massana i Lluís Obach

l'LCR, la qual cosa podria situar aquest fluid al bell mig del problema i alhora, molt possiblement, també de la solució com a via per subministrar agents terapèutics. S'ha vist, fins i tot, que el flux concret de l'LCR a la regió del bulb olfatori és responsable de la migració de neurones de nova formació cap a localitzacions concretes del cervell (Sawamoto *et al.*, 2006).

Malgrat tots aquests coneixements (revisats a Parada *et al.*, 2007), que inclouen la descripció precisa de totes les proteïnes i altres molècules que componen l'LCR adult, l'equivalent embrionari d'aquest fluid ha estat oblidat sistemàticament quant a les funcions, la gènesi i el control homeostàtic, un oblit que la inèrcia científica ha mantingut fins fa poc. Però un bon grapat de treballs recents han començat a aclarir tots aquests aspectes.

Les funcions del líquid cerebrospinal embrionari

Tradicionalment, les funcions atribuïdes al líquid cerebrospinal embrionari (E-LCR) han estat dues: la generació de pressió positiva per evitar el col·lapse de les cavitats cefàliques, i l'eliminació de substàncies de rebuig. Recentment, però, s'ha demostrat que la composició de l'E-LCR és extraordinàriament complexa i dinàmica, i que conté un gran nombre de molècules que poden estar implicades en els processos de neurogènesi i morfogènesi de l'LCR (revisat a Parada *et al.*, 2007), que actuen des d'aquest fluid. S'ha vist que l'E-LCR és necessari i imprescindible per mantenir les característiques cel·lulars bàsiques de les cèl·lules progenitores neuroepiteliales a l'inici de la neurogènesi, és

a dir, per mantenir-ne la supervivència i per estimular-ne la proliferació i la diferenciació cap a cèl·lules d'estirp neural, com també per mantenir l'expressió dels gens que determinen el patró característic de desenvolupament —com, per exemple, *otx2*, *fgf8* i *shh*—, en col·laboració amb coneguts centres organitzadors com ara l'istme mesencefàlic-prosencefàlic (fig. 1). A més, diverses anàlisis en què s'ha valorat la participació específica d'algunes de les molècules identificades en l'E-LCR —com, per exemple, el factor de creixement del fibroblast [*fibroblast growth factor*] n. 2, la proteïna d'unió al retinol [*retinol binding protein*] i el seu lligand, la prohormona retinol, i diverses apolipoproteïnes i les fraccions lipídiques que transporten—, han demostrat la seva implicació específica i necessària en els processos cel·lulars i de desenvolupament, que porten cap a un SNC funcional (Gato *et al.*, 2005; Martín *et al.*, 2006; Parada *et al.*, 2005, 2008a, 2008b; vegeu la revisió feta a Parada *et al.*, 2007). Tanmateix, també s'ha demostrat la implicació de l'LCR fetal en l'estimulació de l'estratificació i la neurogènesi cortical, la darrera fase de la formació neural del cervell abans del naixement (Miyana *et al.*, 2006).

Aquests estudis sobre la composició i la funció de l'E-LCR adquireixen una rellevància especial quant a l'aplicació en persones adultes. La idea és molt simple: la majoria de proteïnes identificades a l'E-LCR, des d'on exerceixen els seus efectes sobre la supervivència, la proliferació i la diferenciació de les cèl·lules progenitores neurals, són presents també a l'LCR adult. Tanmateix, moltes d'aquestes proteïnes estan

Figura 2. Estructura interna del cervell humà, on es poden observar els ventricles i els canals ocupats per l'LCR: a l'esquerra, visió frontal, i a la dreta, visió lateral. El sentit de la circulació del flux de l'LCR s'indica amb fletxes. ▲



© Commons.wikimedia.org

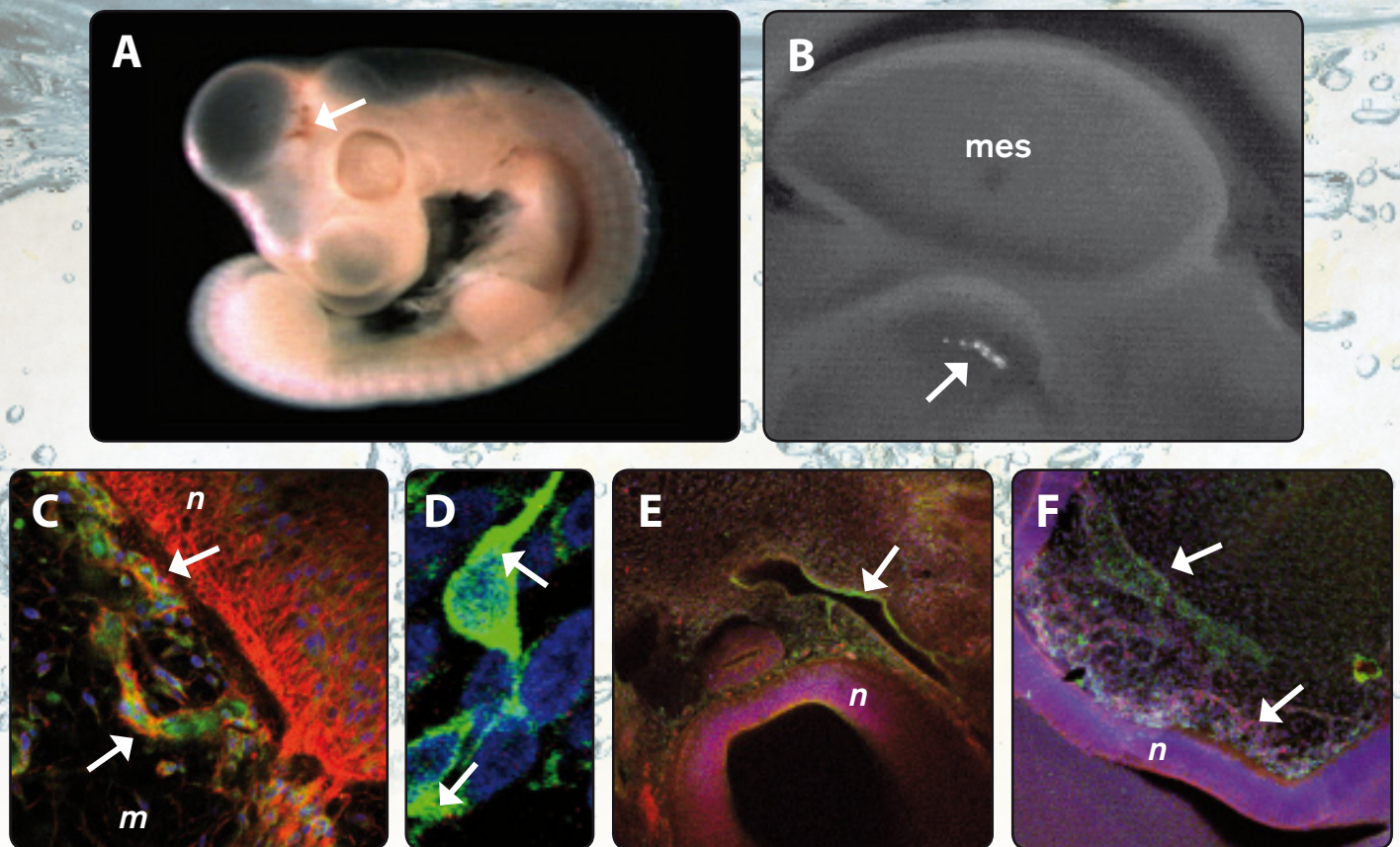


Figura 3. Localització de la barrera embrionària entre el sèrum i l'E-LCR a l'inici de la neurogènesi, just després del tancament del tub neural. Totes les imatges corresponen a embrions de pollastre de quatre dies de desenvolupament embrionari. **A)** Visió completa d'un embrió. La fletxa indica aproximadament el lloc on se situa la barrera. **B)** Transport de proteïnes a través dels vasos sanguinis localitzats a la base del cervell mitjà i a la part més anterior del cervell posterior. La fletxa indica el vas sanguini principal implicat en el transport. Per visualitzar-ho, s'han marcat les proteïnes amb una molècula fluorescent. **C)** Amplificació d'un dels capil·lars de B vist amb microscòpia confocal. **D)** Transport específic intracel·lular de proteïnes a través del neuroectoderma (fletxes). **E)** Presència d'aquaporines (AQP1, una proteïna que forma part dels canals de transport d'aigua) als capil·lars de la barrera embrionària entre el sèrum i l'E-LCR (fletxa). **F)** Presència de caveolines (proteïnes que formen part de les cavèoles, implicades en el transport selectiu de proteïnes) a la barrera embrionària entre el sèrum i l'E-LCR i a la part basal del neuroectoderma (fletxes).
Abreujacions: *m*, mesoderma; *mes.*, mesencèfal (cavitat del cervell mitjà); *n.*, neuroectoderma.

alterades en l'LCR de pacients afectats de malalties neurodegeneratives i/o neurològiques, la qual cosa suggereix que algunes de les funcions d'aquestes proteïnes es podrien mantenir al llarg de tota la vida. Aquests fets permeten pensar en una possible via per a teràpies de neuroregeneració, atès que, com ja s'ha dit, les cèl·lules progenitores de l'SNC adult estan sempre en contacte amb aquest fluid.

En definitiva, aquests darrers cinc anys s'ha començat a superar l'oblit atàvic en què s'ha mantingut l'E-LCR, i s'espera que a poc a poc vagi remetent la inèrcia científica que no en reconeix la importància crucial.

Formació i control homeostàtic del líquid cerebrospinal

Ateses totes les funcions de l'LCR durant la gènesi i el funcionament de l'SNC, la pregunta que emergeix és com se'n controla la composició i l'homeòstasi. El cervell adult és un dels òrgans menys accessibles als compostos farmacològics, fet que és degut principalment a la presència de diverses barreres fisiològiques que l'aïllen del plasma sanguini i controlen amb precisió l'entrada i la sortida tant de compostos endògens com exògens. La barrera hematoencefàlica és l'encarregada de controlar el pas de determinats compostos des del plasma sanguini fins al teixit cerebral i viceversa. Tanmateix, de la funció

de barrera entre el torrent sanguini i l'LCR, se n'encarreguen tres òrgans específics: el compartiment meningi, els plexes coroides i l'òrgan subcomissural (fig. 2). Tots actuen mitjançant transportadors específics. A més, els plexes coroides produeixen i secreten un nombre elevat de compostos de l'LCR, entre els quals hi ha una gran varietat de factors de creixement i supervivència. La seva base biològica, encara no del tot ben compresa, depèn de l'existència d'unions hermètiques (*tight junctions*) entre les cèl·lules endotelials que conformen la barrera, les quals obliguen tots els materials a passar a través de transportadors cel·lulars específics, molts dels quals encara s'estan investigant. Així, per exemple, se sap que hi ha transportadors específics per a una gran quantitat de proteïnes, lípids, ions, glucosa i aigua.

L'LCR no és un fluid estàtic, sinó que flueix des dels ventricles laterals cap a l'espai subaracnoïdal i passa pel tercer i quart ventricle (fig. 2), recorregut durant el qual es va formant i modificant progressivament i seqüencialment amb les aportacions dels diversos plexes coroides i de l'òrgan subcomissural, fet que en modifica també progressivament la funció específica. Tanmateix, els mecanismes precisos de transport de substàncies i la dinàmica concreta de l'LCR als ventricles cerebrals dels adults encara és un camp objecte d'una recerca

intensa. La idea és molt simple: d'una banda, determinades alteracions d'aquestes barreres poden influir en la gènesi o el desenvolupament de patologies neurals, incrementant l'avanç de la malaltia i/o dificultant l'acció dels medicaments i, de l'altra, si es volen dissenyar medicaments que arribin de manera eficient al cervell, especialment a través de la via natural que representa l'LCR, cal conèixer les propietats transportadores d'aquestes barreres perquè els agents terapèutics les puguin superar.

De la mateixa manera que hi ha hagut un oblit sistemàtic de les funcions de l'E-LCR, també n'hi ha hagut en la formació i el control de l'homeòstasi d'aquest fluid en embrions. Se sap que els plexes coroides i la barrera hemoencefàlica es formen durant el desenvolupament embrionari i van adquirint progressivament les característiques d'impermeabilitat i transport selectiu, especialment des de l'inici del desenvolupament fetal. Ara bé, atès que l'E-LCR té un paper crucial a mantenir la supervivència dels progenitors neurals i a estimular-ne la proliferació i la diferenciació des de l'inici de la formació de les cavitats cefàliques, cal preguntar-se com se'n regula la formació i l'homeòstasi, tan bon punt el tub neural es tanca i el seu interior s'aïlla del medi extern.

En aquest sentit, recentment s'ha demostrat l'existència d'una funció de barrera entre el sèrum embrionari i l'E-LCR que controla amb precisió totes les molècules que han d'accedir a les cavitats cefàliques o eixir-ne (Parvas *et al.*, 2008). Aquesta barrera, que es localitza en una sèrie de capil·lars sanguinis situats a la base del cervell mitjà i a la part més anterior del cervell posterior, un xic laterals a la línia mitjana

de l'SNC, controla d'una manera molt eficient no solament el pas selectiu de molècules entre aquests dos compartiments embrionaris, sinó també la concentració de molècules específiques dins les cavitats cefàliques, és a dir, llur homeòstasi, i esdevé el contrapunt necessari per garantir el desenvolupament correcte del cervell mitjançant l'acció específica de l'E-LCR (fig. 2).

En aquests mateixos capil·lars també hi ha un bon nombre de molècules transportadores específiques com, per exemple, les aquaporines —les molècules que formen els canals de transport d'aigua—, molècules presents als canals d'ions, de glucosa i de caveolines —unes proteïnes implicades en la formació de cavèoles, que són un tipus de vesícules citoplasmàtiques vinculades al transport transcel·lular de molècules (fig. 2). Aquesta barrera, que aparentment és transitòria, actua des del tancament del tub neural fins al desenvolupament dels plexes coroides. L'anàlisi de les característiques d'aquests mecanismes de control de la composició de l'E-LCR detectats recentment també pot contribuir a establir l'acció de fàrmacs concrets sobre el desenvolupament de l'SNC, ja sigui per potenciar els efectes de fàrmacs dissenyats per corregir defectes de desenvolupament com també per evitar efectes no desitjats de fàrmacs que pugui ingerir la mare gestant. Tanmateix, l'existència d'aquest control exhaustiu de la composició i l'homeòstasi de l'LCR corroboren la importància biològica global d'aquest fluid; un paper comparable al que van representar les vies d'aigua per a les grans civilitzacions clàssiques. I

Per a més informació

<http://www.ub.edu/genetica/desenvolupament/bueno.htm>
<http://www.ub.edu/geneticaclassess/davidbueno>

Referències bibliogràfiques

- ÁLVAREZ-BUYLLA, A.; GARCÍA-VERDUGO, J. M. (2002). «Neurogenesis in adult subventricular zone». *J. Neurosci.*, 22, p. 629-634.
- MARTÍN, C. [et al.] (2006). «FGF2 plays a key role in embryonic cerebrospinal fluid trophic properties over chick embryo neuroepithelial stem cells». *Dev. Biol.*, 297, p. 402-416.
- MIYAN, J. [et al.] (2006). «Cerebrospinal fluid supports viability and proliferation of cortical cells in vitro, mirroring in vivo development». *Cerebrospinal Fluid Research*, 3, p. 2.
- PARADA, C. [et al.] (2005b). «Embryonic cerebrospinal fluid collaborates with the isthmus organizer to regulate mesencephalic gene expression». *J. Neurosci. Res.*, 82, p. 333-345.
- PARADA, C.; BUENO, D. (2004). «Cèl·lules mare i malalties neurodegeneratives». *Omnis Cellula*, desembre de 2004, p. 13-17.
- PARADA, C.; PARVAS, M.; BUENO, D. (2007). «Cerebrospi-

nal fluid proteomes: from neural development to neurodegenerative diseases». *Current Proteomics*, 4, p. 89-106.

PARADA, C.; ESCOLÀ-GIL, J. C.; BUENO, D. (2008). «Low-density lipoproteins from embryonic cerebrospinal fluid are required for neural differentiation». *J. Neurosci. Res.* [En premsa]

PARADA, C.; GATO, A.; BUENO, D. (2008). «All-trans retinol and retinol-binding protein from embryonic cerebrospinal fluid exhibit dynamic behaviour during early central nervous system development». *Neuroreport*. [En premsa]

PARVAS, M.; PARADA, C.; BUENO, D. (2008). «A Blood-CSF barrier function controls embryonic CSF protein composition and homeostasis during early CNS development». *Dev. Biol.* [En premsa]

SAWAMOTO, K. [et al.] (2006). «New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain». *Science*, 311, p. 629-632.

David Bueno i Torrens

(Barcelona, 1965)

És doctor en biologia i professor titular del Departament de Genètica de la UB. La seva tesi doctoral va obtenir el Premi Extraordinari de Doc-

torat i una menció honorífica al I Premi del Claustre de Doctors de la UB. Va fer una estada postdoctoral a la Universitat d'Oxford, on va treballar en l'anàlisi del desenvolupament de ratolins transgènics mutats per determinats factors de creixement. Actualment dirigeix un grup de recerca que centra els seus esforços en l'estudi de la composició i la funció del líquid cerebrospinal embrionari i fetal. És autor de quaranta articles en revistes científiques internacionals. També dedica part del seu temps a la divulgació científica: és autor de vint-i-quatre llibres de text per a estudiants de primària i secundària i de tres llibres de divulgació científica. És col·laborador habitual del diari *Avui*, entre d'altres.

Maryam Parvas

(Teheran, 1980)

És llicenciada en biologia per la Islamic Azad University de Teheran (Iran), i va fer el màster en biologia experimental al Departament de Ge-

nètica de la Universitat de Barcelona. Actualment està elaborant la seva tesi doctoral al Departament de Genètica de la UB, sota la direcció del doctor David Bueno, analitzant el paper del líquid cerebrospinal embrionari en el comportament de les cèl·lules mare neurals durant el desenvolupament del SNC, i molt especialment en el control de la formació i l'homeòstasi d'aquest fluid a l'inici de la neurogènesi. És autora de tres articles en revistes científiques internacionals, derivades de la seva recerca experimental a la UB, i està treballant en la redacció de tres articles més per concloure la tesi doctoral.