



FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

# **GRADO EN MEDICINA**

## **TRABAJO FIN DE GRADO**

**Biología y patología de la sinapsis  
interneuronal.**

Biology and pathology of the interneuronal synapse.

**Autor: D. Sergio Piquero Fernández**

**Director/es: D. Miguel A. Lafarga Coscojuela**

**Santander, Septiembre 2018**

## INDICE

AGRADECIMIENTOS .....	3
ABREVIATURAS .....	4
RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	5
1. INTRODUCCIÓN .....	6
2. METODOLOGÍA.....	7
3. LA DOCTRINA NEURONAL DE CAJAL .....	7
4. ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO COMO UN SISTEMA DE COMUNICACIÓN NEURAL .....	12
4.1. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.....	13
4.2. SISTEMA NERVIOSO PERIFERICO.....	14
4.3. ORGANIZACION DEL SISTEMA DE COMUNICACIÓN NEURONAL.....	14
5. SINAPSIS: CONCEPTO Y CLASIFICACIÓN.....	15
6. ESTRUCTURA DE LA SINAPSIS.....	20
6.1 LA REGION PRESINAPTICA.....	20
6.1.1. Las vesículas sinápticas.....	22
6.1.2. Proteínas asociadas a las vesículas sinápticas.....	26
6.1.3. Etapas del ciclo vesicular en la sinapsis .....	27
6.2 LA REGION POSTSINAPTICA.....	30
6.2.1. La membrana postsináptica.....	30
6.2.2. Estructura molecular de la densidad postsináptica.....	30
6.3 LA HENDIDURA SINAPTICA .....	32
7. LAS ESPINAS DENDRÍTICAS .....	34
7.1. INTRODUCCIÓN Y ANRECEDENTES HISTÓRICOS .....	34
7.2. ESTRUCTURA Y CLASIFICACIÓN.....	35
7.3. DINÁMICA DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS.....	37
7.4 EL PAPEL DE LA PROTEINA PSD-95 Y DE LOS RECEPTORES GLUTAMÉRGICOS.....	38
7.5 LA ACTINA .....	39
8. PATOLOGIA DE LA SINAPSIS .....	40
8.1 EI TÉTANOS COMO MODELO DE PATOLOGÍA DE LA SINAPSIS .....	40
8.1.1 Generalidades.....	40
8.1.2 Formación neurotoxina tetánica.....	41
8.1.3 Mecanismo de acción.....	41
8.1.4 Acción neurotoxina tetánica.....	43
7. BIBLIOGRAFIA .....	44

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero dar las gracias primeramente al Prof. Miguel A. Lafarga Coscojuela, mi director del TFG que se van a disponer a leer, ya que sin su ayuda seguramente me hubiera sido imposible tenerlo hoy aquí. Gracias a su inestimable ayuda y tiempo dedicado, la realización de este TFG me ha resultado mas placentera que en un principio se puede pensar cuando te dicen que tienes que hacer un trabajo tan largo y laborioso.

Por otra parte, quiero dar las gracias a todas las personas (familia y amigos) que han confiado en mi durante todos estos años y me han dado su apoyo tanto en los buenos momentos como en los malos, ya que sin toda esa confianza que han depositado en mi nunca habría conseguido finalizar esta travesía.

## **ABREVIATURAS**

SNC: sistema nervioso central

SNP: sistema nervioso periférico

PSD: proteína de densidad postsináptica

LTP: potenciación sináptica a largo plazo

LTD: depresión sináptica a largo plazo

NMDA: N-metil-D-aspartato

EM: microscopía electrónica

TeNT: neurotoxina tetánica

CAMs: proteína Ca<sup>2+</sup>/Calmodulina

## **RESUMEN**

La sinapsis es la estructura más relevante y abundante del sistema nervioso de los vertebrados. La idea estructural y funcional de la sinapsis está asociada a dos fundadores de la moderna Neurobiología: Santiago Ramón y Cajal y Charles Sherrington. A finales del siglo XIX existía una fuerte disputa entre dos teorías radicalmente opuestas sobre la organización del sistema nervioso. La “teoría reticular”, defendida especialmente por Golgi (1882), proponía que las prolongaciones neuronales se fusionaban entre sí para formar una red protoplasmática difusa. Por su parte, Cajal (1888) propuso la “teoría neuronal” que establece que las neuronas son unidades morfológicas y funcionales independientes. Tres años más tarde, Cajal formula la “ley de la polaridad dinámica” que determina que las neuronas son células funcionalmente polarizadas. Estos dos grandes principios formulados por Cajal nos han proporcionado los fundamentos básicos para comprender la organización de los circuitos neuronales. Igualmente relevantes fueron los primeros estudios electrofisiológicos realizados por Sherrington (1897) que avalaron la teoría neuronal y demostraron la conducción del impulso nervioso y la existencia del retardo sináptico en el arco reflejo de la médula espinal. Por ello, Cajal y Sherrington son considerados como los grandes maestros fundadores de la Neurociencia actual. Este TFG presenta una revisión de los antecedentes históricos del descubrimiento de la sinapsis, así como una visión actualizada de algunos aspectos de la estructura, función y patología de la sinapsis.

## **ABSTRACT**

The synapsis is the most relevant and abundant structure of the vertebrate nervous system. The structural and functional concept of the synapsis is linked to two founding masters of the modern Neuroscience: Santiago Ramón y Cajal and Charles Sherrington. At the end of the XIX century, there was a strong controversy between two opposed theories on the organization of the nervous system. The Golgi's “reticular theory” stated that neuronal processes physically fused with each other as a diffuse protoplasmic network. On the other hand, Cajal (1888) formulated the “neuron theory” which interpreted neurons as morphological and functional units. Three years later, Cajal proposed the “law of dynamic polarity” which established that neurons are polarized cells. These two key concepts of Cajal provided us with the basic fundamentals for neuronal circuitry. For his part, Sherrington (1897) performed the pioneer electrophysiological experiments which support the “neuron theory”, by demonstrating the conduction of the nerve impulse and the synaptic delay in the reflex arch of the spinal cord. Therefore, Cajal and Sherrington are recognized as the fathers of modern Neuroscience. This TFG provides a review of the historical background of the discovery of synapsis, as well as some of the current essential aspects of its structure, function and pathology.

## 1. INTRODUCCIÓN

El término de “sinapsis”, acuñado por Charles Sherrington en 1897, hace referencia a un dispositivo específico de contacto interneuronal que permite la transmisión unidireccional de un impulso nervioso desde una neurona emisora, presináptica, a una neurona receptora, postsináptica. Esta transmisión está mediada por la liberación de un agente químico, el neurotransmisor, que regenera el impulso nervioso en la neurona postsináptica. La sinapsis es, sin duda, la estructura más importante del sistema nervioso de los vertebrados e invertebrados. En ella se fundamenta la concepción actual de nuestro cerebro como un sistema integrado de comunicación neural, formado por circuitos de neuronas interconectadas mediante contactos sinápticos que permiten la transmisión del impulso nervioso en las redes neuronales. El concepto estructural y funcional de la sinapsis está asociado a dos grandes científicos de finales del siglo XIX, Santiago Ramón y Cajal y el neurofisiólogo inglés Charles Sherrington. Curiosamente, ninguno de los dos pudo visualizar la estructura íntima de la sinapsis porque el microscopio óptico no tiene el poder de resolución suficiente para definir la estrecha “hendidura sináptica” que separa la membrana presináptica de la postsináptica. Fue necesario esperar a 1954 cuando Sanford Palay y George Palade, este último Premio Nobel de Medicina y Fisiología en 1974, mostraron la primera imagen de una sinapsis con microscopía electrónica y confirmaron definitivamente la independencia de las neuronas formulada en la Doctrina Neuronal de Cajal. La microscopía electrónica también demostró la existencia de “vesículas sinápticas” en los botones presinápticos donde, posteriormente, se descubrió que almacenaban los neurotransmisores. Analizado con perspectiva histórica, es necesario apuntar que Schäfer, en 1893, fue el primero en proponer que el impulso nervioso no salta de una neurona a la siguiente en los circuitos neuronales, sino que, muy probablemente, nuevos impulsos nerviosos son generados en las sucesivas neuronas de la cadena neural. (para revisión, ver Lafarga, 1994)

Con independencia de la enorme abundancia y trascendencia que tiene la sinapsis en la organización y función del sistema nervioso, no es sorprendente que esté afectada en la mayoría de las enfermedades neurológicas. Por ejemplo, la sinapsis es muy dependiente de la bioenergética neuronal, que debe suministrar el ATP requerido para la actividad bioeléctrica celular, y por ende de la mitocondria que, además de producir ATP, también contribuye a la homeostasis del calcio, un ión fundamental en la fisiología de la sinapsis. Por ello, la patología mitocondrial frecuentemente se asocia a alteraciones de la sinapsis. Hay también toxinas como la tetánica y botulínica cuya principal diana es la sinapsis al impedir la liberación de neurotransmisores. La disfunción en el ciclo de liberación y recaptación en la sinapsis de serotonina (un neurotransmisor) está asociada a la depresión, una patología cuya repercusión social y económica es enorme. Por todo ello, el diseño de nuevos fármacos que corrijan las disfunciones sinápticas es uno de los retos más importantes en el campo de la Neurología y Neurofarmacología. (para revisión, ver Lafarga, 1994; Ferrus, 2006)

En este trabajo de revisión de la sinapsis interneuronal vamos a analizar los antecedentes históricos que han servido de base a nuestro conocimiento

actual de la sinapsis, así como las bases estructurales y funcionales de lo que probablemente es la estructura más relevante del sistema nervioso. Finalmente, comentaremos un modelo de disfunción de la sinapsis producido por la toxina botulínica cuya gravedad dosis dependiente puede conducir a la muerte.

## **2. METODOLOGÍA**

Este Trabajo de Fin de Grado (TFG) ha sido planteado en forma de revisión bibliográfica, basándose fundamentalmente en artículos indexados en PubMed y publicaciones monográficas sobre la neurona y sinapsis. En particular, la bibliografía revisada se ha centrado en: i) los antecedentes históricos sobre la controversia entre la doctrina neuronal y la hipótesis reticularista de finales del siglo XIX; ii) la organización estructural y molecular de la sinapsis; iii) el ciclo de las vesículas sinápticas en la exocitosis vesicular y iv) un modelo de patología de la sinapsis inducido por la toxina tetánica. Dicha revisión ha sido complementada con el análisis de microscopía electrónica de diversos tipos de sinapsis en muestras de diferentes regiones del SNC un modelo experimental de SMA, de las que se han obtenido algunas de las imágenes presentadas en este TFG.

## **3. LA DOCTRINA NEURONAL DE CAJAL**

Las neuronas son unas células muy especializadas cuyas características morfológicas y propiedades funcionales únicas les permiten realizar la recepción, generación y propagación de impulsos nerviosos. Además, presentan unos dispositivos específicos de contacto intercelular, conocidos como sinapsis, que son necesarios para la transmisión interneuronal y unidireccional de impulsos nerviosos en los circuitos celulares.

En el año 1865, el neuroanatomista alemán Otto Friedrich Karl Deiter fue el primero en observar la morfología global de una motoneurona de gran tamaño de la medula espinal de buey, utilizando técnicas de microdissección con agujas. Deiter fue capaz de diferenciar las distintas partes de la neurona: el cuerpo o soma y dos tipos de prolongaciones citoplasmáticas: las dendritas y el axón. Sin embargo, el término “neurona” fue acuñado posteriormente, en 1891, cuando fue introducido por Waldeyer, al igual que el término neuroaxón o axón que es introducido por Koelliker en 1896. (Ferrus, 2006).

Durante la segunda mitad del siglo XIX se vivió en el campo de la histología una disputa entre dos hipótesis contrapuestas. Por un lado, la “hipótesis reticular”, que era la más aceptada en aquella época además de ser defendida por grandes científicos como Golgi y Gerlach. Según esta hipótesis, el sistema nervioso estaba conformado por una red neuronal continua, dando lugar a una trama sincitial de citoplasma celular. Por otra parte, se encontraba la hipótesis de la “libre terminación” de las prolongaciones neuronales, menos compartida pero apoyada tímidamente por algunos científicos como His o Forel. Hay que tener en cuenta que en aquella época no existía ninguna prueba morfológica que inclinase la balanza hacia una de estas dos hipótesis; sin embargo, la hipótesis reticular de una red continua presentaba la aparente ventaja funcional frente a la “libre terminación” de que la propagación de impulsos sería más rápida y fácil. (Ferrus, 2006).



*Fig. 1. Retrato de Santiago Ramón y Cajal, 1901.*

En este contexto histórico, Cajal (Figura 1), en 1887, aplica las técnicas de impregnación argéntica al estudio del tejido nervioso, particularmente el método cromo-argéntico descubierto por Camilo Golgi, de la mano de un psiquiatra madrileño, Luis Simarro, que aprendió esta metodología en una estancia en un laboratorio de París. En 1888, recién incorporado a la cátedra de Histología e Histoquímica de la Universidad de Barcelona, Cajal pone su empeño en intentar aportar una base objetiva a la hipótesis de libre terminación, y por ende finalizar de una vez por todas con esta disputa que se estaba dando en el campo de la neurobiología, como queda muy bien expresado en su libro “Recuerdos de mi vida” (Cajal, 1923). Para ello, necesitaba demostrar de manera inequívoca la presencia de ramas terminales libres en las dendritas y axones de las neuronas del SNC, que hasta ese momento

había sido imposible, y la existencia de contactos interneuronales, con la finalidad de establecer los patrones de conectividad entre neuronas de los diferentes centros nerviosos. Para llevar a cabo esta ardua tarea se apoyó en dos pilares fundamentales: el perfeccionamiento del método de tinción de Golgi y la aplicación del “método ontológico o embriológico”. Con el perfeccionamiento del método de tinción de Golgi o tinción cromo-argéntica, Cajal fue capaz de teñir de forma aleatoria algunas neuronas y visualizar, por fin, completamente la morfológica neuronal, incluidas las prolongaciones más finas de las dendritas y de algunos axones. El segundo pilar fue la aplicación del “método ontogénico o embriológico”, que le fue de gran ayuda para el estudio neuronal, dado que la gran complejidad de la estructura neuronal de los centros nerviosos del adulto hacía muy complicado su estudio morfológico. Cajal decidió realizar su estudio en neuronas que se encontraban en una etapa más temprana de su maduración, en el periodo fetal tardío o en el postnatal temprano, cuando el patrón estructural era mucho más sencillo pero las neuronas ya habían establecido su conectividad sináptica. Otro problema fundamental que se encontró cuando se puso a estudiar las neuronas en la etapa adulta era que los axones mielinizados de las neuronas de proyección eran refractarios a la impregnación con el método de Golgi. Cajal resolvió este obstáculo estudiando las neuronas de edad más temprana (fetales y postnatales), antes de la mielinización del axón. Con este proceder pudo visualizar completamente la morfológica y distribución de los axones de las grandes neuronas de proyección, a la vez que establecer su conectividad con otras neuronas. Cajal (1923) explica la importancia del método ontogénico para el estudio del tejido nervioso con la siguiente metáfora: “El medio más natural y sencillo al parecer, pero en realidad el más difícil, consiste en explorar intrépidamente la selva adulta, limpiando el terreno de arbusto, plantas parásitas, y asilando cada especie arbórea tanto de sus parásitos como de sus congéneres. ....Mas semejante táctica resulta poco apropiada a la dilucidación del problema propuesto, a causa de la enorme longitud y extraordinaria frondosidad del ramaje nervioso, que inevitablemente aparece mutilado y casi indescifrable en cada



corte... Puesto que la selva adulta resulta impenetrable e indefinible, ¿Por qué no recurrir al estudio del bosque joven, como si dijéramos, en estado de vivero?...Escogiendo bien la fase evolutiva las células nerviosas, relativamente pequeñas, destacan integradas dentro de cada corte; las ramificaciones terminales del cilindro eje dibujanse clarísimas y perfectamente libres; los nidos intercelulares, es decir las articulaciones interneuronales, aparecen sencillas, adquiriendo gradualmente intrincamiento y extensión; en suma surge ante nuestros ojos, con admirable claridad y precisión, el plan fundamental de la composición histológica de la sustancia gris”. Toda esta metáfora nos hace concluir que el perfeccionamiento de la técnica de Golgi y la aplicación del método ontogénico permitieron a Cajal obtener unos resultados excelentes que le llevaron a observar y caracterizar con gran precisión neuronas completas y morfológicamente bien definidas en diferentes centros nerviosos y en diferentes vertebrados. Además le sirvió para demostrar los patrones específicos de la conectividad interneuronal en distintos centros nerviosos y realizar esquemas de la organización estructural de diferentes circuitos neuronales. (Ferrus, 2006).

Cajal aporta una demostración irrefutable a la hipótesis de las “terminaciones libres” y formula, en 1888, su “Doctrina Neuronal”, que establece la independencia morfológica de las neuronas y la existencia de contactos, pero no continuidad, entre neuronas como un mecanismo de transmisión del impulso nervioso. En realidad, la Doctrina Neuronal postula la aplicación al tejido nervioso de la “Teoría Celular”, que establece que las células son unidades morfológicas, funcionales y genéticas de los seres vivos. La presentación internacional de la Doctrina Neuronal se realizó en 1894 en la “Croomian Lecture” de la “Royal Society of London”, invitado por el neurofisiólogo Charles Sherrington, un gran valedor de la obra científica de Cajal.

La “Doctrina neuronal de Cajal” formulaba una serie de principios que rigen la morfología y las conexiones de las células nerviosas, los cuales son: (Cajal, 1923; Lafarga & Berciano, 1983; Lafarga, 1994; Lafarga, 2018)

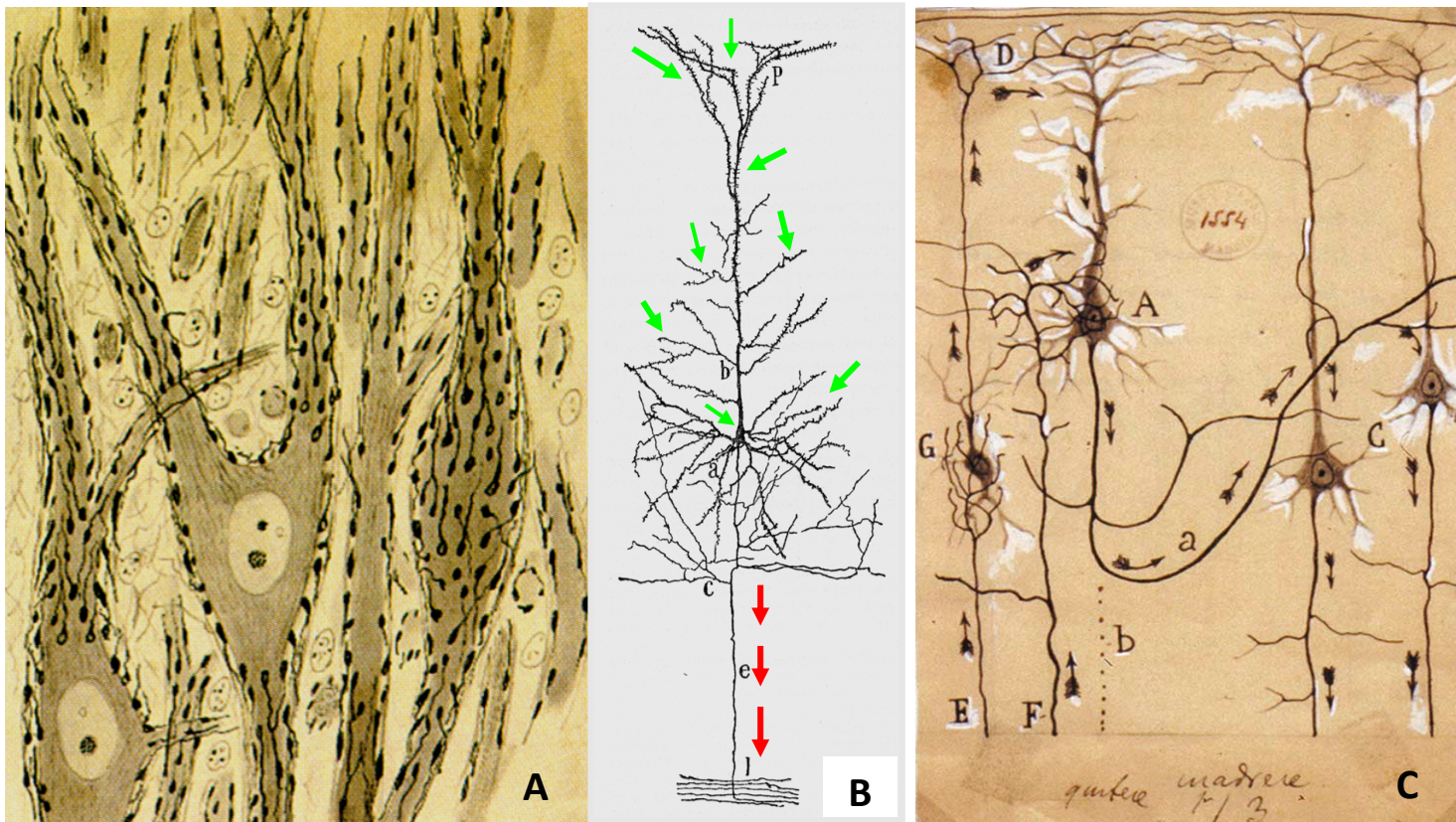


Figura 2. A. Esquema de Cajal ilustrando la presencia de numerosas terminaciones libres axonales contactando sobre el cuerpo y dendritas de otras neuronas de la corteza cerebral. B. Esquema de Cajal de una neurona piramidal sobre la que se muestra con flechas la dirección del impulso nervioso. C. Esquema de Cajal de un circuito neuronal en la corteza cerebral ilustrando con flechas la dirección del impulso nervioso.

**Primero:** Las ramificaciones colaterales y terminales de todo axón acaban en la sustancia gris de forma libre.

**Segundo:** Las ramificaciones colaterales y terminales se relacionan íntimamente con el cuerpo o dendritas de otra neurona, dando esto lugar a un contacto entre la neurona emisora y la receptora del impulso nervioso.

**Tercero:** Al abolirse de la hipótesis de la red continua del sistema nervioso, se estima que el impulso nervioso se transmite de una neurona a otra por contacto o por una suerte de inducción.

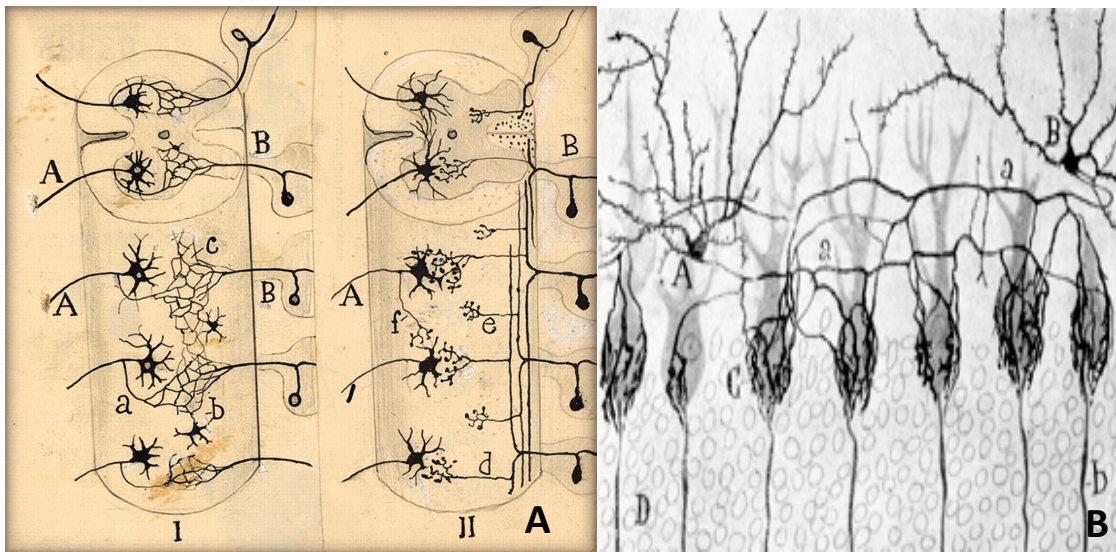
Estos cuatro principios fueron posteriormente ampliados y completados con la formulación, en 1891, de la “Ley de la Polaridad Dinámica de las Neuronas” (Figura 2) en la que Cajal enuncia los siguientes principios:

**Primero:** La transmisión nerviosa siempre va desde las ramas protoplasmáticas y cuerpo celular hacia el axón o expansión funcional, con lo que se puede concluir que toda neurona posee un aparato de recepción y de emisión de impulsos.

**Segundo:** El soma y las dendritas poseen conducción axípeta, mientras que el axón posee conducción somatófuga.

La ley de la polaridad dinámica tuvo una gran trascendencia en la época ya que permitió trazar la dirección y trayectoria del impulso nervioso, maravillosamente representada por Cajal con sus famosas “flechas” que ilustran sus dibujos de los circuitos neuronales en diferentes centros nerviosos, tales como el cerebelo, corteza cerebral, hipocampo, médula espinal o retina.

En 1906 Cajal fue galardonado con el Premio Nobel en Medicina y Fisiología, compartido con Camilo Golgi, en reconocimiento de sus descubrimientos sobre la estructura y conexiones de los centros nerviosos. Con motivo de esta concesión, en la conferencia que impartió en el Instituto Carolino en Diciembre de 1906, ante el Comité Científico del Nobel, Cajal presentó varios dibujos esquemáticos que ilustraban su Doctrina Neuronal en contraposición de la hipótesis reticularista de Camilo Golgi (Figura 3).



*Fig. 3. A. Esquema de Cajal de la médula espinal en el que ilustra las dos concepciones de la época utilizando el modelo de las motoneuronas espinales. A la izquierda la hipótesis reticular y a la derecha su teoría neuronal con las terminaciones libres de las dendritas y el axón. B. Esquema de Cajal de una neurona en cesto de la corteza cerebelosa cuyo axón establece contactos, en forma de cesto, con múltiples cuerpos neuronales de Purkinje.*

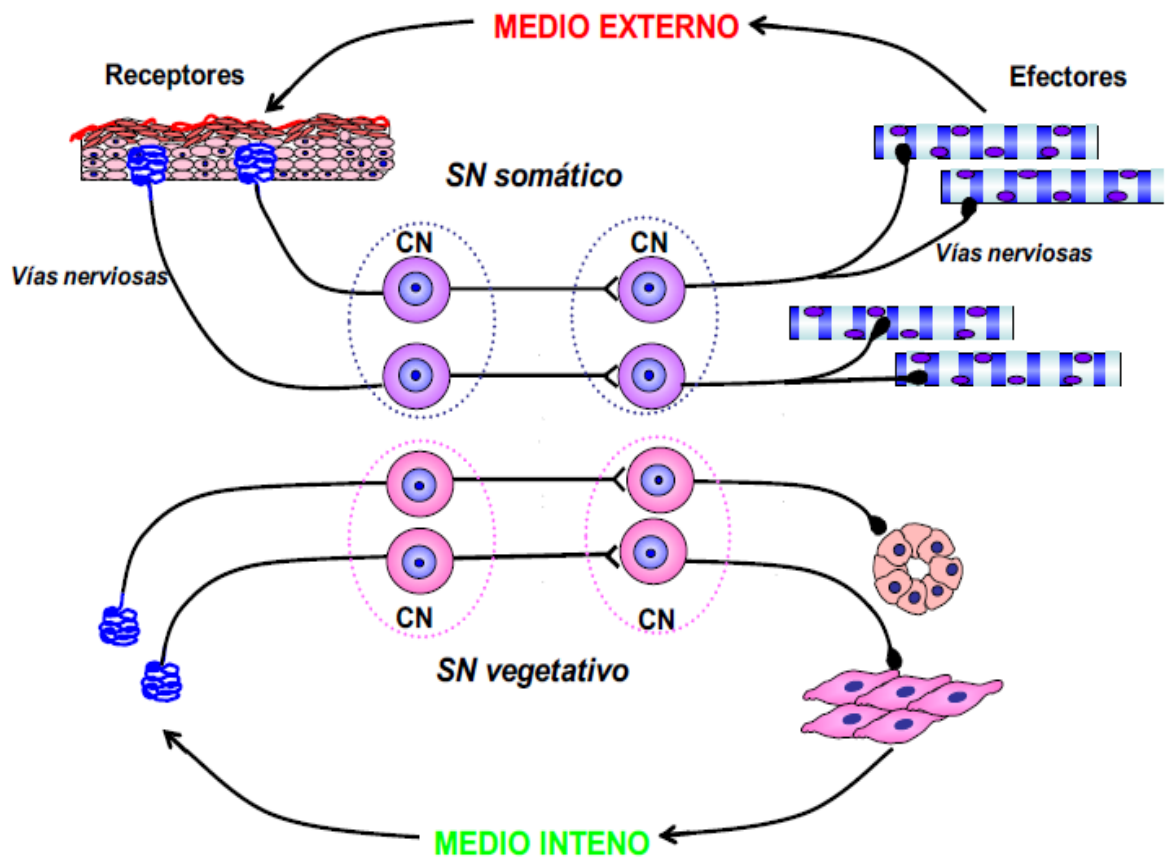
En este contexto histórico, debemos resaltar la importancia del encuentro de Cajal con Sherrington con motivo de la impartición de la Croonian Lecture en 1892. Sherrington hospedó a Cajal en su casa, le ayudó con algunos temas para su conferencia y mostró un gran interés por las observaciones de Cajal. De hecho, realizó algunos experimentos electrofisiológicos sobre el arco reflejo medular que demostraban la existencia de un enlentecimiento en la conducción del impulso nervioso cuando se intercalaba un contacto interneuronal, efecto que conocemos en la actualidad como retardo sináptico. Esto claramente avalaba la idea de Cajal de la independencia neuronal y descartaba la existencia de una conducción continua del impulso nervioso apoyada por los partidarios de la hipótesis reticularista. Sherrington integra las bases estructurales, apoyado en las observaciones de Cajal, y funcionales del contacto interneuronal para acuñar el nombre de “sinapsis”, que aparece publicado por vez primera en su libro “A Text Book Physiology” publicado en 1897.

La demostración inequívoca de la existencia de una separación física entre la neurona presináptica y la postsináptica tuvo que esperar a la incorporación de la alta resolución de la microscopía electrónica en la década de los 50 del siglo XX. En efecto, en 1954 dos grandes científicos, Sanford Palay y George Palade, mostraron por primera vez una imagen de sinapsis interneuronal en la corteza cerebelosa (Palade & Palay, 1954). En ella se demostraba claramente la existencia de una separación física, de 20nm a 30nm, entre el elemento presináptico y el postsináptico, confirmándose definitivamente la Doctrina Neuronal de Cajal (Lafarga, 1994, Ferrus, 2006).

#### **4. ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO COMO UN SISTEMA DE COMUNICACIÓN NEURAL**

El sistema nervioso, conjuntamente con el sistema endocrino, constituyen los dos grandes sistemas que, a nivel sistémico, coordinan el funcionamiento de las células de los tejidos y órganos. El sistema nervioso se configura como un sistema de comunicación neural que controla las interacciones del individuo con el medio ambiente, además de intervenir en el funcionamiento de los órganos. Podemos considerar al sistema nervioso desde un punto de vista anatómico o funcional:

- Anatómicamente diferenciamos 2 partes: el Sistema Nervioso Central (SNC), formado por el encéfalo y la medula espinal, y el Sistema Nervioso Periférico (SNP) formado por los nervios, ganglios, plexos nerviosos y receptores. A su vez el SNC está compuesto de dos tipos de tejidos: la sustancia gris que representa los centros nerviosos, y la sustancia blanca que forma las vías nerviosas del SNC (Porrero & Hurlé, 2014)
- Funcionalmente se trata de un Sistema de Comunicación Neural (SCN), el cual tiene la función de controlar las interacciones del individuo con el medio ambiente que le rodea y contribuir a la regulación del medio interno (sistema nervioso vegetativo o autónomo) (Figura 4A).



Cortesía de Maite Berciano (2012)

Fig. 4A. Esquema que representa la organización del sistema nervioso como un sistema de comunicación neural. Cortesía de Maite Berciano, 2012.

#### 4.1. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

El sistema nervioso central (SNC) como ya hemos dicho está conformado por 2 partes: encéfalo y medula espinal. Por su parte el encéfalo puede dividirse en 3 regiones: cerebro, tronco del encéfalo y cerebelo.

El tronco del encéfalo constituye una zona de comunicación entre el encéfalo y la medula espinal, además en este se originan los eferentes somáticos y viscerales de los nervios craneales y la formación de circuitos para la regulación de actos motores reflejos.

El cerebelo tiene como principal función modular y coordinar la actividad de las vías motoras que provienen de la corteza cerebral y del tronco del encéfalo.

Por último, el cerebro, que comprende el telencéfalo y el diencéfalo. En él se realizan múltiples funciones, como son el control de las funciones de las glándulas endocrinas, la regulación de funciones sensitivas y motoras, procesos de asociación, aprendizaje y memoria, además de otros múltiples procesos cognitivos. (Redolar, 2014)

## 4.2. SISTEMA NERVIOSO PERIFERICO

Este sistema forma parte i) del sistema nervioso autónomo (Figura 4B), que se encarga la regulación de funciones internas del organismo, tales como el control de la motilidad del tubo digestivo, de la tensión arterial y de la secreción de múltiples glándulas exocrinas, y ii) del sistema nervioso somático, que recoge información sensorial del medio externo, por medio de receptores especializados, y transmite la respuesta motora a los músculos esqueléticos por medio de los nervios motores. (Redolar, 2014)

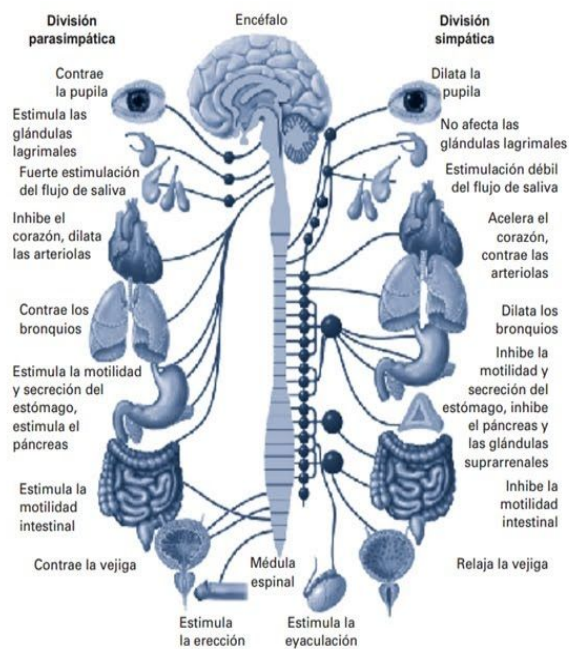


Fig. 4B: Esquema del sistema nervioso autónomo

## 4.3. ORGANIZACION DEL SISTEMA DE COMUNICACIÓN NEURONAL

El sistema de comunicación neural (SCN) incluye una serie de partes: receptores, vías nerviosas, centros nerviosos y efectores, todos ellos son necesarios para llevar a cabo su función.

Los receptores se encargan de recibir la información de los estímulos de nuestro medio interno o de nuestro medio ambiente externo y transformarlos en señales bioeléctricas codificadas que se envían a los centros nerviosos. Esta función es la desempeñada por las células sensoriales especializadas de los órganos de los sentidos y de terminaciones nerviosas sensitivas que recogen y transmiten las señales bioeléctricas a los centros nerviosos por medio de vías sensitivas.

Los centros nerviosos están formados por agrupaciones de neuronas, con sus múltiples conexiones sinápticas, de la sustancia gris y de los ganglios nerviosos del SNP. Los centros nerviosos reciben la información de los receptores y de otros centros nerviosos, procesan la información y la contrastan con la información previamente almacenada en la memoria para, finalmente, dar lugar a una respuesta que será enviada al órgano efector o a otro centro nervioso.

Los efectores son los encargados de ejecutar la respuesta elaborada por los centros nerviosos, gracias a que reciben las señales bioeléctricas enviadas por estos últimos mediante terminaciones nerviosas específicas. Dentro de los efectores nos encontramos a los músculos esqueléticos y las fibras musculares lisas viscerales y las glándulas.

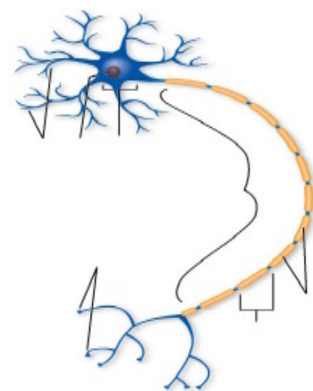
Las vías nerviosas son las estructuras encargadas de conducir la información en forma de señales bioeléctricas. Conectan tanto los receptores con los centros nerviosos, como los centros nerviosos entre si y estos últimos con los efectores. Las vías nerviosas están formadas por fascículos de fibras nerviosas constituidas por los axones neuronales envueltos en una capa de mielina producida por las células de Schwann, en el SNP, o por los oligodendrocitos, en el SNC. Estructuralmente están representadas por la sustancia blanca, en el SNC y por los nervios, en el SNP.

Como establecieron Cajal (1923) y Sherrington (1897) los centros nerviosos están interconectados sinápticamente formando circuitos neuronales que procesan de manera integrada la información neural. La conexión sináptica entre neuronas de distintos centros nerviosos se establece por medio de los axones mielinizados (fibras mielínicas) de neuronas de proyección que viajan por la sustancia blanca. En el SCN el mensaje se transmite con una gran rapidez, en milésimas de segundo, bajo la forma de impulsos nerviosos con una frecuencia y amplitud determinadas. La conducción se interrumpe en las regiones presinápticas e induce la liberación de un neurotransmisor que regenera un nuevo impulso nervioso en la región postsináptica, lo que justifica la existencia de un retardo sináptico, conforme a la Doctrina Neuronal de Cajal que establece la independencia de las neuronas. El funcionamiento del SNC es muy rápido y eficiente y permite una eficaz y permanente interacción del individuo con su medio ambiente, determinando su conducta psíquica y motora. El cerebro humano es el máximo exponente en la evolución de un SCN. Pero su enorme complejidad y eficacia es energéticamente muy cara. Se estima que en condiciones basales el cerebro humano que representa aproximadamente el 2,4% del peso corporal, en un individuo de peso medio, consume el 20% del oxígeno de la respiración y el 25% de la glucosa, el principal metabolito energético del cerebro, para producir una cantidad muy elevada de ATP. Este elevado consumo de energía es necesario fundamentalmente para sostener la actividad bioeléctrica neuronal, particularmente para mantener el potencial de membrana y generar y propagar impulsos bioeléctricos (Redolar, 2014; Bear, 2015).

## 5. SINAPSIS: CONCEPTO Y CLASIFICACIÓN

Antes de comenzar con el estudio de las sinapsis, vamos a comentar brevemente las características y clasificación de las neuronas atendiendo a varios criterios fundamentales.

Las neuronas son células postmitóticas (G0) muy especializadas, que tienen la propiedad de la excitabilidad que les permite generar y propagar impulsos nerviosos. Como ya hemos comentado anteriormente son unidades morfológicas y funcionales que se relacionan con otras neuronas por medio de las sinapsis. Su estructura básica está formada por un cuerpo o soma y dos tipos de prolongaciones celulares: axón y dendritas (Figura 5).



*Fig. 5. Esquema de una neurona de proyección que ilustra las partes de una neurona: el cuerpo o soma neuronal, múltiples dendritas*





Como se ha comentado anteriormente, el término “sinapsis viene a designar el mecanismo de comunicación entre dos o más neuronas (Figura 8), con el fin de transmitir impulsos nerviosos destinados a coordinar una función en el organismo y cuya comunicación se realiza sin continuidad física entre la neurona presináptica y la postsináptica. Prácticamente, todas las funciones del sistema nervioso dependen de las sinapsis, que son los sitios de comunicación entre las neuronas, y entre las neuronas y otras células efectoras. Las sinapsis son complejas estructuras, cada una compuesta por centenares de diferentes tipos de moléculas trabajando en armonía. Además, podemos concluir que las sinapsis son estructuras morfológica- y funcionalmente dinámicas, que se pueden remodelar, formar *de novo* o eliminarse en función de los diferentes niveles de estimulación y actividad del sistema nervioso, como ocurre con las espinas dendríticas, estructuras postsinápticas que se remodelan dinámicamente en los procesos de aprendizaje. (Peters et al., 1991; Bear, 2015; Silverthorn, 2007).



Fig. 8. Imagen de microscopía electrónica de una sinapsis química axosomática.

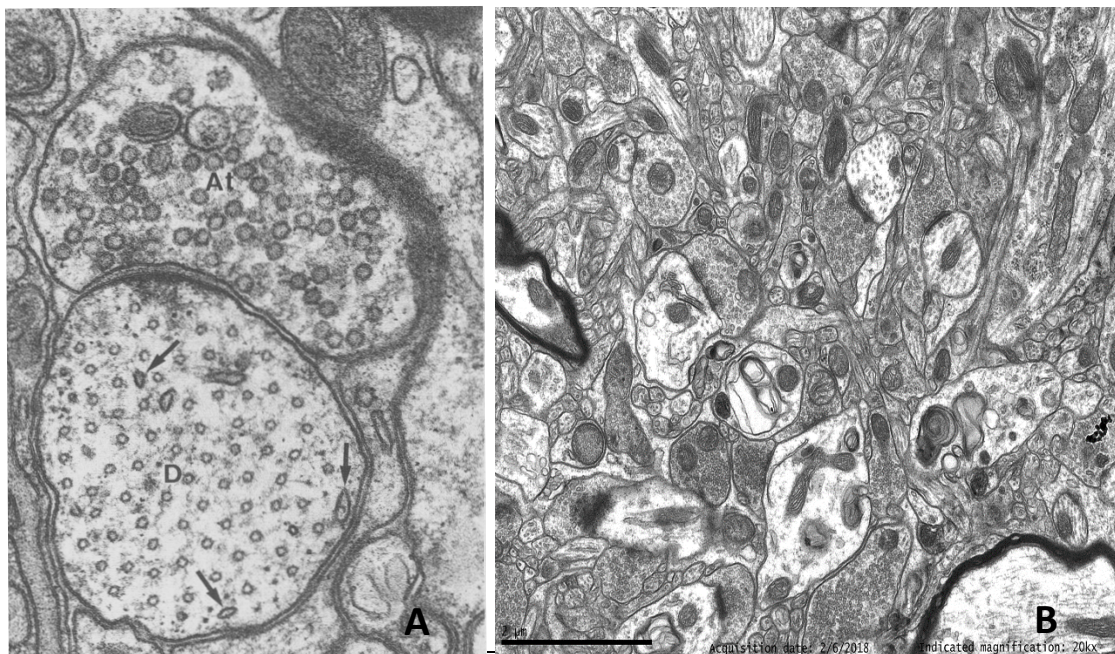
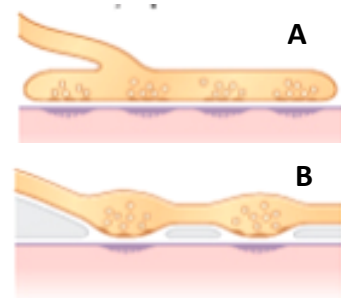


Fig. 9. Ultraestructura de la sinapsis química. A. Sinapsis axodendrítica. El elemento presináptico alberga numerosa veículas sinápticas. En el elemento postsináptico destaca la densidad de la membrana postsináptica. El tronco dendrítico muestra numerosos neurotúbulos. Cortesía de Ennio Panesse, 1997. B. Panorámica del neuropilo de la sustancia gris de la médula espinal mostrando la existencia de numerosas sinapsis químicas. (Asteriscos).

Las sinapsis se pueden clasificar atendiendo a diferentes criterios, uno de los más importantes hace referencia a cómo se realiza la transmisión del impulso nervioso, pudiendo ser ésta mediante la liberación de agentes químicos conocidos como neurotransmisores, las **sinapsis químicas**, o por corriente iónica, las **sinapsis eléctricas**. La inmensa mayoría de las sinapsis pertenecen

a la categoría de sinapsis químicas (Figura 9) y, por defecto, cuando hablamos genéricamente de sinapsis siempre nos referimos a las sinapsis químicas. En este TFG se centrará en la organización sinapsis químicas que se irá explicando en sucesivos apartados. No obstante, voy a hacer una breve presentación de las sinapsis eléctricas. Su fundamento estructural y funcional es una unión intercelular comunicante en la que las membranas plasmáticas de las neuronas pre- y postsináptica están conectadas por una unión en hendidura (tipo “gap”). La unidad estructural consiste en un conjunto de hemicanales de las dos membranas plasmáticas, conocidos como conexones, que están íntimamente acoplados. Cada hemicanal es un complejo macromolecular compuesto de seis proteínas, conocidas como conexinas, que delimitan un canal acuso central de aproximadamente 1,5nm de diámetro que permite el paso de iones y pequeñas moléculas (para revisión, ver Alberts et al., 2015). Gracias a la presencia de estos canales interneuronales, el flujo de iones sodio que acompaña a la despolarización puede pasar de la neurona pre- a la postsináptica sin retardo sináptico. Otra peculiaridad de las sinapsis eléctricas es que la transmisión del impulso nervioso puede ser bidireccional. Por lo general las sinapsis eléctricas, aunque son muy escasas se observan con más frecuencia en invertebrados. Sin embargo, de manera muy minoritaria pueden localizarse en algunos centros nerviosos de vertebrados, particularmente en la retina (Peters et al., 1991).

Otro criterio importante para la clasificación de las sinapsis se refiere a la porción del axón que establece el contacto. Obviamente el axón tiene que estar desprovisto de mielina para poder establecer el contacto internuronal. En la mayoría de los casos los elementos presinápticos se encuentran en los extremos libres de la porción terminal del axón, formando pequeñas dilataciones que se conocen como botones terminales o sinápticos. Menos frecuentemente, el elemento presináptico forma múltiples varicosidades localizadas a lo largo del axón (Figuras 10, 11), conocidas como sinapsis de paso (“en pasant”). Estas sinapsis de paso son relativamente abundantes en los axones no mielinizados de las interneuronas. En el segmento principal mielinizado de los axones de las neuronas de proyección se pueden formar sinapsis a nivel de los Nodos de Ranvier, pero son muy raras (Lafarga & Berciano, 1983).



*Fig. 10. A. Esquema de botón sináptico. B. Esquema de sinapsis de paso en el axón de una interneurona. Netter's Histology, 2002.*

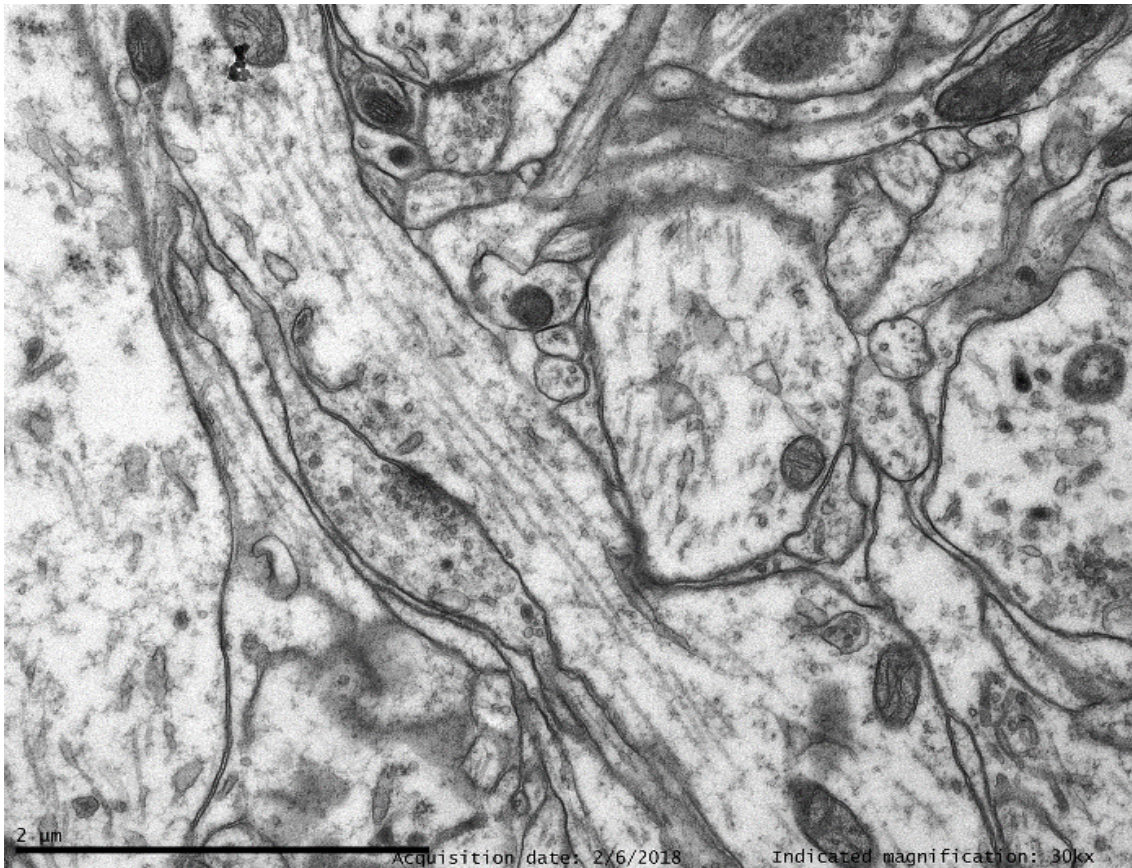


Fig. 11. Microscopia electrónica de una sinapsis de paso sobre un tronco dendrítico. El axón, muy delgado, muestra una dilatación varicosa en la región presináptica que acumula vesículas sinápticas (asterisco).

Por otra parte, las sinapsis pueden clasificarse según la porción de la neurona donde se produce la recepción del contacto sináptico (Figura 12), las dividiremos en:

- Axo-dendríticas: sobre troncos dendríticos lisos y espinas dendríticas, siendo estas últimas las más numerosas.
- Axo-somáticas: sobre el soma neuronal
- Axo-axonicas: sobre el segmento inicial del axón, son inhibitorias.

En el caso de las sinapsis eléctricas y, muy excepcionalmente en las sinapsis químicas, el componente presináptico puede no estar localizado en el axón, dando lugar a sinapsis: dendro-dendríticas, somato-somáticas y dendro-somáticas, todas ellas muy raras.

Otros criterios adicionales se han establecido para la clasificación de las sinapsis. Así, por ejemplo, Gray (1959), que fue el primero en clasificar las sinapsis del

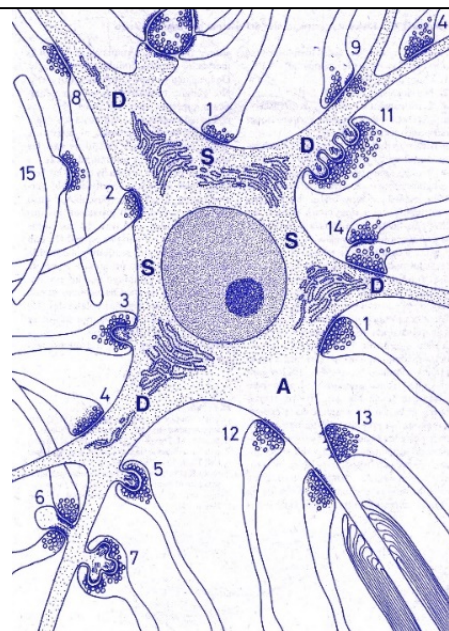


Fig. 12. Esquema de la distribución de las sinapsis sobre diferentes porciones de la neurona. Cortesía de Krstic, 1979

córtex cerebral, hizo una clasificación basada en las características ultraestructurales de la unión sináptica, estableciendo dos categorías de sinapsis: Tipo 1 y Tipo 2. Las sinapsis Tipo 1 presentaban una hendidura sináptica ensanchada, con una distancia entre la membrana presináptica y postsináptica de aproximadamente 20 nm, y una densidad postsináptica muy prominente. Por su parte, las sinapsis Tipo 2 tienen una hendidura sináptica más estrecha, con una distancia entre la membrana presináptica y postsináptica de alrededor de 12 nm, además de una menor densidad postsináptica. Años más tarde, en 1968, esta clasificación fue revisada y se llegó a la conclusión que los dos tipos de sinapsis anteriormente comentados representaban los dos extremos de un continuo morfológico, con lo que se cambió la clasificación a **sinapsis simétricas** y **asimétricas**, que se diferencian por el espesor de la densidad postsináptica, siendo ésta mayor en las sinapsis asimétricas que en las simétricas (Gray, 1959; Colonnier, 1968)

## 6. ESTRUCTURA DE LA SINAPSIS

La estructura de la sinapsis comprende tres regiones bien diferenciadas: la **región presináptica**, la **región postsináptica** y la **hendidura sináptica**.

### 6.1 LA REGION PRESINAPTICA

Se conoce como región presináptica aquella porción del axón que es la encargada de establecer el contacto sináptico. Está formada por la membrana presináptica y la densidad presináptica, además de una serie de estructuras que se concentran en esta región. Como ya hemos visto anteriormente en la clasificación de las sinapsis no son siempre las terminales axonales las que realizan la función de región presináptica.

Cuando la región presináptica se encuentra en la parte terminal del axón, esta zona se dilata formando una estructura conocida como **botón sináptico**. Además, la porción de botón sináptico que se encuentra en relación con la hendidura sináptica es conocida como la **membrana presináptica**.

Utilizando tinciones especiales para microscopía electrónica con ácido fosfotúngstico, la membrana presináptica se visualiza como una “rejilla” con proyecciones densas que delimitan unos huecos donde se disponen las vesículas sinápticas. Tales proyecciones densas que forman la rejilla presináptica contienen las proteínas syntaxina y Snap25, dos componentes del complejo SNARE que actúan como SNAREt (t de “target”), que intervienen en el anclaje de las vesículas sináptica a la membrana presináptica. Las proyecciones densas también pueden observarse mediante la tinción con acetato de uranilo, que ha permitido demostrar que tienen un diámetro de alrededor de 60 nm y una interdistancia entre ellas de aproximadamente 100 nm. Cabe destacar, como es lógico, que esta “rejilla” sólo se encuentra en las áreas de sinapsis donde se agregan las vesículas sinápticas que van a ser liberadas, una región conocida como la “**zona activa**” del complejo sináptico. Además de los métodos comentados anteriormente han ido apareciendo, a lo largo de los años, otras técnicas para el estudio de la sinapsis. Entre ellas, ha adquirido especial importancia la tomografía crioeléctrica. Se trata de una técnica de microscopía electrónica de transmisión que permite preservar la estructura nativa de la

sinapsis en condiciones de congelación por vitrificación y de alto vacío, sin la necesidad de tratar las muestras con agentes químicos o contrastarlas con metales (Peters et al., 1991).

Es destacable el estudio de Akert y colaboradores (poner Referencia, año) que demuestra con gran precisión la estructura de la densidad presináptica en muestras de microscopía electrónica de tejido nervioso perfundido con soluciones de aldehídos y contrastadas con acetato de uranilo y citrato de plomo. Este estudio confirmó la estructura hexagonal que conformaban las vesículas atrapadas en la rejilla presináptica, además de demostrar que las proyecciones que conformaban la red se proyectaban hacia el citoplasma de los elementos presinápticos y se unían por puentes cruzados filamentosos, por lo que visualmente se observaba una proyección densa rodeada por seis vesículas en formación más o menos hexagonal. A este ensamblaje de vesículas alrededor de una proyección densa la llamaron rejilla vesicular presináptica. Los autores llegan a la conclusión final de que el número de vesículas en la rejilla presináptica estaba directamente relacionado con la actividad sináptica. Además del anclaje de vesículas sinápticas, la zona activa se caracteriza por la presencia de una red de finos filamentos, preferentemente de actina, que se extienden en la cara citosólica de la membrana presináptica. Tales filamentos interaccionan con las vesículas sinápticas y se cree que están implicados en guiar a las vesículas sinápticas a los sitios de fusión vesicular. Otro elemento característico de la zona activa son los canales de calcio voltaje dependientes, que están ordenados en la proximidad de los sitios de fusión vesicular (Ackerman et al., 2015). El citoesqueleto de finos filamentos de actina interacciona con varias proteínas implicadas en el anclaje de las vesículas sinápticas y en el proceso de exocitosis vesicular, entre ellas destacan Mun13, Mun18, Piccolo, Bassoon y Rim (Garner & Nash, 2001).

En 2015, Akert y colaboradores, continuando su estudio de la rejilla presináptica, observaron una pequeña depresión circular que denominaron sinaptoporo y llegan a la conclusión que dicha depresión era en realidad un sitio para la fijación de vesículas sinápticas. Este hallazgo fue aceptado y dio lugar a que Triller y Korn demostraran variaciones de los espacios entre las proyecciones densas dependientes del ciclo de exocitosis/endocitosis de las vesículas en la membrana presináptica (Peters et al., 1991; Bear, 2015).

Una vez analizada la estructura de la rejilla de la membrana presináptica, vamos a continuar con otra parte fundamental de la región presináptica, las organelas presinápticas. Comenzaremos por las mitocondrias las cuales normalmente se encuentran en el botón terminal del axón. Su función no es completamente conocida, aunque obviamente su papel fundamental sea la de proveer de energía (ATP) para la realización de la transmisión sináptica. La energía es necesaria para realizar múltiples procesos como el mantenimiento del i) potencial de membrana, ii) transporte axonal y iii) ciclo vesicular, así como la realización de diferentes actividades enzimáticas dependiente de ATP, como la síntesis local de algunos neurotransmisores y su transporte al interior de las vesículas sinápticas (rellenado vesicular). Aunque hemos dicho que las mitocondrias se encuentran frecuentemente en el botón terminal, no en todos los axones hay la misma cantidad, su número es mayor en los axones de mayor tamaño con elevada actividad sináptica. Pero es muy importante tener en cuenta

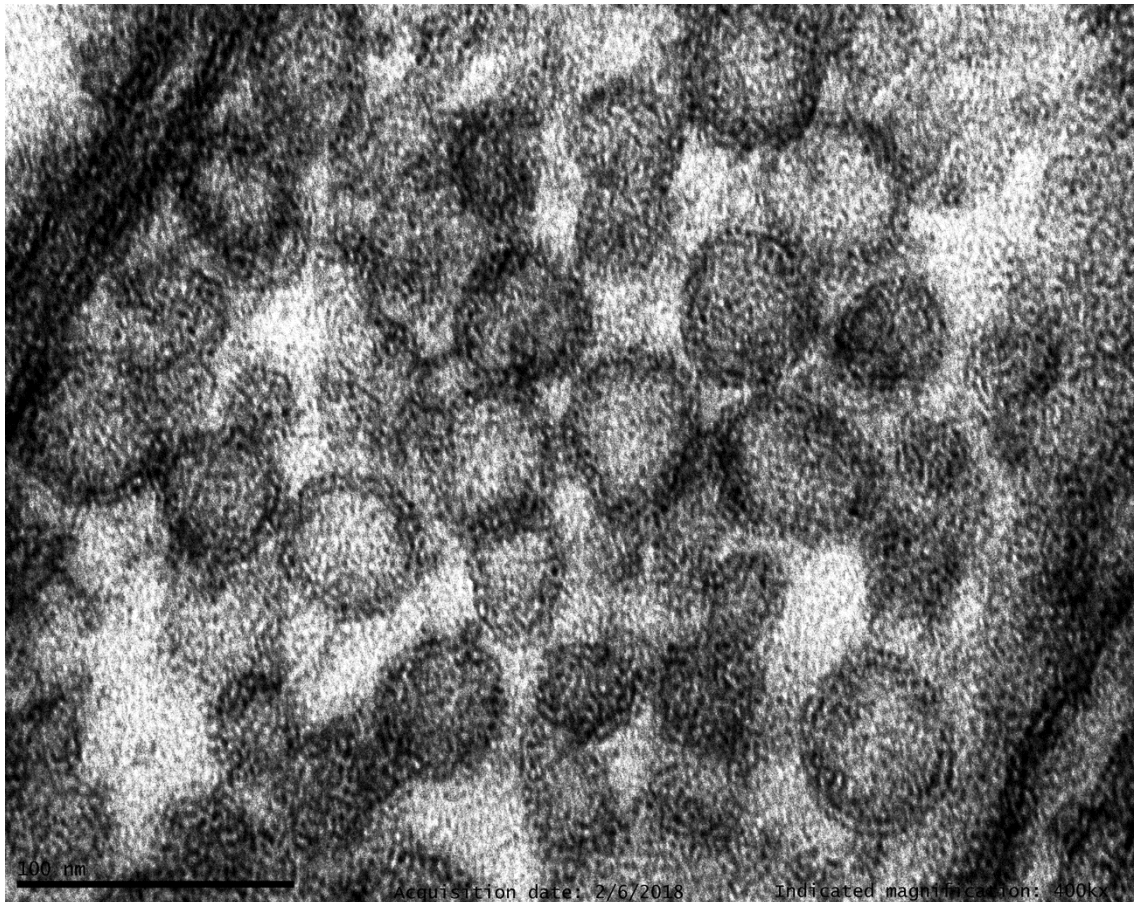
que las mitocondrias son organelas muy dinámicas que se desplazan hacia o desde la región presináptica por los flujos axónicos anterógrado y retrógrado, respectivamente, a lo largo de los microtúbulos, un proceso mediado por las proteínas motoras quinesina y dineina citoplasmática (Peters et al., 1991; Alberts et al., 2015).

Entre las estructuras que se localizan en la región presináptica son también importantes los neurofilamentos y microtúbulos que discurren por el citoplasma axonal y penetran en la región presináptica. Además de su función estructural, los microtúbulos sirven para guiar y transportar las vesículas sinápticas dentro del axón, particularmente de aquellas que almacenan neuropéptidos y son transportadas por flujo axónico rápido. Podemos encontrar dos patrones básicos de organización: i) en las sinapsis “de paso” los neurofilamentos y microtúbulos simplemente continúan su camino sin entrar en la zona de la varicosidad, donde se concentran vesículas sináptica y mitocondrias, y ii) en los botones terminales tanto los neurofilamentos como los microtúbulos suelen terminar antes de la dilatación del botón sináptico; sin embargo, en algunos casos los neurofilamentos forman bucles cuyo número va a depender del tamaño del axón y se pueden teñir con tinciones argénticas (Cajal, 1901; 1923). Por otra parte, se ha visto que, en las etapas avanzadas de degeneración neuronal, frecuentemente se acumulan neurofilamentos de los botones sinápticos (Peters et al., 1991).

Otros componentes citoplasmáticos presentes en el axón terminal presináptico son: vesículas sinápticas, retículo endoplasmático liso, cuerpos multivesiculares, vesículas revestidas de clatrina.

### **6.1.1. Las vesículas sinápticas**

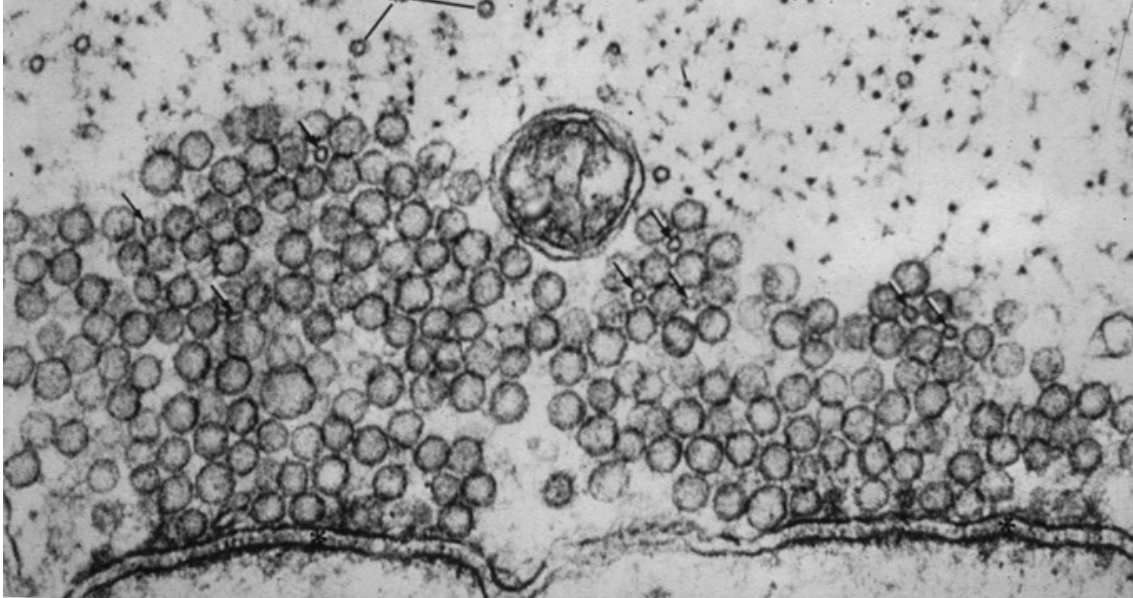
Las vesículas sinápticas son estructuras esferoidales que están delimitadas por endomembranas y almacenan el neurotransmisor, pudiendo diferenciarse dos tipos de vesículas sinápticas atendiendo a su morfología: vesículas claras (Figura 13) y vesículas densas. Seguidamente iremos desarrollando cada tipo de vesícula por separado.



*Fig. 13. Microscopía electrónica de alta magnificación de vesículas sinápticas claras. Nótese la membrana unidad que las delimita con la típica estructura trilaminar.*

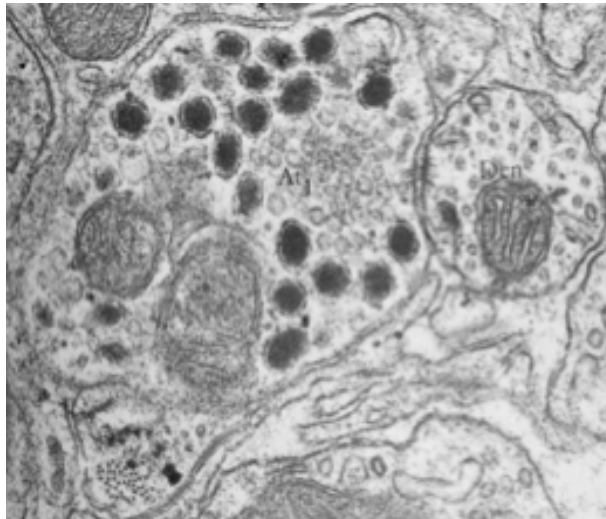
**Vesículas claras.** Generalmente presentan un diámetro de alrededor de 40-50 nm, además, como su propio nombre indica, tienen un centro claro o electrolúcido, aunque esto último puede variar si el tejido se encuentra fijado con ácido ósmico o permanganato de potasio. Estas vesículas son muy comunes y se localizan en las regiones presinápticas de múltiples tipos neuronales localizados en diferentes localizaciones del SNC (Figura 14) (Peters et al., 1991). En el sistema nervioso periférico son características de los terminales nerviosos de la unión neuromuscular (la placa motora) y en las terminaciones de algunos nervios del sistema simpático sobre las fibras musculares lisas de los vasos, tracto digestivo y tracto respiratorio. Las vesículas claras almacenan neurotransmisores clásicos como son las aminas biógenas acetilcolina, serotonina y catecolaminas (dopamina, noradrenalina y adrenalina), además de aminoácidos, particularmente glutamato, ácido aspártico y GABA. Para demostrar la presencia de neurotransmisores en las vesículas se realizaron diferentes aproximaciones experimentales. Una de ellas el aislamiento de la fracción vesicular, los sinaptosomas, de las sinapsis gigantes del órgano eléctrico del pez torpedo. El análisis bioquímico de esta fracción sinaptosomal demostró su gran enriquecimiento en acetilcolina, que es el neurotransmisor que almacenan en las vesículas. Por otra parte, una prolongada estimulación de las placas motoras sobre las fibras musculares estriadas esqueléticas da lugar a una disminución de las vesículas claras y del contenido de acetilcolina en el axón terminal (Peters et al., 1991). Estos hallazgos permitieron concluir que las vesículas claras contenían neurotransmisores. Cabe destacar que la cantidad de

acetilcolina contenida en una vesícula clara es capaz de dar lugar a un pequeño potencial simple en la placa motora y la cantidad de acetilcolina necesaria para dar lugar a este potencial es de alrededor de 5000 moléculas, por lo que se puede deducir que una vesícula clara contiene aproximadamente 5000 moléculas de acetilcolina (Ackermann et al., 2015).



*Fig. 14. Microscopía electrónica de una sinapsis química que muestra la acumulación de vesículas sinápticas claras en la región presináptica. Se aprecia muy bien la hendidura sináptica y la membrana postsináptica engrosada. Cortesía de Peters et al., 1991.*

**Vesículas con núcleo denso.** Se trata de vesículas de gran tamaño, pudiendo tener un diámetro hasta los 85 nm (Figura 15). Contienen un gránulo denso de unos 15-20 nm, lo que hace que también sean conocidas como vesículas granulares. Fueron observadas por primera vez en las terminaciones axonales de fibras del sistema nervioso autónomo. En la actualidad se conoce que el gránulo denso está normalmente compuesto de neuropéptidos. Frecuentemente, estas vesículas coexisten con vesículas claras que almacenan catecolaminas en las terminaciones de fibras nerviosas adrenérgicas que inervan el músculo liso de los vasos, del tracto digestivo y de las vías respiratorias. (Peters et al., 1991).

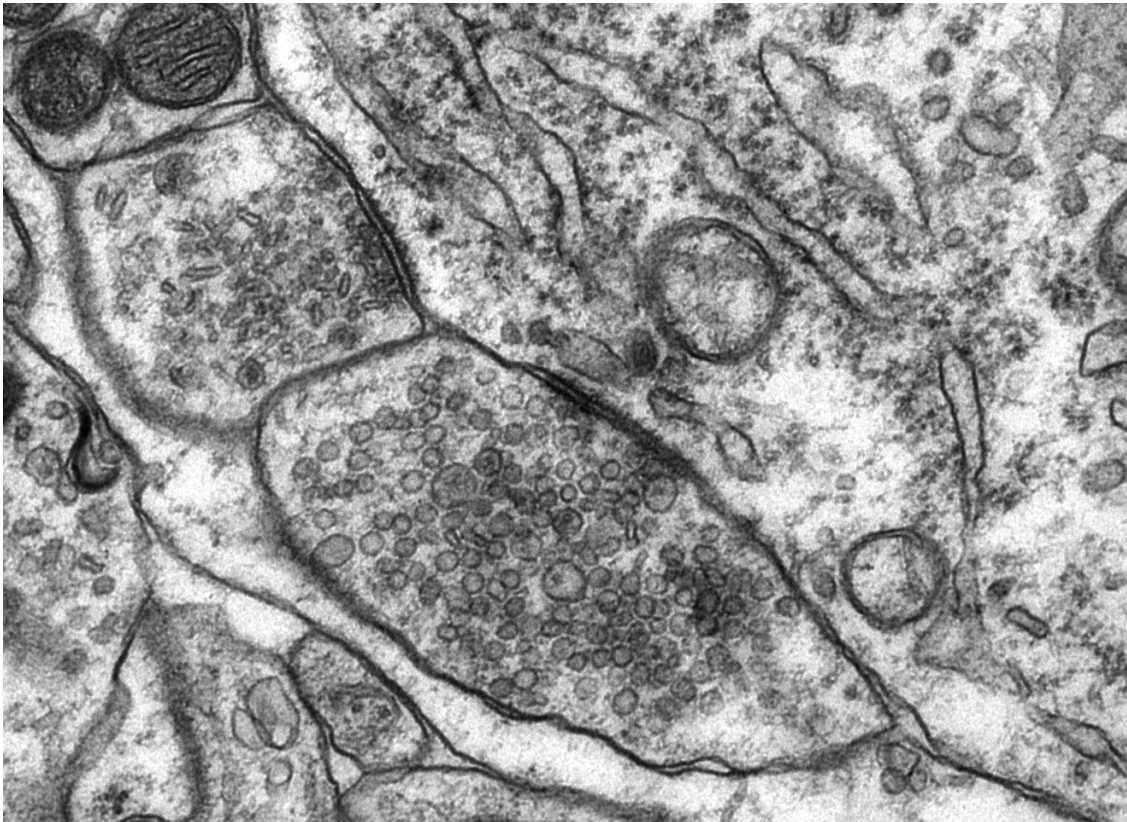


*Fig. 15. Microscopía electrónica de una sinapsis axodendrítica. El elemento presináptico muestra numerosas vesículas sinápticas grandes con núcleo denso y algunas vesículas claras de muy pequeño tamaño. Cortesía de Peters et al., 1991.*

En relación a la forma de las vesículas, en muestras fijadas con aldehidos podremos observar generalmente tres tipos básicos de vesículas: vesículas esféricas pequeñas (40 nm), vesículas esféricas grandes (40-60 nm) y, por



último, vesículas elongadas (Figura 16). Pero estos cambios morfológicos pueden parcialmente depender del procesamiento de las muestras, particularmente de la osmolaridad del fijador o de la solución usada para lavar la muestra antes de la fijación, especialmente en las fijaciones llevadas a cabo con aldehídos. Si la fijación se realiza con ácido ósmico la forma de las vesículas aparece mejor preservadas. Además, cuando las muestras son fijadas con aldehídos a diferentes concentraciones no solo las vesículas se dilatan o se retraen sino que pueden adquirir diferentes conformaciones en forma de disco, cilindro, ovoide o, como ya hemos comentado antes, una forma elongada (Peters et al., 1991). Por otra parte, existen variaciones del efecto de los fijadores sobre la morfología vesicular dependiendo de la especie y, dentro de la misma especie, en diferentes tejidos y órganos que comparten el mismo tipo vesicular. Por último, hay diferentes situaciones que pueden llevar a un cambio de forma de las vesículas claras; un ejemplo de esto ocurre en algunos tipos de degeneración axonal donde las vesículas pueden aumentar su tamaño hasta en un 280%. Se cree que esto es debido a cambios inespecíficos tanto del axolema del nervio terminal como de las vesículas sinápticas que conduce a un contenido hipotónico e hinchamiento vesicular (Peters et al., 1991).



*Fig. 16. Microscopía electrónica de dos sinapsis axosomáticas yuxtapuestas. Una posee vesículas claras esferoidales y, la otra, vesículas claras elongadas.*

La morfología de las vesículas debe tenerse en cuenta ya que se ha demostrado que hay una relación entre la forma de las vesículas y la función de las sinapsis químicas. Así, a mediados del siglo XX, los investigadores reportaron que los dos tipos de sinapsis caracterizados mediante la fijación con aldehídos incluían las sinapsis Tipo 1 (excitadoras), con vesículas esféricas, y las sinapsis

Tipo 2 (inhibidoras), con la mayoría de las vesículas de forma elongada, estableciéndose así una relación entre morfología vesicular y la función excitadora e inhibitora de las sinapsis (Bear, 2015). Aunque este criterio tiene una relativa importancia, resulta mucho más preciso establecer la funcionalidad de la sinapsis en base a los neurotransmisores que liberan, cuya naturaleza y correlación con la morfología vesicular puede establecerse utilizando técnicas de inmunoelectrónica con partículas de oro coloidal. (Peters et al., 1991; Bear, 2015).

### 6.1.2. Proteínas asociadas a las vesículas sinápticas

Las vesículas sinápticas están delimitadas por una membrana unidad que posee un importante número de proteínas integrales transmembrana y proteínas periféricas cuya función es esencial para el ciclo vesicular en la sinapsis (Figura 16B) (Südhof, 2004; Ackermann et al., 2015). Entre ellas cabe destacar las siguientes:

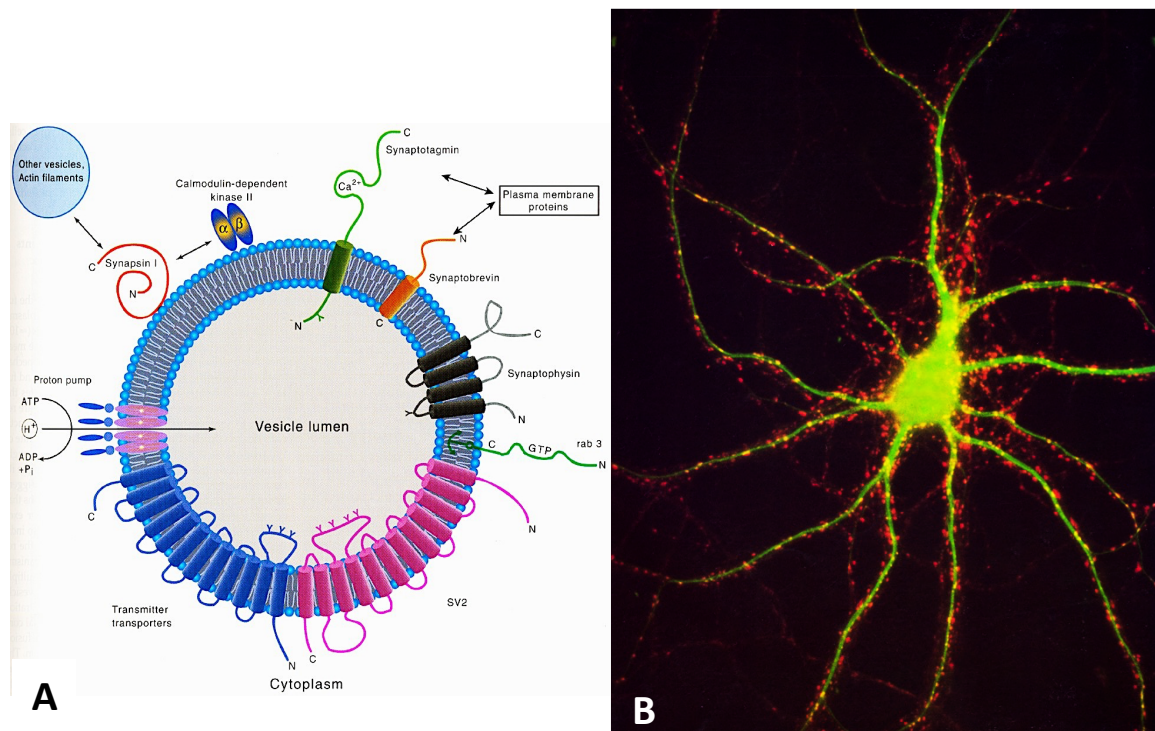


Fig. 16Bis. A. Esquema de la estructura molecular de la membrana de una vesícula sináptica con sus proteínas integrales y periféricas implicadas en la neurotransmisión. Cortesía de T. Südhof, 2004. B Inmunofluorescencia para la sinapsina I en una neurona cultivada. Los puntos rojos demuestran los botones sinápticos sobre las dendritas y el soma neuronal. Cortesía de Thomas Südhof, 2003.

**Sinapsina I.** Esta proteína tiene como función mantener unida las vesículas al citoesqueleto celular. Esta unión depende de su estado hipofosforilado y es muy importante para retener la población de reserva de vesículas sinápticas a cierta distancia de la membrana presináptica. Sin embargo, tras la llegada del potencial de acción, la apertura de canales de calcio voltaje dependientes incrementa la concentración de calcio citosólico que activa a la proteína quinasa CAMKII que fosforila a la sinapsina I y rompe su interacción con el citoesqueleto, permitiendo la movilidad de las vesículas sinápticas (Reinhard & Fasshauer, 2012; Bear, 2015).

**Sinaptobrevina.** Actúa en la fase de anclaje de la vesícula sináptica a la membrana presináptica, actuando como un SNAREv y formando parte del complejo trimérico de fusión vesicular conjuntamente con Snap25 y sintaxina (Südhof, 2004)

**Rab3.** Posee dos formas estructurales diferentes dependiendo si esta activa (unida a GTP) o inactiva (unida a GDP) y su función es la de señalar el destino de las vesículas sinápticas para que puedan ser reconocidas por las zonas activas de la membrana presináptica como fase previa a la exocitosis vesicular.

**Sinaptotagmina.** Es una proteína que tiene un dominio de unión a calcio. Actúa como un sensor de calcio que dispara la formación de un poro de fusión en el mecanismo de exocitosis vesicular (Reinhard & Fasshauer, 2012; Bear, 2015).

**Transportadores de neurotransmisores.** Son proteínas transmembrana de múltiples pasos, específicas para cada neurotransmisor. Son responsables de transportar el neurotransmisor libre sintetizado en el compartimento citosólico de la región presináptica al interior de la vesícula para su relleno vesicular.

**Bomba de protones.** Transporta protones al interior de la vesícula para acidificar su contenido. Un proceso dependiente de ATP y similar el que opera en los endosomas tempranos.

### 6.1.3. Etapas del ciclo vesicular en la sinapsis

El ciclo vesicular (Figura 17) está conformado por una serie de pasos, todos ellos necesarios, que comienzan con la producción de los neurotransmisores hasta la formación de nuevos endosomas y vesículas sinápticas (Südhof, 2004; Lafarga, 2018). Vamos por tanto describir brevemente cada uno de sus pasos:

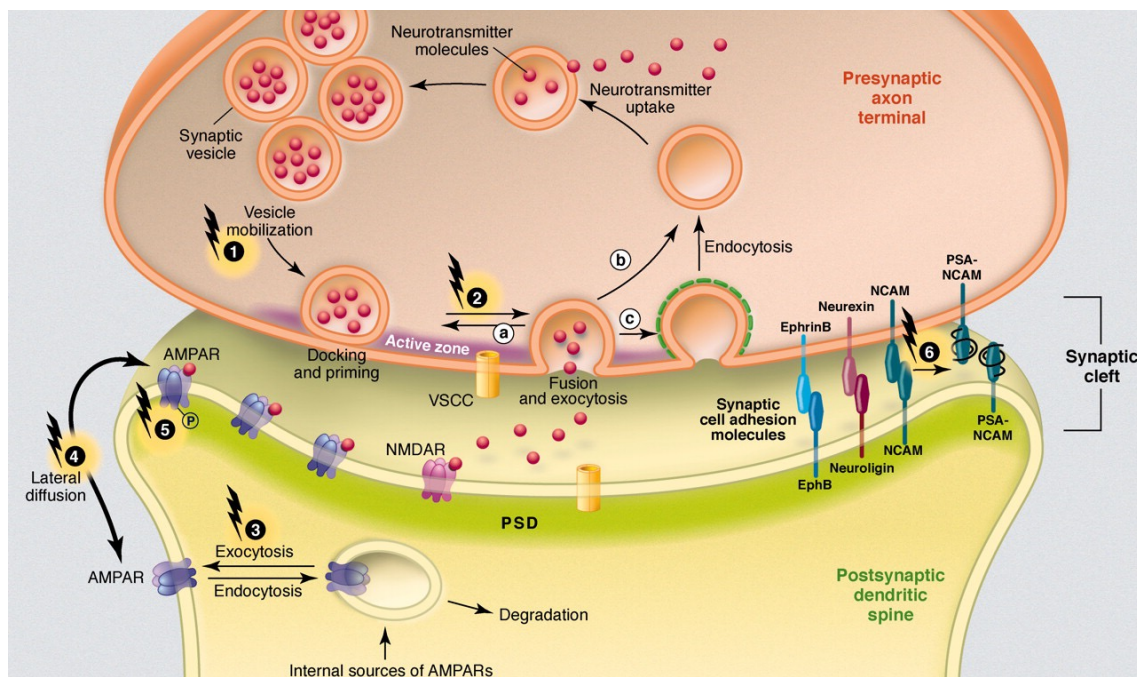


Fig. 17. Esquema del ciclo vesicular de la sinapsis. Cortesía de Ho et al Science 334, 623 2011.

1 **Síntesis de neurotransmisores clásicos.** Con la excepción de los neuropéptidos, que se producen en el soma neuronal y se transportan a los botones sinápticos por medio de flujo axónico rápido, los neurotransmisores clásicos normalmente se sintetizan en el botón sináptico mediante la actividad de enzimas específicos para cada neurotransmisor. Si tomamos como ejemplo la acetilcolina, la colina acetiltransferasa transportada por el flujo axónico cataliza la acetilación de la colina mediada por acetil-CoA (Reinhard & Fasshauer, 2012).

2 **Rellenado vesicular.** Las vesículas se rellenan de neurotransmisores gracias a la acción de transportadores específicos. El transporte es ATP dependiente y por lo general cada vesícula almacena varios miles de moléculas del neurotransmisor (Bear, 2015).

3 **Desplazamiento vesicular.** Las vesículas cargadas con los neurotransmisores y liberadas de la interacción con el citoesqueleto se movilizan desde la población de reserva hasta la población liberable anclada a la membrana presináptica. Como se ha comentado antes, este proceso es dependiente de la fosforilación de la sinapsina I por la CAMKII. Además, el tráfico vesicular es direccional y está mediado por proteínas de la familia Rab, especialmente Rab3, que establecen el reconocimiento de destino en la membrana presináptica (para revisión, ver Südhof, 2004).

4 **Anclaje vesicular.** La fijación de las vesículas en la membrana presináptica está mediada por la proteína de la membrana vesicular sinaptobrevina (SNAREv) y requiere de la formación de un complejo trimérico de fusión que lo conforman la sinaptobrevina y dos proteínas de la membrana presináptica, syntaxina y Snap25 (SNAREt).

5 **Exocitosis vesicular.** Se realiza cuando llega un potencial de acción a la membrana presináptica. El cambio de voltaje da lugar a la apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje, provocando que aumente el calcio dentro del terminal axónico que induce la activación de la sinaptotagmina. El gran incremento focal de la concentración de calcio en el microambiente vesicular activa el sensor de este ión en la sinaptotagmina que dispara la fusión de las membranas, vesicular y presináptica, con el reordenamiento de las bicapas lipídicas y formación de un poro acuoso. Este poro es claramente visible en imágenes de criofractura de la membrana presináptica (Figura 18) y permite la rápida liberación del neurotransmisor para su difusión por la hendidura sináptica (100µseg) e interacción con los receptores postsinápticos (Reinhard & Fasshauer, 2012).

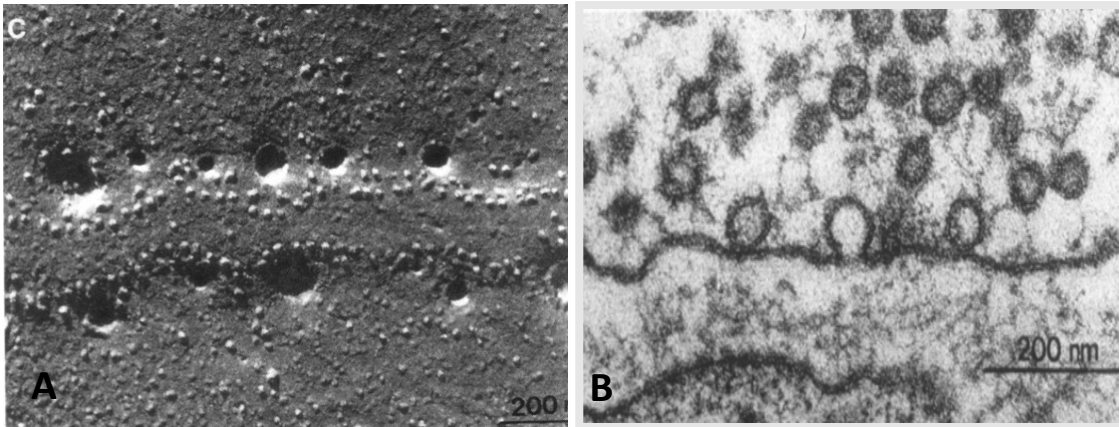


Fig. 18. A. Imagen de criofractura de la membrana presináptica en la fase de exocitosos. Se observan vesículas sinápticas en fase de descarga y flanqueadas por una hilera de partículas intramembranas que corresponden a los canales de  $Ca^{++}$ . B. Imagen de exocitosis vesicular. Se aprecia una red de moléculas que atraviesan la hendidura sináptica. Cortesía de Peters et al., 1991.

6 **Endocitosis vesicular.** La exocitosis vesicular produce un exceso de membrana presináptica (ganancia de membrana) que tiene que ser compensado por un mecanismo de endocitosis. Aunque existen diferentes formas de reciclaje vesicular la más importante es la mediada por vesículas cubiertas de clatrina que una vez internalizadas pierden la cubierta de clatrina (Figura 19) (Reinhard & Fasshauer, 2012).

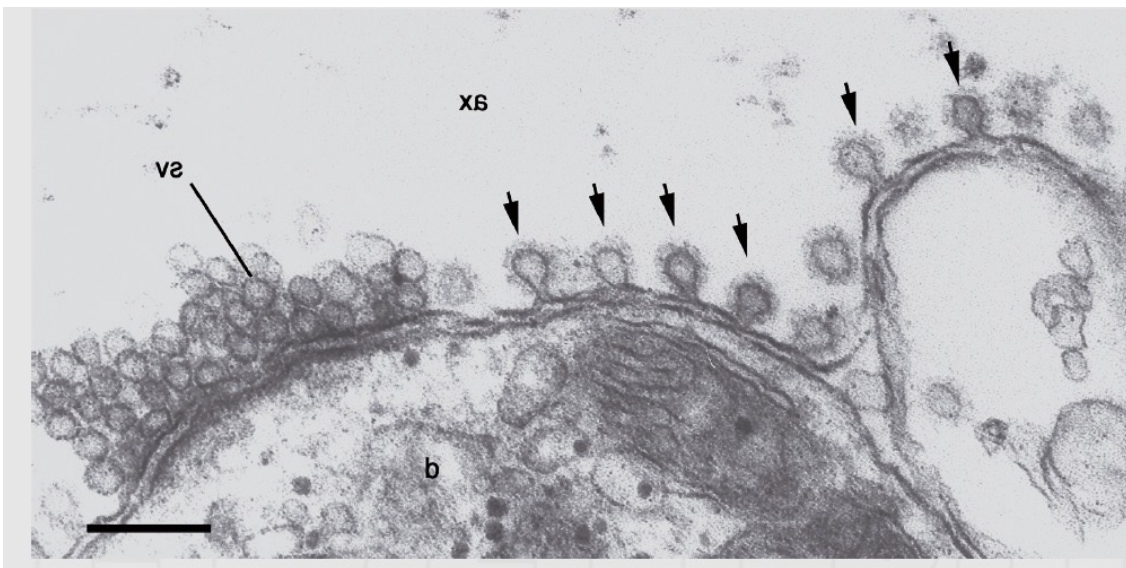


Fig. 19. Microscopía electrónica de una membrana presináptica que muestra una zona activa con vesículas sinápticas ancladas a la membrana y una zona adyacente de reciclaje vesicular en vesículas cubiertas de clatrina Cortesía de Shupliakov et al. Exp. Cell Res 316:1344 (2010)

7 **Formación de endosomas tempranos.** Las vesículas de endocitosis desprendidas de la cubierta de clatrina se fusionan con endosomas tempranos provistos de una bomba de  $H^+$  que acidifica su interior. Por un mecanismo de gemación se generan vesículas sinápticas que serán rellenas de moléculas del neurotransmisor específico por la actividad de los transportadores de neurotransmisores de la membrana vesicular.

## 6.2 LA REGION POSTSINAPTICA

La región postsináptica está formada por dos estructuras que son: la membrana postsináptica y la densidad postsináptica (Peters et al., 1991; Südhof, 2004).

**6.2.1. La membrana postsináptica.** La membrana postsináptica presenta una gran acumulación de material denso en su cara citosólica, que se observa muy bien en preparaciones convencionales de microscopía electrónica. Sin embargo, aunque su densidad sea mayor que incluso la densidad presináptica, ésta es menos compleja. La membrana postsináptica en su cara orientada hacia la hendidura sináptica presenta una gran cantidad de receptores para los neurotransmisores liberados por el terminal presináptico, algunos de estos receptores tienen canales iónicos para el  $\text{Na}^+$  o  $\text{Cl}^-$ . La densidad postsináptica se observa como un material electrodense y poco estructurado formando una lámina que parece tener embebida algunos filamentos. En las sinapsis asimétricas este material es más grueso y prominente que en las sinapsis simétricas (Choquet & Triller, 2003; Dosemeci et al., 2016). Su estructura molecular será comentada en el apartado 6.2.2.

Debido a que la membrana postsináptica solo interviene en la neurotransmisión en algunas “zonas activas”, dando lugar a un patrón en forma de mosaico, podemos decir que las zonas activas que presentan la densidad postsináptica son los sitios en los que se produce la descarga de los neurotransmisores provenientes del elemento presináptico, mientras que las zonas desprovistas de la densidad postsináptica son inactivas en la neurotransmisión.

Un aspecto importante es la interdependencia entre las densidades pre- y post-sináptica. Diferentes aproximaciones experimentales demostraron que la formación de la densidad postsináptica es inducida por la recepción de un contacto sináptico. Este hecho sugiere que tanto la formación como el mantenimiento de la densidad postsináptica es dependiente del elemento presináptico. Sin embargo, en modelos experimentales de degeneración del elemento presináptico se ha observado que la densidad postsináptica es estable y permanece en ausencia de actividad sináptica (Garner C. & Nash J., 2001).

Unas estructuras postsinápticas de especial relevancia son las espinas dendríticas, descubiertas por Cajal a principios del siglo XX, que poseen un complejo aparato de la espina. Las espinas dendríticas serán analizadas en un apartado independiente.

**6.2.2. Estructura molecular de la densidad postsináptica.** La densidad postsináptica (PSD) de las sinapsis excitatorias es especialmente compleja y dinámica en composición y regulación; contiene cientos de proteínas diferentes, muchas de las cuales son necesarias para la función cognitiva e implicadas en enfermedades psiquiátricas. Las principales proteínas PSD se clasifican en: (1) proteínas estructurales de membrana, (2) receptores, canales de iones y subunidades auxiliares de receptor, (3) proteínas de andamiaje, (4) holoenzimas de CaMKII, (5) otras enzimas, y (6) proteínas del citoesqueleto. (Shinohara, 2011; Dosemeci et al., 2016). A partir de aquí expondremos algunas de las

múltiples proteínas que posee la PSD y comentaremos algunas de sus características:

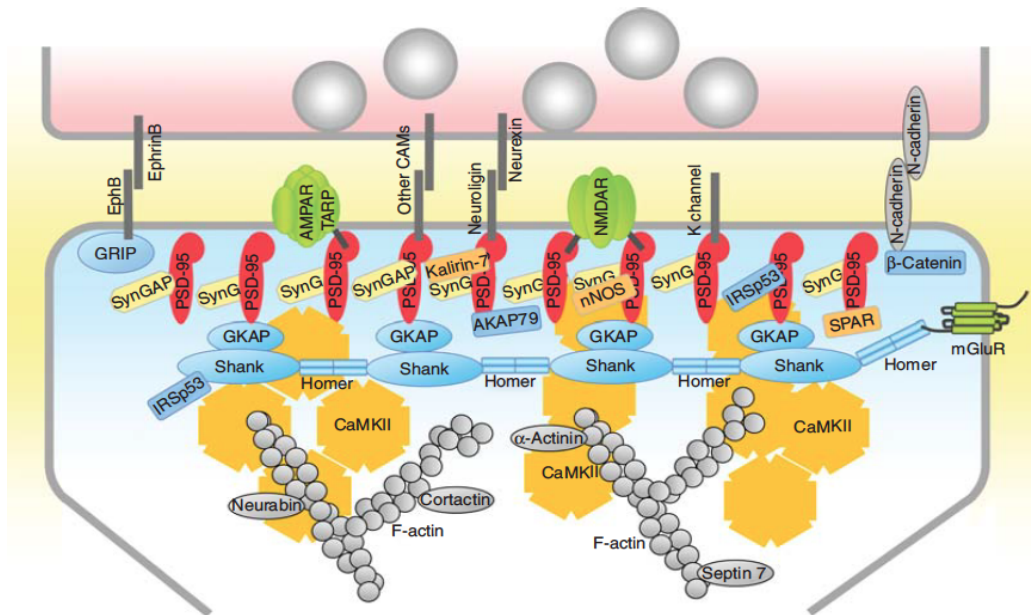


Fig. 20. Esquema de una sinapsis química que ilustra la compleja organización molecular en la densidad postsináptica, incluyendo la presencia de la proteína PSD-95, que ancla receptores postsinápticos, y la red de filamentos de actina. Cortesía de Sheng & Kim, Cold Spring Harbor Perspect Biol a005678, 2011

**PSD-95.** Se trata de una guanilato quinasa asociada a la membrana; es la principal proteína de andamiaje en la PSD excitadora y un potente regulador de la fuerza sináptica. Presenta una configuración extendida y vertical con respecto a la PSD, que ha sido observado en diferentes estudios mediante el uso de la tomografía EM. PSD-95, al unirse con varias proteínas con orientación horizontal, tales como GKAP/SAPAP, Shanks, SynGAP, SPAR y otros miembros de la familia PSD-95, hace que se forme una estructura ortogonal estable dentro del PSD (Figura 20). Su importancia se ha visto remarcada en múltiples estudios en los que se provoca un silenciamiento de PSD-95 con iRNA, que conduce a la pérdida de parches completos de material PSD. Mediante la tomografía EM se muestra una disminución desigual de material de la PSD que se correlaciona con la pérdida de filamentos verticales que contienen PSD-95 y receptores AMPA (Chen, 2011). Aunque la PSD-95 es la principal proteína de andamiaje de la PSD, existen otras proteínas que también son necesarias para la buena estabilidad de la PSD, como son las proteínas de andamiaje (“scaffold”) GKAP, Shank y Homer (Figura 20). Tales proteínas, además de unirse con la PSD-95, también interactúan entre sí para preservar la estabilidad estructural de la PSD (Naisbitt, 1999; Dosemeci et al., 2016).

**Proteínas de fosforilación (quinasas y fosfatasas) y GTPasas de señalización (Ras, Rho, Rac, Rap y Arf GTPasas), junto con sus factores de intercambio de nucleótidos y proteínas de activación de la GTPasa.** Estas proteínas están involucradas probablemente en la señalización tanto internamente como externamente de la regulación de los receptores de

glutamato y otros receptores postsinápticos (Sheng & Hoogenraad, 2007). Así, por ejemplo, Ras y Rap regulan el tráfico de receptores AMPA durante la potenciación a largo plazo (LTP) y LTD, respectivamente (Zhu et al., 2002).

**CaMKII:** La proteína quinasa dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulina (CaMKII) se activa con  $\text{Ca}^{++}$ /CaM, pero se vuelve parcialmente autónoma ( $\text{Ca}^{++}$ -independiente) después de la autofosforilación en T286. Esta autofosforilación proporciona memoria molecular al prolongar la actividad de CaMKII durante la LTP y el aprendizaje, dos procesos de plasticidad sináptica. CaMKII representa el 2-6% de la proteína total en el PSD. CaMKII está formada por 12 subunidades catalíticamente activas expresadas por cuatro genes diferentes (*CAMK2A*, *2B*, *2G*, *2D*) que codifican sus cuatro isoformas (CaMKII $\alpha$ - $\delta$ ), siendo  $\alpha$  y  $\beta$  altamente prevalentes en el cerebro (Steven et al., 2012; Johannes, 2014; Dosemeci et al., 2016).

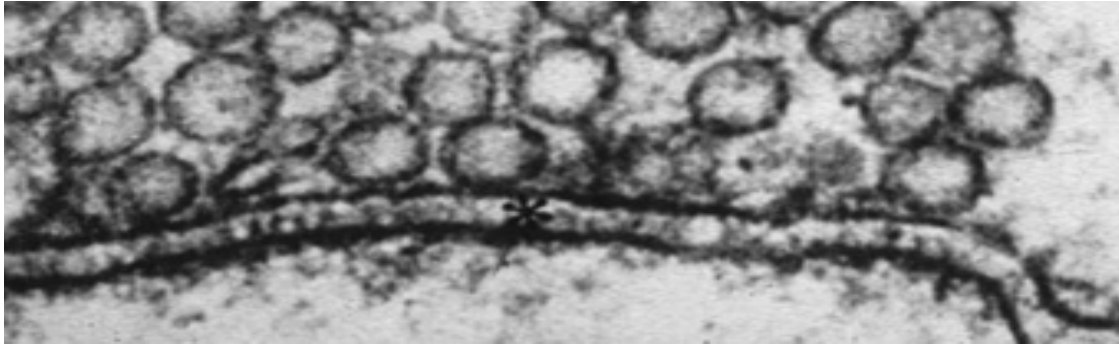
**Filamentos de actina.** La presencia de F-actina no es homogénea en las PSD. Por ejemplo, en las espinas dendríticas es mayor en las cabezas de las espinas dendríticas de las regiones cerebrales y menor en las espinas de la médula espinal (Capani et al., 2001). Los filamentos de actina tienen una gran importancia en la formación, maduración y estabilización de las espinas dendríticas (Fregozo & Perez-Vega, 2012; Dosemeci et al., 2016).

### 6.3 LA HENDIDURA SINAPTICA

Cuando hablamos de la hendidura sináptica nos referimos al espacio intercelular que separa la membrana presináptica y la membrana postsináptica, tiene un tamaño de alrededor de 10-20 nm y no es un espacio libre, sino que hay estudios ultraestructurales y bioquímicos que muestran que la hendidura sináptica está ocupada por componentes fibrilares de una matriz extracelular que mantienen estas dos membranas interconectadas (Peters et al., 1991). La hendidura sináptica cumple funciones esenciales para facilitar la neurotransmisión. Éstas incluyen el mantenimiento de la zona activa de la sinapsis y del aparato de recepción postsináptica, así como el control estricto de la interdistancia entre la membrana pre- y postsináptica y la eliminación del neurotransmisor liberado por exocitosis (Bear, 2015). La presencia de una hendidura sináptica fue demostrada por vez primera por Palade y Palay (1955) en la corteza cerebelosa mediante microscopía electrónica. Esta observación fue fundamental para validar la Doctrina Neuronal de Cajal de la independencia neuronal.

La hendidura sináptica está atravesada por moléculas de adhesión intercelular, especialmente N-cadherinas que interaccionan mediante dominios de unión a  $\text{Ca}^{++}$  dando lugar a puentes moleculares que son esenciales para estabilizar la estructura sináptica (Figura 21). Por otra parte, estas N-cadherinas en su parte citosólica se unen a moléculas de  $\beta$ -catenina. Además, también existen otras proteínas de adhesión intercelular que contribuyen a estabilizar la estructura sináptica, tales como el complejo neurexina/neuroigina, cuya disfunción está asociada a la esquizofrenia y el autismo, y las proteínas de adhesión celular (CAMs) (Bear, 2015).





*Fig. 21. Alta magnificación de microscopía electrónica de una hendidura sináptica- El espacio entre las dos membranas está atravesado por un material electron-denso formado por complejos de moléculas de adhesión intercelular. Cortesía de Peters et al., 1991.*

Las cadherinas son proteínas transmembrana glicosiladas que se identificaron inicialmente como moléculas de adhesión celular dependientes de  $\text{Ca}^{++}$ . Están presentes en la membrana plasmática de una variedad de tipos de células. En los últimos años, ha quedado claro que, además de proporcionar una adhesión mecánica entre las células, las cadherinas desempeñan un papel integral en la morfogénesis y homeostasis del tejido. La familia de las cadherinas está compuesta por más de 100 miembros. Varios de estos miembros de la familia de las cadherinas han sido implicados en diversos aspectos del desarrollo y la función neuronal (Takeichi, 2007; Seong et al., 2015). Las cadherinas clásicas están asociados con un grupo de proteínas citosólicas, llamadas colectivamente las cateninas.

Las neuroliginas son moléculas de adhesión postsináptica que están involucradas en la regulación de la organización y función de sinapsis (Figura 20). Se han identificado cuatro proteínas neuroliginas (neuroligina 1, 2, 3, 4). Neuroligina 1 se localiza en las sinapsis excitatorias (glutamatérgicas). En las sinapsis inhibitorias (GABAérgicas/glicinérgicas) encontramos la neuroligina 2. Las neuroliginas 3 y 4 están presentes en ambos tipos de sinapsis. Los datos recientes indican que las neuroliginas están involucradas en la maduración y especificación de las sinapsis. Debido a su localización y función sináptica, las neuroliginas controlan el equilibrio entre las sinapsis excitatorias e inhibitorias (Bemben et al., 2015; Mackowiak et al., 2014).

Los receptores Eph y sus ligandos las efrinas comprenden un complejo sistema de señalización con diversas funciones. Los receptores EphB son esenciales para el desarrollo y mantenimiento de las espinas dendríticas, que acomodan los sitios postsinápticos de la mayoría de las sinapsis excitatorias glutamatérgicas en el cerebro. Además del control del citoesqueleto de actina en las espinas dendríticas, los receptores EphB también están implicados en la formación de especializaciones sinápticas funcionales a través de la regulación del tráfico y las funciones del receptor de glutamato (Bemben et al., 2015; Nolt et al., 2011)

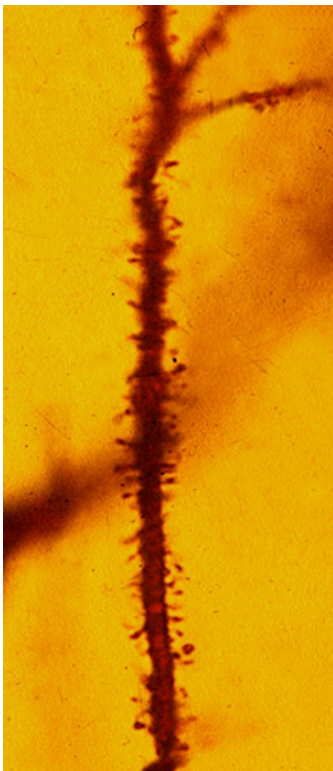
## 7. LAS ESPINAS DENDRÍTICAS

### 7.1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Las espinas dendríticas son pequeñas protrusiones ricas en actina que forman parte de la estructura postsináptica de la mayoría de las sinapsis excitatorias (Figuras 22-24). Son el principal sitio de procesamiento y almacenamiento de la información en el cerebro. Su función primaria es compartimentalizar la señal sináptica local y extinguir la difusión de moléculas postsinápticas (Nimchinsky, 2002; Newpher & Ehler, 2009). La densidad de espinas dendríticas no es la misma en todas las neuronas. Por ejemplo, las neuronas del hipocampo tienen una gran cantidad de espinas dendríticas. Se estima que hay una densidad media de entre 1-10 espinas dendríticas por micrómetro de longitud de la dendrita.



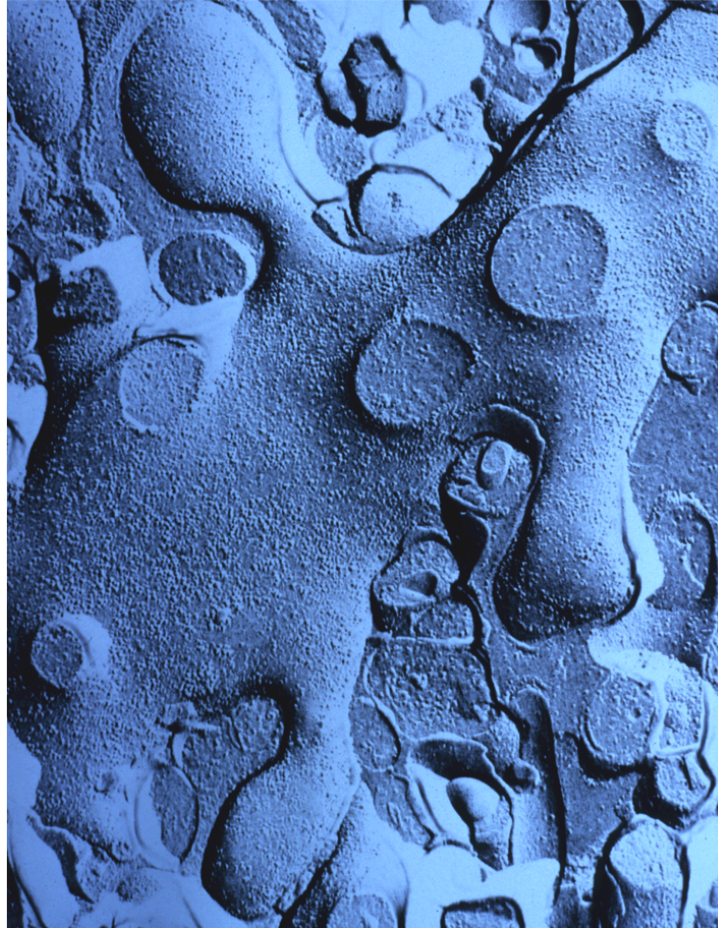
*Fig. 22. Impregnación argéntica con el método de Golgi de las ramas terminal de dendritas de una neurona de Purkinje. Se visualiza la gran densidad de espinas muy cortas.*



*Fig. 23. Impregnación argéntica con el método de Golgi de dendrita apical de una neurona piramidal de la corteza cerebral provista de numerosas espinas.*

Cajal fue el primero en describir, a finales del siglo XIX, la existencia de pequeños apéndices en las dendritas de diferentes tipos de neuronas y de diferentes especies que él denominó espinas dendríticas (Figuras 21 y 22) (Cajal, 1923). Cajal describe que las espinas poseen un tallo delgado que emerge del tronco dendrítico y una porción terminal dilatada en forma de bulbo. La existencia de espinas fue muy cuestionada por los histólogos de la época que la consideraban como un artefacto de las técnicas de impregnación argéntica. Pero Cajal siempre manifestó su profundo convencimiento de la fiabilidad y reproducibilidad de sus observaciones y, en particular, de la existencia de espinas dendríticas (Cajal, 1923). La incorporación de las técnicas de microscopía electrónica pudo confirmar de manera definitiva la existencia de espinas dendríticas (Gray, 1959). Durante las siguientes décadas solamente se podían obtener imágenes estáticas de las mismas. Todo esto comenzó a cambiar a mediados de la década de los 90, gracias al uso de colorantes fluorescentes neuronales que permitieron analizar la morfología de las espinas dendríticas en neuronas vivas cultivadas y observar su capacidad dinámica, incluyendo cambios en su morfología, así como la cinética de formación y eliminación de espinas

(Fischer et al., 1998; Ziv & Smith, 1996). En la actualidad, la aplicación de las nuevas tecnologías de microscopía confocal permite el estudio de las espinas dendríticas *in vivo*, en neuronas corticales localizadas en la superficie cerebral, y analizar el curso temporal de sus cambios dinámicos en respuesta a diferentes estímulos (Dunaevsky et al., 1999; Lendvai et al., 2000).



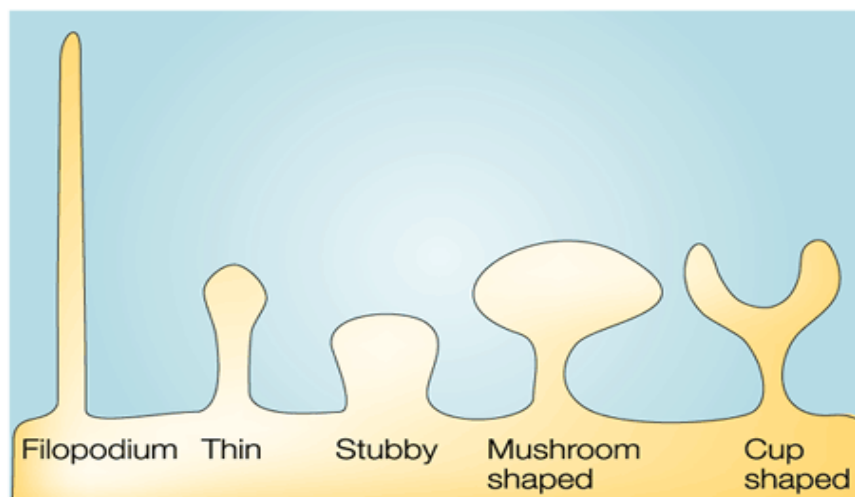
*Fig. 24. Microscopía electrónica de criofractura que ilustra un tronco dendrítico del que emergen numerosas espinas dendríticas con su tallo y bulbo terminal. Nótese que algunas espinas aparecen amputadas.*

## 7.2. ESTRUCTURA Y CLASIFICACIÓN

La arquitectura molecular de las espinas dendríticas define la eficiencia de la transmisión de señal a través de las sinapsis excitatorias. Por lo tanto, es fundamental comprender los mecanismos que controlan la localización dinámica de los constituyentes moleculares dentro de las espinas. Sin embargo, debido a la pequeña escala en la que tienen lugar la mayoría de los procesos dentro de las espinas, las técnicas convencionales de microscopía óptica no son adecuadas para proporcionar el nivel de resolución necesario. Recientemente, las técnicas de imagen de microscopía de superresolución han superado la barrera clásica impuesta por la difracción de la luz y ahora pueden resolver la localización y el comportamiento dinámico de las proteínas en pequeños subcompartimentos celulares con precisión nanométrica, revolucionando el estudio de la arquitectura de las espinas dendríticas (Mac Gillavry & Hoogenraad., 2015).

Las espinas dendríticas tienen una estructura común formada por una base, un cuello/tallo y una cabeza/bulbo (Figura 24). Sin embargo, esto no quiere decir que todas las espinas tengan la misma forma ya que morfológicamente se clasifican en cuatro grupos: filopodios, rechonchas, delgadas y en forma de hongo (Figuras 25 y 26) (Peters & Kaiserman-Abramof., 1970). Como ya se ha comentado anteriormente las espinas dendríticas no tienen por que mantener una forma fija de manera permanente, sino que pueden ir modificándola incluso durante la edad adulta, como ocurre por ejemplo durante el aprendizaje y la consolidación de la memoria (Kasai et al., 2010], demostrando la gran plasticidad de las sinapsis. En la corteza cerebral adulta e hipocampo se estima que un 25% tienen forma de hongo y un 65% son delgadas (Harris et al., 1992).

La diferente morfología de las espinas refleja diferentes propiedades funcionales. Así, las espinas con forma de hongo se han implicado en procesos de memoria, mientras que las espinas delgadas se consideran espinas de aprendizaje (Bournes & Harris., 2007). Estas últimas se ha visto que disminuyen de forma natural durante el envejecimiento y el deterioro cognitivo. Además de estos dos tipos de espinas, que aparentemente son las más importantes, nos encontramos con las espinas rechonchas, las cuales son consideradas como espinas inmaduras ya que aparecen con mayor prevalencia durante el desarrollo postnatal temprano y son escasas en el cerebro del adulto. Por último, encontramos a los filopodios, los cuales representan el 10% de las espinas en la corteza cerebral adulta. Como rasgo característico no forman sinapsis Tipo 1, por lo que todavía no hay un acuerdo de si deberían computarse o no como espinas dendríticas de la unidad sináptica (Fiala et al., 2002).



Nature Reviews | Neuroscience

Fig. 25. Esquema de los tipos morfológicos de espinas dendríticas. Cortesía de Nature Neuroscience, 2007.

Por otro parte, la vida media de las espinas no es fija para todas ellas, existiendo dos categorías: transitorias y persistentes. Mientras que las espinas persistentes pueden llegar a durar de meses a años, las espinas transitorias tienen un tiempo de vida estimado menor de cuatro días. Y aunque cabría pensar

que las espinas transitorias son las de menor tamaño, esto no es así en el 100% de los casos. Así, la mayoría de las espinas transitorias son de pequeño tamaño, pero hay también una población de espinas transitorias de diferente morfología y tamaño. Esta gran capacidad de formación y eliminación de espinas dendríticas se encuentra equilibrada en el adulto, pero si realizamos algún efecto estimulante o de privación de estímulos podemos alterarla (Bournes & Harris., 2007; Gu et al., 2014).

### **7.3. DINÁMICA DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS**

Hay múltiples estudios donde ya se han observado el dinamismo de las espinas. Así, Parnasz y colaboradores (2000) demostraron que las espinas cambian de morfología a lo largo del tiempo y no solo eso, sino que los filopodios cambian más rápidamente de morfología hacia otra forma más madura o desaparecen; mientras que las espinas maduras tienden a mantenerse más estables a lo largo del tiempo.

Por lo general el dinamismo de las espinas está equilibrado en la vida adulta (Hoitmaat et al., 2005). Sin embargo, este balance puede mantenerse o cambiarse en favor de la formación o eliminación de las espinas, ya que puede estar influido por diferentes estímulos como es por ejemplo la privación del estímulo lumínico de un ojo (Hofer et al., 2009). Sobre este hecho ya se han realizado múltiples estudios en ratones, particularmente en modelos experimentales de aprendizaje en los que se ha observado la inducción de espinas estables, las cuales llegan a durar meses tras el entrenamiento (Yang et al., 2009).

En conclusión, todos estos estudios refuerzan la idea de que la estabilización de las espinas dendríticas se relaciona muy claramente con el almacenamiento y consolidación de nueva información. Aquí ya volvemos a la función básica de las espinas dendríticas que es la de compartimentalizar la señal sináptica local y controlar la distribución de los receptores postsinápticos, especialmente del glutamato liberado por el terminal nervioso presináptico y que es captado por los receptores AMPA que posee. Consecuentemente, aquellas espinas de mayor tamaño que tienen una alta densidad postsináptica, también presentan un mayor número de receptores AMPA (Nusser Z et al., 1998).

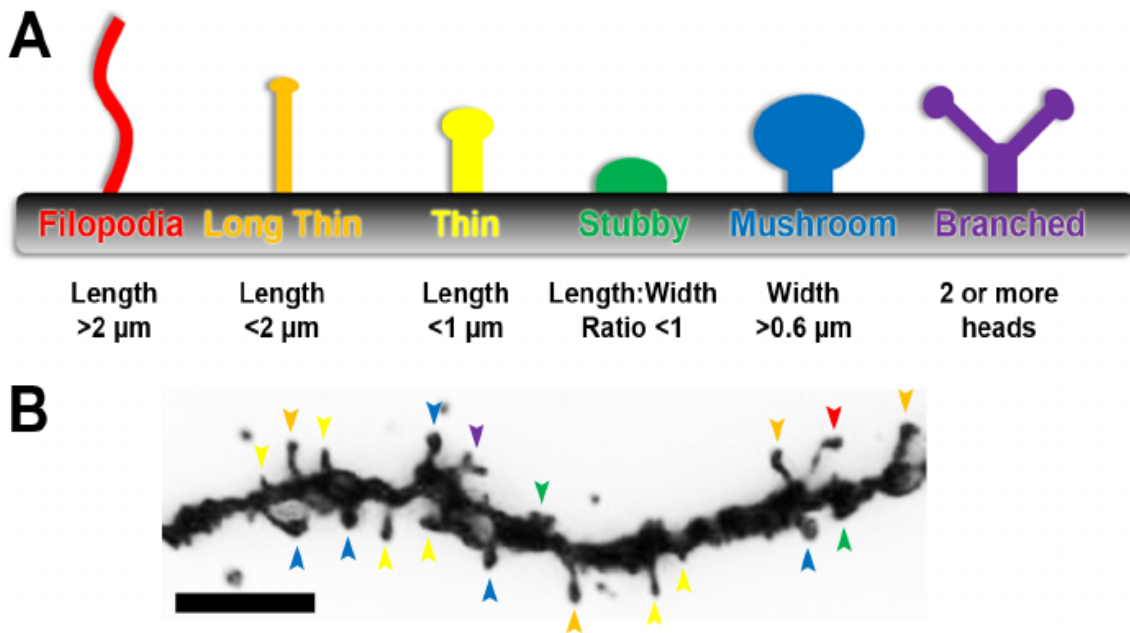


Fig. 26 Esquema e imagen microscópica de la coexistencia de varios tipos morfológicos de espinas sobre un mismo tronco dendrítico.

Este dinamismo hace que durante las diferentes etapas de la vida podamos encontrarnos mayor presencia de uno u otro tipo de espinas. Así, en la etapa postnatal temprana existe un predominio de filopodios los cuales a medida que pasa el tiempo son sustituidos por espinas de mayor tamaño (Fiala et al., 1998). Se han realizado estudios en ratones en los cuales se ha visto que a las dos semanas de vida presentaban un 50% de filopodios, al mes ya había disminuido al 10% y en la etapa adulta solo tenía un 3% (Zuo et al., 2005). La conclusión es que las espinas dendríticas maduran y se estabilizan con el paso del tiempo, lo cual se correlaciona con la presencia de estímulos de potenciación a largo plazo (LTP) que inducen la maduración y el fortalecimiento del contacto sináptico o de estímulos de depresión a largo plazo los cuales llevan a cabo el efecto contrario (Hill & Zito., 2013; Zhou et al., 2004)

#### 7.4 EL PAPEL DE LA PROTEINA PSD-95 Y DE LOS RECEPTORES GLUTAMÉRGICOS

Una proteína muy importante la cual es una parte integral de la PSD y cuya expresión influye en la estabilización y maduración de las sinapsis es la PSD-95, que forma el andamiaje y estabiliza los recetores glutamatergicos (AMPA y NMDA) en las sinapsis excitatorias (Kim & Sheng., 2004). Los niveles de PSD-95 son bajos en la etapa postnatal temprana, cuando las espinas son más inestables e inmaduras. Durante este periodo, otras proteínas de su misma familia están aumentadas, como es La SAP102. Sin embargo, los niveles de PSD-95 se vuelven altos en la edad adulta. Se ha observado que la PSD-95 puede tardar hasta 24 horas en llegar a acumularse en las nuevas sinapsis, por lo que otras proteínas (PSD-93, SAP-102 y SAP- 97) se expresan de forma rápida y ayudan a la estabilidad sináptica a corto plazo, pero la PSD-95 es necesaria para la estabilidad a largo plazo (Lambert et al., 2017). La disminución en la expresión de PSD-95 da lugar a un fallo en la adhesión y estabilización de

las espinas (Ehrlich et al., 2007), mientras que la sobreexpresión incrementa la densidad postsináptica (El-Husseini et al., 2000).

Por último, los receptores de glutamato (AMPA y NMDA) juegan un papel importante en las espinas dendríticas. Así, por ejemplo, con la utilización del microscopio de dos fotones se ha observado que la sensibilidad al glutamato es mayor en espinas con bulbo grande, mientras que las espinas delgadas o filopodios presentan una baja sensibilidad (Matsuzaki et al., 2001).

## 7.5 LA ACTINA

La actina es el componente principal del citoesqueleto de las espinas dendríticas (Figura 26). Además de su función estructural, interviene de forma importante en la organización de la densidad postsináptica y el anclaje de receptores postsinápticos. Es destacable la observación de que en diferentes trastornos de la memoria hay una alteración en la regulación de la actina del citoesqueleto. Diversos experimentos tanto farmacológicos como genéticos han demostrado que los diferentes reajustes que puede sufrir la actina provocan una variación en la formación y eliminación de espinas dendríticas (Figura 27). La actina se puede encontrar de dos formas, F-actina (forman parte de los filamentos de actina) y la G-actina (proteínas no polimerizadas), y la proporción entre estas dos formas varía dependiendo de las necesidades celulares (Alberts et al., 2015). El mRNA de la actina se transporta asociado a los microtúbulos y mediante proteínas motoras a la base de las espinas dendríticas, donde se localizan grupos de polirribosomas libres responsables de la traducción de este mensajero y de otros que codifican proteínas para la espina como la CaMKII y el receptor para el inositol 3 fosfato. Esta síntesis local de actina es esencial para mantener la dinámica de formación de filamentos de actina requerida para la plasticidad de las espinas dendríticas (Bear, 2015; Hotulainen & Hoogenraad, 2010).

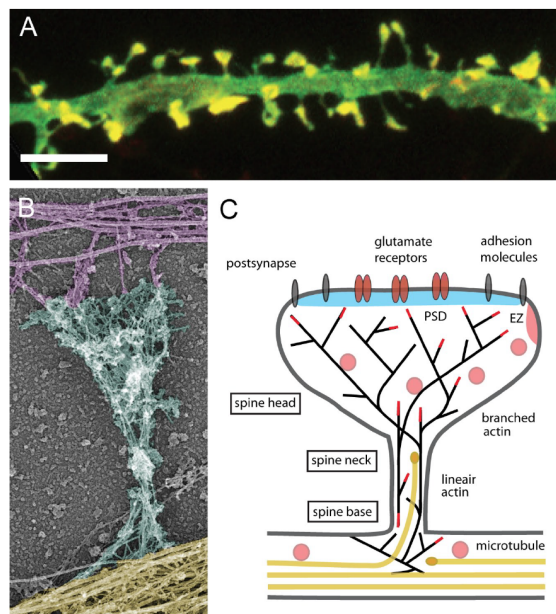


Fig. 27. Distribución de la actina en las espinas dendríticas visualizada con microscopía de fluorescencia (A) y réplica de criofactura (B) y representada esquemáticamente en (C). Cortesía de Hotulainen & Hoogenraad. *J Cell Biol* 189. 619. 2010.

## 8. PATOLOGÍA DE LA SINAPISIS

Se utiliza el término “sinaptopatía” para referirse a alteraciones de las sinapsis. Al tratarse de la estructura más numerosa e importante del sistema nervioso, no es sorprendente que la gran mayoría de las enfermedades neurológicas presenten alteraciones sinápticas de mayor o menor grado. Entre las posibles etiologías que pueden producir sinaptopatías hay que destacar el envejecimiento, ya que éste lleva consigo una pérdida rápida de sinapsis. Sin embargo, dicha pérdida no será homogénea en todas las áreas cerebrales ni en todos los tipos de sinapsis; así, las áreas evolutivamente más recientes suelen presentar una mayor afectación y a una edad más temprana. No obstante, el proceso de envejecimiento es muy complejo y multifactorial, incluyendo la base genética, los hábitos de vida (por ejemplo, la actividad cerebral tiene un papel importante en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer) y la exposición a diferentes factores infecciosos. Además, algunas enfermedades en las cuales antiguamente se consideraban debidas a trastornos originados en otro tipo de células, se ha visto que se deben a la alteración de las sinapsis, este es el caso por ejemplo de las migrañas. Éstas que antiguamente eran consideradas como un problema circulatorio, actualmente se sabe que son debidas a sinapsis serotoninérgicas, donde también podemos incluir otras enfermedades como la depresión o la esquizofrenia (para revisión, ver Ferrus & Gamundi, 2006).

### 8.1 EI TÉTANOS COMO MODELO DE PATOLOGÍA DE LA SINAPISIS

#### 8.1.1 Generalidades

El tétanos es una enfermedad aguda, a menudo fatal, causada por una exotoxina (tetanospasmina) producida por la bacteria *Clostridium tetani* (Figura 28). Se caracteriza por rigidez generalizada y espasmos convulsivos de los músculos esqueléticos. (Stock I et al., 2015). En los países desarrollados es una enfermedad infrecuente, siendo más prevalente en países en vías de desarrollo por ejemplo cuando ocurren desastres ambientales, ya que la cobertura de inmunización contra el tétanos es a menudo baja o inexistente. Las estructuras derrumbadas y los escombros causan numerosas lesiones por aplastamiento, fracturas y heridas graves, con lo que *Clostridium tetani* infecta las heridas contaminadas con tierra, heces o saliva y libera neurotoxinas dando lugar a la enfermedad (Afshar et al., 2011).

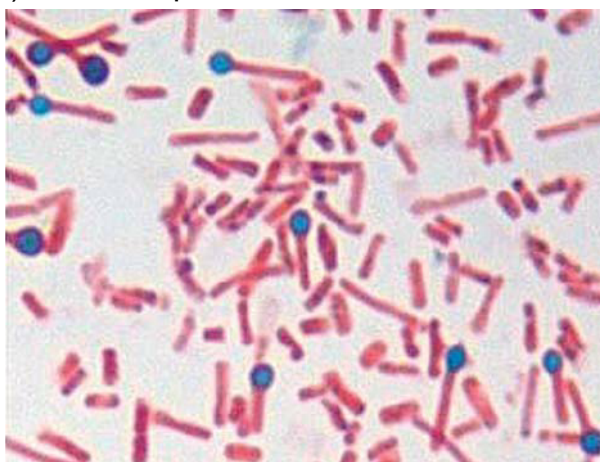


Fig. 28. Imagen de microscopía de bacilos del *Clostridium tetani*

Epidemiológicamente, el tétanos produce alrededor de 1 millón de casos anuales en todo el mundo, lo que indica una incidencia mundial de alrededor de 18 por 100.000 habitantes/año y una estimación de 300.000 a 500.000 muertes por año (Pascual et al., 2003).



Clínicamente, clasificamos el tétanos en cuatro tipos sintomáticos: tétanos generalizado, tétanos local, tétanos cefálico y tétanos neonatal.

Actualmente la medida más eficaz para la lucha frente al tétanos es mediante la prevención primaria gracias al uso de vacunas en edad pediátrica. La asociación española de pediatría recomienda actualmente el uso de las vacunas DTPa/Tdpa, que además de proteger frente al tétanos también incluye la tosferina y la difteria.

### 8.1.2 Formación neurotoxina tetánica

El *Clostridium tetani* no produce la toxina directamente, sino que da lugar a protoxinas de cadena simple, las cuales posteriormente se escinden en la proximidad de su N-terminal. Esto genera la neurotoxina completamente activa compuesta de una cadena ligera, de  $\approx 50$  kDa, y una pesada, de  $\approx 100$  kDa, unidas por un puente disulfuro e interacciones no covalentes. Durante el proceso de intoxicación, el puente entre las cadenas se reduce, y este es un prerequisite necesario para la acción intracelular de las toxinas (Yann et al., 2000).

### 8.1.3 Mecanismo de acción

De forma general las neurotoxinas clostridiales responsables del tétanos son metaloproteasas que penetran en las neuronas y bloquean la liberación de neurotransmisores en la sinapsis. Este proceso está mediado por la escisión, dependiente de zinc, de proteínas del complejo trimérico de fusión vesicular y exocitosis de las vesículas sinápticas (Figura 29). Todo esto lo hacen gracias a la capacidad de la neurotoxina tetánica (TeNT) de unirse a la membrana presináptica de la unión neuromuscular e internalizarse. Además de su acción local en la región presináptica, la TeNT puede ser transportada por transporte axonal retrógrado a la médula espinal y dar lugar a una parálisis espástica al actuar sobre las interneuronas inhibitorias espinales (Montecucco C. & Schiavo G., 1994)

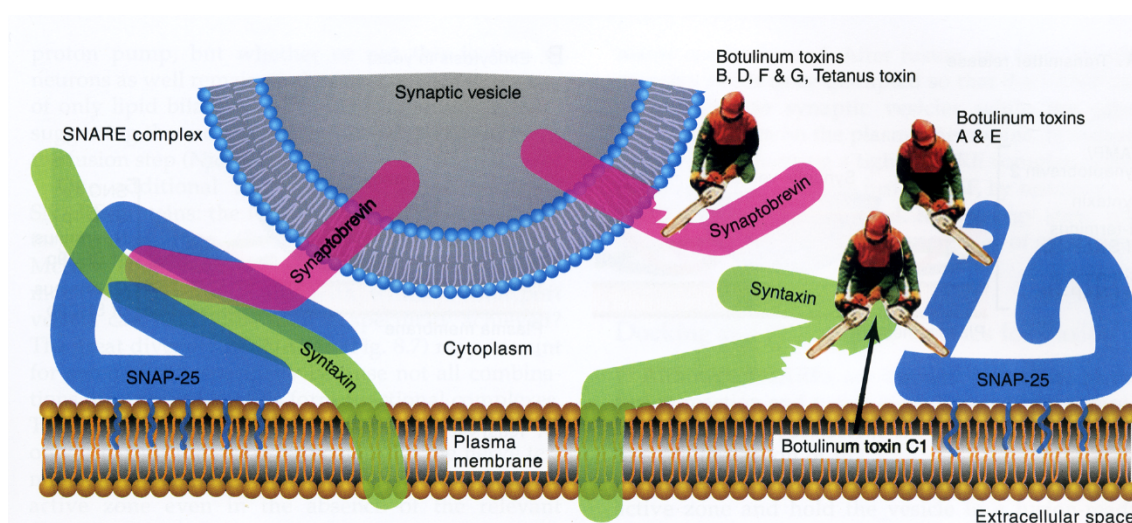


Fig. 29. Esquema de la actividad proteolítica de las toxinas clostridiales sobre proteínas del complejo de anclaje y exocitosis de las vesículas sinápticas.

A continuación, explicaremos un poco más su mecanismo de acción dividiéndolo en cuatro fases: unión, internalización, translocación y proteólisis.

1. **Unión:** En los últimos años, se han realizado múltiples estudios para la identificación de los receptores de membrana de las toxinas clostridiales, estableciéndose que los polisialogangliósidos están implicados en la unión a la membrana de neurotoxinas clostridiales. Sin embargo, es improbable que sean los polisialogangliósidos los únicos en desarrollar esta tarea, sino que debe haber múltiples proteínas de membrana involucradas en este proceso. Así, por ejemplo, en el caso de la toxina botulínica se ha observado que utiliza las sinaptotagminas I y II, independientemente de la presencia gangliósidos, para entrar en las neuronas cuyos axones viajan por el nervio frénico. Es más, algunos serotipos de toxina botulínica se internalizan a través de un proceso independiente de la actividad sináptica y no mediado por el reciclaje de las vesículas sinápticas (Grumelley et al., 2005).
2. **Internalización:** Las evidencias experimentales disponibles indican que las neurotoxinas clostridiales no ingresan a la célula directamente desde la membrana plasmática, sino que se endocitan dentro de compartimentos celulares ácidos. Se piensa que las neurotoxinas tetánicas usan las vesículas sinápticas como “Caballo de Troya” para entrar en las neuronas. Por esta razón, se explica el comienzo más temprano de la parálisis tetánica cuando hay una estimulación nerviosa, ya que se exocitan y endocitan más vesículas (Pellizrei et al., 1999).
3. **Translocación:** Cuando las neurotoxinas han alcanzado la luz de la vesícula de reciclaje, su cadena L necesita atravesar la barrera hidrofóbica de la membrana de la vesícula para llegar al citosol, donde desarrollan su actividad proteolítica. Para realizar este proceso de transporte transmembrana de su cadena L necesitan estar en un medio con un pH ácido. Se ha demostrado que la neurotoxina tetánica sufre un cambio conformacional, pasando desde una estructura “neutra”, soluble en agua, a una estructura “ácida”, caracterizada por la exposición superficial de parches hidrófobos. Esta hidrofobicidad permite la penetración tanto de las cadenas H como L en el núcleo de hidrocarburo de la bicapa lipídica e induce la formación de canales iónicos. No obstante, existen diferentes hipótesis sobre cómo actúan estos canales iónicos en la translocación transmembrana del dominio L, pero sí se está de acuerdo en que estos canales son necesarios para que se dé el proceso (Pellizrei et al., 1999).
4. **Proteólisis:** Tanto la neurotoxina tetánica como la botulínica son proteasas específicas las cuales, tras múltiples estudios experimentales, se ha visto que solo afectan a tres familias de proteínas: SNARE, VAMP y SNAP-25. Tales proteínas pueden ser cortadas en el mismo enlace peptídico, aunque al final cada neurotoxina vaya a producir una clínica propia. Esto demuestra claramente que los diferentes síntomas se relacionan más con las diferentes dianas tisulares de intoxicación que por la existencia de un mecanismo de acción molecular distinto. Por último, cuando la neurotoxina se encuentra en el citosol celular su pH neutro induce a las cadenas a replegarse y a recuperar

su conformación neutra soluble en agua, después de la disociación del puente disulfuro intercatenario que presentaban (Grumelley et al., 2005).

#### **8.1.4 Acción neurotoxina tetánica**

La proteólisis de la proteína VAMP<sub>II</sub> impide la fusión de las vesículas sinápticas a la membrana presináptica y por tanto a la liberación de neurotransmisores. Sin embargo, la TeNT no interfiere la translocación normal de las vesículas sinápticas desde la población de reserva a la membrana presináptica, mecanismo dependiente de la calmodulina.

El tétanos afecta selectivamente a las interneuronas inhibitorias GABAérgicas y glicinérgicas debido a que estas neuronas presentan de forma selectiva la VAMP<sub>II</sub>. El resultado es la pérdida de un mecanismo inhibitorio en el asta anterior de la médula espinal, que conlleva un aumento de la actividad de las neuronas motoras frente a una estimulación sensorial manifestándose la clínica típica del tétanos (Gomez et al., 2009).

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Ackermann F., Waites C.L. and Garner C.C. Presynaptic active zones in invertebrates and vertebrates. *EMBO reports* Vol.16 No.8 (2015).
- Afshar M., Raju M., Ansell D. and Bleck T.P. Narrative review: tetanus-a health threat after natural disasters in developing countries. *Ann Intern Med* 154:329-35 (2011).
- Bear M.F. Neuroscience: Exploring the brain. Wolters Kluwer (2015).
- Bemben M, Shipman SC, Nicoll RA, Roche KW. The cellular and molecular landscape of neuroligins. *TIN* 38:496-508 (2005).
- Bourne J. and Harris K.M. Do thin spines learn to be mushroom spines that remember? *Curr. Opin. Neurobiol.* 17:381-386 (2007).
- Cajal S.R. Recuerdos de mi vida. Imprenta Juan Pueyo, Madrid (1923).
- Capani F, Martone ME, Deerinck TJ, Ellisman MH. Selective localization of high concentrations of F-actin in subpopulations of dendritic spines in rat central nervous system: a three-dimensional electron microscopic study. *J Comp Neurol.* 435:156-70 (2001).
- Chen X, Christopher D Nelson, Xiang Li, Christine A. Winters, Rita Azzam, Alioscka A. Sousa, Richard D. Leapman, Harold Gainer, Morgan Sheng, and Thomas S. Reese. PSD-95 is required to sustain the molecular organization of the postsynaptic density. *J Neurosci.* 31:6329-6338 (2011).
- Choquet D, Triller A. The role of receptor diffusion in the organization of the postsynaptic membrane. *Nature Rev Neurosci* 4:251-263 (2003)
- Colonnier, M. Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat visual cortex. An electron microscope study. *Brain Res.* 9:268-287 (1968).
- Dosemeci A, Weinberg R, Reese TS, Tao-Cheng J-H. The postsynaptic density: There is more than meets the eye. *Front Synaptic Neurosci* 8:23 (2016).
- Dunaevsky A, Tashiro A, Majewska A, Mason C and Yuste R. Developmental regulation of spines motility in the mammalian central nervous system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:13438-13443 (1999).
- Ehrlich I, Klein M, Rumpel S and Malinow, R. PSD-95 is required for activity-driven synapse stabilization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:4176-4181 (2007).
- El-Husseini A.E, Schinell E, Chetkovich D.M, Nicol R.A and Brecht D.S. PSD-95 involvement in maturation of excitatory synapses *Science* 290:1364-1368 (2000).
- Ferrus A. Capítulo 7: La sinapsis una unión necesaria entre Cajal y Sherrington (págs. 167- 181). Santiago Ramón y Cajal. Cien años después. Ediciones Pirámide (2006).

- Fiala, J.C., Feinberg, M., Popov, V., and Harris, K.M. Synaptogenesis via dendritic filopodia in developing hippocampal area CA1. *J. Neurosci.* 18:8900-8911 (1998).
- Fiala J.C., Alwardt B. and Harris K.M. Dendritic spines do not split during hippocampal LTP or maturation. *Nat. Neurosci.* 5:297-298 (2002).
- Fischer M., S. Kaech, D. Knutti and A. Matus. Rapid actin-based plasticity in dendritic spines. *Neuron* 20; 847-854 (1998).
- Garner C. and Nash J. (2001) Chemical synapses. Encyclopedia of life sciences.
- Gómez Barón J.M., Orozco Villareal A.M y Oviedo Acebedo H.C. Neurotoxina tetánica: características e importancia. *MedUNAB* Vol.2 No.4 (2009).
- Gray E.G. Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: an electron microscope study. *J. Anat* 93:420-433 (1959).
- Grumelli C., Verderio C., Pozzi D., Rossetto O., Montecucco C. and Matteoli M. Internalization and mechanism of action of clostridial toxins in neurons *Neurotoxicology* 26:761-7 (2005).
- Gu L., Kleiber S., Schmid L., Nebeling F., Chamoun M., Steffen J., Wagner J. and Fuhrmann M. Long-term in vivo imaging of dendritic spines in the hippocampus reveals structural plasticity. *J Neurosci.* 34:13948-53 (2014).
- Harris K.M., Jensen F.E. and Tsao B. Three-dimensional structure of dendritic spines and synapses in rat hippocampus (CA1) at postnatal day 15 and adult ages: Implications for the maturation of synaptic physiology and long-term potentiation. *J. Neurosci.* 12:2685-2705 (1992).
- Hill, T.C., and Zito, K. LTP-induced long-term stabilization of individual nascent dendritic spines. *J. Neurosci.* 33:678–686 (2013).
- Ho V.M., Lee J.A. and Martin K.C. The cell biology of synaptic plasticity. *Science* 334:623-628 (2011)
- Hofer S.B., Mrsic-Flogel T.D., Bonhoeffer T. and Hubener M. Experience leaves a lasting structural trace in cortical circuits. *Nature* 457:313-317 (2009).
- Holtmaat A.J., Trachtenberg J.T., Wilbrecht L., Shepherd G.M., Zhang X., Knott G.W. and Svoboda K. Transient and persistent dendritic spines in the neocortex in vivo. *Neuron* 45:279-291 (2005).
- Hotulainen P. and Hogenrood C.C. Actin in dendritic spines: connecting dynamics to function. *J. Cell Biol.* Vol.189 No.4:619-629 (2010).
- Humeau Y., Doussau F., Grant N. and Poulain B. How botulinum and tetanus neurotoxins block neurotransmitter release. *Biochimie* Volume 82, Issue 5, May, Pages 427-446 (2000).
- Johannes W. Hell. CaMKII: Claiming Center Stage in Postsynaptic Function and Organization. *Neuron* 81:249-265 (2014)
- Kasai H., M. Fukuda, S. Watanabe, A. Hayashi-Takagi and J. Noguchi. Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. *Trends Neurosci.* 33:121-129 (2010).

- Kim E. and Sheng M. PDZ domain proteins of synapses. *Nat Rev Neurosci.* 5:771-81 (2004).
- Krstic RV. Ultraestructura de las células de los mamíferos. EUNIBAR (1979)
- Lafarga M, Berciano MT. Estructura funcional de la neurona y de la sinapsis. En: Neurofarmacología Fundamental y Clínica. Ed. J Florez y JM Martínez-Lage, EUNSA (1983).
- Lafarga M. Biología celular de las neuronas y de la sinapsis. Ediciones Universidad de Cantabria (1994).
- Lafarga M. Clases de la Neurona y Sinapsis en Biología Celular y Tisular. Aula Virtual de la UC (2018).
- Lendvai B., Stern E.A., Chen B. and Svoboda K. Experience-dependent plasticity of dendritic spines in the developing rat barrel cortex in vivo. *Nature* 404:876-881 (2000).
- MacGillavry H.D. and C.C. Hoogeraad. The internal architecture of dendritic spines revealed by super-resolution imaging: What did we learn so far? *Exp. Cell. Res.* 335:180-6 (2015).
- Mackowiak M., P. Mordalska and K. Wedzony. Neuroligins, synapse balance and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol Rep.* 66:830-5 (2014).
- Matsuzaki, M., Ellis-Davies, G.C., Nemoto, T., Miyashita, Y., Iino, M., and Kasai, H. Dendritic spine geometry is critical for AMPA receptor expression in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Nat. Neurosci.* 4:1086–1092 (2001).
- Montecucco C. and Schiavo G. Mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins. *Mol Microbiol.* 13:1-8 (1994).
- Newpher TM and Ehler M.D. Spines microdomains for postsynaptic signaling and plasticity. *Trends Cell Biol.* 10:218-227 (2009).
- Nimchinsky E.A., B.L. Sabatini and K. Svoboda. Structure and function of dendritic spines. *Annu. Rev. Physiol.* 64:313-353 (2002).
- Naisbitt S, Kim E, Tu JC, Xiao B, Sala C, Valtschanoff J, Weinberg RJ, Worley PF, Sheng M. Shank, a novel family of postsynaptic density proteins that binds to the NMDA receptor/PSD-95/GKAP complex and cortactin. *Neuron* 23:569-82 (1999).
- Nolt MJ, Lin Y, Hruska M, Murphy J, Sheffler-Colins SI, Kayser MS, Passer J, Bennett MV, Zukin RS and Dalva MB. EphB controls NMDA receptor function and synaptic targeting in a subunit-specific manner. *J Neurosci* 31:5353-64 (2011).
- Nusser Z. Cell type and pathway dependence of synaptic AMPA receptor number and variability in the hippocampus. *Neuron* 21:545-559 (1998).
- Palade, G.E. y Palay, S.L. Electron microscope observations of interneuronal and neuromuscular synapses. *Anat. Rec.* 118:335-336 (1954).
- Parnass Z. Analysis of spines morphological plasticity in developing hippocampal pyramidal neurons. *Hippocampus* 10:561-568 (2000).

Pascual F.B., McGinley E.L., Zanardi L.R., Cortese M.M. and Murphy T.V. Tetanus surveillance—United States, 1998-2000. *MMWR Surveill Summ.* 52:1-8 (2003)

Pellizzari R., Rossetto O., Schiavo G. and Montecucco C. Tetanus and botulinum neurotoxins: mechanism of action and therapeutic uses. *Philosophical Transactions of The Royal Society B Biological Sciences* 354:259-68 (1999).

Peter A, Palay S and Webster H. The fine structure of the nervous system: Neurons and their supporting cells (Third edition) Oxford University Press. Pags 150-196 (1991)

Peters A and Kaiserman-Abramof I.R. The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex. The perikaryon, dendrites and spines. *Am. J. Anat.* 127:573-590 (1970).

Porrero J.A. y Hurlé J.M. Neuroanatomía humana. Edición Panamericana (2014).

Redolar, D. Sección 1.3 Introducción a la organización del sistema nervioso (págs. 67-110). *Neurociencia Cognitiva* Panamericana (2014).

Reinhard J, Fasshauer D. Molecular machines governing exocytosis. *Nature* 490:201-210 (2012)

Rhee P., Nunley M.K., Demetriades D., Velmahos G. and Doucet J.J. Tetanus and trauma: a review and recommendations. *J Trauma.* 58:1082-8 (2005).

Seong E, Yuan L and Arikath J. Cadherins and catenins in dendrite and synapse morphogenesis. *Cell Adh Migr* 9:202-213 (2015)

Sheng M. and Hoogenraad CC. The postsynaptic architecture of excitatory synapses: a more quantitative view. *Annu Rev Biochem.* 76:823-47 (2007)

Sheng M. and Hoogenraad CC. The postsynaptic organization of synapses. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 3:a005678 (2011)

Sherrington C. A textbook of physiology. MacMillan, London (1897).

Shinohara Y. Quantification of postsynaptic density proteins: Glutamate receptor subunits and scaffolding proteins. *Hippocampus* 22:942-953 (2011).

Shupliakov O. and Brodin L. Recent insights into the building and cycling of synaptic vesicles. *Exp. Cell. Res.* 316:1344-1350 (2010)

Silverthorn. Fisiología humana: Un enfoque integrado Editorial: Panamericana. (2007).

Soria Fregozo C. and Pérez Vega M.I. Actin-binding proteins and signalling pathways associated with the formation and maintenance of dendritic spines. *Neurología.* 27:421-31 (2012)

Steven J. Coultrap and K. Ulrich Bayer. CaMKII regulation in information processing and storage. *Trends Neurosci.* 35:607-618 (2012).

Stock I. Tetanus and clostridium tetani—a brief review. *Med Monatsschr Pharm.* 38:57-60 (2015).

Südhof T. The synaptic vesicle cycle. *Ann Rev Neurosci.* 27:509-547 (2004).

Takeichi M. The cadherin superfamily in neuronal connections and interactions. *Nature Rev Neurosci* 8:11-21 (2007).

Yang G., Pan F, and Gan W.B. Stably maintained dendritic spines are associated with lifelong memories. *Nature* 462:920-924 (2008)

Zhou, Q., Homma, K.J., and Poo, M.M. Shrinkage of dendritic spines associated with long-term depression of hippocampal synapses. *Neuron* 44:749–757 (2004).

Zhu JJ, Qin Y, Zhao M, Van Aelst L, Malinow R. Ras and Rap control AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity. *Cell.* 110:443-55 (2002).

Ziv N.E. and Smith S.J. Evidence for a role of dendritic filopodia in synaptogenesis and spines formation. *Neuron* 17:91-102 (1996).

Zuo, Y., Lin, A., Chang, P., and Gan, W.B. Development of long-term dendritic spine stability in diverse regions of cerebral cortex. *Neuron* 46:181–189 (2005).