

Hipoplasia cerebelosa agranular: ¿Mutación de un gen regulador específico para la neurona granular?

*Harvey B. Sarnat, M.D., F.R.C.P.C.

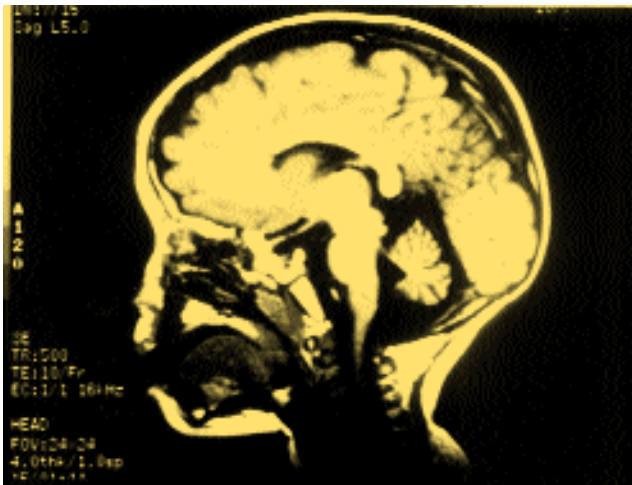
*Departamento de Neurología, Pediatría y Patología (Neuropatología)
Universidad de Washinton, Facultad de Medicina. Seattle, Washinton, EE.UU.

RESUMEN

Se presenta un tipo especial de hipoplasia cerebelosa que se caracteriza por la ausencia de neuronas granulares con la conservación de otras clases de células de la corteza cerebelosa. Esta condición se ha considerado tradicionalmente como una degeneración cerebelosa que inicia desde la vida fetal, aunque falta la evidencia de un proceso degenerativo. Otra hipótesis es que esta malformación se debe a una mutación y a la falta de expresión de uno de varios genes reguladores que programan la diferenciación específica de la célula granular.

Neurociencia 2001; 2(1):8-12

Figura 1



Corte sagital de IRM-T1 de un niño de 2.5 años con hipoplasia cerebelosa, mostrando un vermis pequeño con folios prominentes debidas a los espacios interfoliales amplios; el 4º ventrículo y las cisternas cerebelosas son grandes. Las circunvoluciones cerebrales, el cuerpo calloso, el tálamo y el tallo cerebral están bien formados.

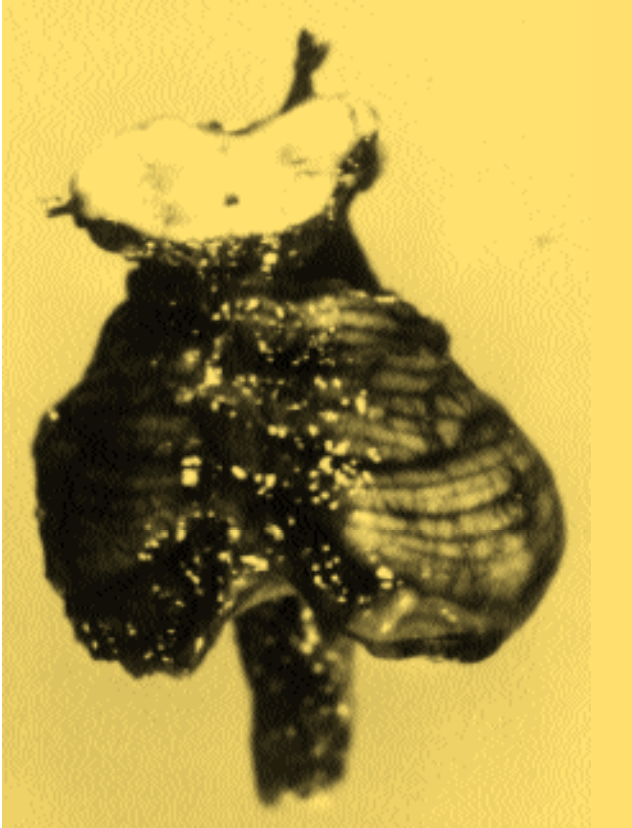
Correspondencia y reimpresos: Dr. Harvey B. Sarnat, Children's Hospital and Regional Medical Center, Neurology/Neuropathology CH-49, 4800 Sand Point Way N.E., Seattle, WA 98105 EE.UU. Tel. 2065262078, Fax. 2065282649 e-mail: hsarna@chmc.org.

INTRODUCCIÓN

La hipoplasia cerebelosa agranular es una variedad específica dentro de muchos otros tipos de hipoplasias cerebelosas que pueden existir en forma aislada o asociadas a malformaciones cerebrales. Sus características clínicas no se distinguen de otros trastornos congénitos del cerebelo, y los estudios de neuroimagen sólo demuestran una hipoplasia global del vermis y de los hemisferios con conservación del tallo cerebral incluyendo la base del puente. El examen neuropatológico muestra el hallazgo diagnóstico desde el nacimiento: ausencia total de las neuronas granulares incluyendo la capa granular externa, con la presencia de las células de Purkinje, las gliales de Bergmann y los demás tipos de neuronas de la corteza cerebelosa. Hasta ahora, esta condición se ha considerado una degeneración cerebelosa que inicia en la vida fetal, pero los nuevos datos genéticos moleculares sugieren otra hipótesis alterna.

La hipoplasia cerebelosa es una característica de muchas enfermedades metabólicas y neurodegenerativas de la lactancia y la niñez, y es parte de muchas malformaciones cerebrales más globales. Una forma de hipoplasia cerebelosa, descrita originalmente por RM Norman en 1940¹ y posteriormente confirmada con más detalles por otros autores^{2,3,4,5,6,7,8,9}, se caracteriza por la ausencia de las células granulares externas e internas, a pesar de una cantidad normal de células de Purkinje, de canasta, de Golgi y otras neuronas de la corteza cerebelosa y de los núcleos cerebelosos profundos. Por lo general, la arquitectura de la corteza cerebelosa está conservada, aunque no es perfecta; las dendritas de Purkinje tienen terminaciones dilatadas debido a la escasez de sinapsis con los axones de las neuronas granulares que normalmente forman las fibras paralelas de la zona molecular^{8,9}. Los astrocitos, incluyendo las células gliales de Bergmann, están presentes y generalmente proli-

Figura 2



Aspecto dorsal de un cerebelo hipoplásico que muestra el sub-desarrollo del vermis y también de los hemisferios. La superficie del mesencéfalo en corte transversal (arriba) muestra el acueducto de tamaño normal. Coágulo sanguíneo fresco que cubre el aspecto posterior del hemisferio cerebeloso izquierdo, una lesión que no tiene relación con la hipoplasia.

feran. En estos casos, el cerebelo no muestra ninguno de los hallazgos típicos de la necrosis hipóxica-isquémica, de la degeneración neuronal o la autólisis postmortem, *la état glacé*.

HIPÓTESIS

La hipoplasia cerebelosa agranular proviene de la mutación de un gen regulador para la programación específica de la neurona granular del cerebelo.

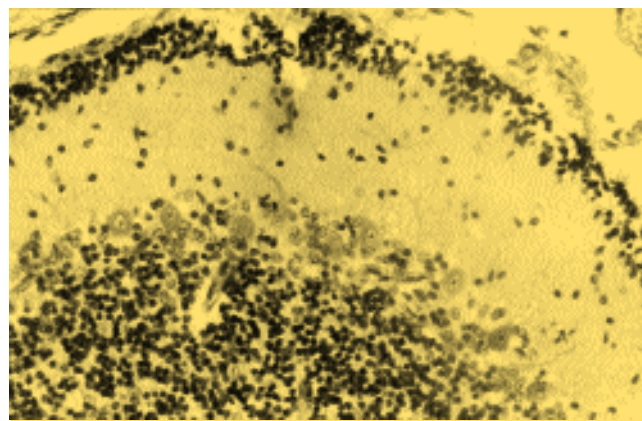
ORIGEN DE LAS NEURONAS GRANULARES

Toda la corteza cerebelosa, tanto del vermis como de los hemisferios, se desarrolla del primer rombómero embrionario, con una contribución también de la parte más caudal del neurómero mesencefálico^{10,11}; las neuronas de los núcleos cerebelosos profundos se forman del segundo rombómero. Los genes organizadores "homeobox"

Wnt1, En 1 y En 2 son obligatorios para la cerebelogénesis. La falta de cualquiera de estos tres genes ocasiona la ausencia del mesencéfalo y del puente rostral (metencéfalo) y agenesia total del cerebelo, es decir las estructuras derivadas del rombómero 1, aunque la mutación de En 2 puede causar una hipoplasia cerebelosa en vez de aplasia total, pero no faltan las neuronas granulares, en el ratón¹² y también en el humano¹³. El origen de las células granulares es diferente al de las neuronas que provienen del labio rómbico de His que forma el piso del 4º ventrículo, y que se convierten en las células de Purkinje y las neuronas de los núcleos cerebelosos, olivares inferiores y pontinas. El primordio de las células granulares es una capa más dorsal en la región de la unión del mesencéfalo y el metencéfalo¹⁴. Estas células se esparcen por encima de la superficie de la corteza cerebelosa a partir de la 8ª semana de gestación. Para la 16ª semana, el cerebelo cubre todo el 4º ventrículo y su superficie subpial tiene una capa completa de neuronas granulares de 8 células de espesor.

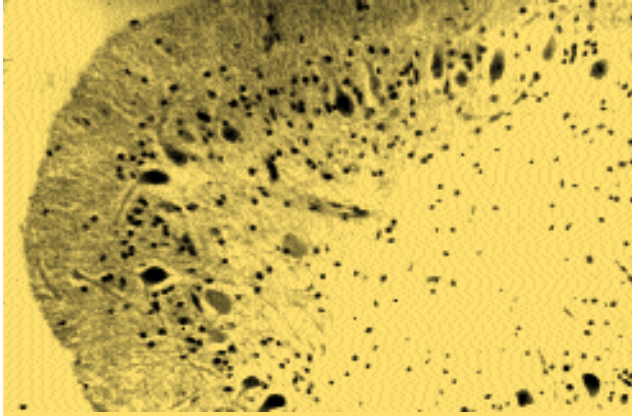
La zona externa de la capa granular externa incluye células que aún se encuentran en el ciclo mitótico y la zona interna consiste en neuroblastos postmitóticos, premigratorios. Estas zonas proyectan sus axones a la zona molecular antes de migrar, unidas a las prolongaciones gliales de Bergmann para llegar a su sitio final dentro de la folia. Esta migración en el humano no termina hasta después de un año de edad, y las células granulares conservan su potencial mitótico por mucho más tiempo que casi todas las demás neuronas del SNC.

Figura 3



Sección de la corteza cerebelosa normal de un neonato a término, mostrando la arquitectura de la capa granular externa, la zona molecular, la capa de células de Purkinje y la capa granular interna. Las neuronas granulares externas se ven migrando por la zona molecular; la capa granular no termina su migración hasta los 12 a 18 meses de edad. Hematoxilina y eosina. X250.

Figura 4



Sección de la corteza cerebelosa de un niño a término de 2 meses con hipoplasia cerebelosa agranular. Faltan todas las neuronas granulares, externas e internas, pero están presentes las células de Purkinje y forman una capa que parece normal. Los núcleos pequeños en todas partes de la corteza cerebelosa son células gliales, aunque algunos son neuronas en canasta y de Golgi. Comparar con la Figura 3. Hematoxilina y eosina. X100.

El cerebelo está dividido en compartimientos. Los módulos de neuronas granulares son anatómicos con circuitos distintos de otros compartimientos y con funciones distintas e individuales^{15,16}.

PATOGÉNESIS DE LA HIPOPLASIA CEREBELOSA AGRANULAR.

La mayoría de los autores que han descrito estos casos suponían que era un proceso degenerativo de las células granulares y que en realidad correspondía una atrofia cerebelosa, aunque es evidente desde el nacimiento. La única evidencia que apoya este concepto es la arquitectura general conservada de la corteza cerebelosa con capas molecular y de Purkinje. Algunos casos familiares de hermanos afectados sugieren una transmisión autosómica recesiva^{1,2,3,4} y otros casos son esporádicos.

Existe poca evidencia de una lesión hipóxica-isquémica fetal para explicar la hipoplasia cerebelosa agranular; las células de Purkinje en general son menos resistentes a la hipoxia que las células granulares.

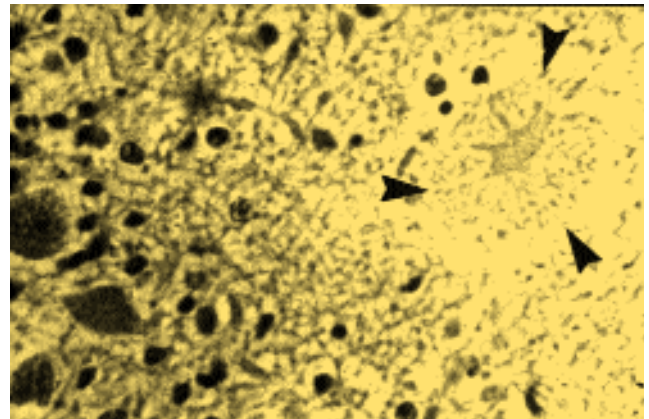
La posibilidad de que la hipoplasia cerebelosa agranular se deba a una mutación de un gen del desarrollo que específicamente programa la diferenciación y el mantenimiento de la célula granular no se había considerado hasta ahora. La conservación de las capas de la corteza cerebelosa no necesi-

ariamente significa que es un proceso degenerativo de las neuronas granulares y que todos los tipos de células necesitan estar presentes para formar la arquitectura normal pues el proceso ocurre por lo menos en el medio de la gestación, antes de que la gran mayoría de neuronas granulares hayan migrado de la capa externa. Las neuronas granulares externas desarrollan la polaridad de sus axones y dendritas aun en los cultivos celulares, en ausencia de señales espaciales de la corteza cerebelosa¹⁷.

REGULACIÓN GENÉTICA DEL DESARROLLO DE LA CORTEZA CEREBELOSA.

Varios genes reguladores son importantes no sólo para la diferenciación de los tipos específicos de células de la corteza cerebelosa, sino también para la conservación de su identidad en la edad adulta. Además, algunos genes que especifican factores neurotróficos son igualmente precisos para la identidad de neuronas granulares: BDNF (*brain-derived growth factor*: factor de crecimiento derivado del cerebro)¹⁹; NT-4/5 (neurotrophic factor 4/5; factor neurotrófico 4/5)²⁰; IGF-I (insulin-like growth factor I; factor de crecimiento parecido a la insulina I)²¹. Las fibras musgosas glutamínérgicas, que son las aferentes para las neuronas granulares, producen un efecto neurotrófico por medio de los receptores NMDA durante el desarrollo del cerebelo³⁰. Por último, los genes que programan los canales de potasio y son activados por voltaje, Kv3.1 y Kv4.2 en especial, también se ex-

Figura 5



Alta magnificación de la sección de la Figura 4. Las neuronas grandes a la izquierda son de Purkinje. Los núcleos pequeños son células gliales. A la derecha, indicado por flechas, se ve un "cuerpo asteroide" o "cuerpo cacto", que representa una dendrita dilatada y distorsionada de una neurona de Purkinje, una disgenesia citológica secundaria a la falta de estimulación sináptica por los axones de las células granulares que deben formar las fibras paralelas de la zona molecular. Hematoxilina y eosina. X400.

TABLA 1: LOS GENES ASOCIADOS A LAS CÉLULAS ESPECÍFICAS DE LA CORTEZA CEREBELOSA

Tipo de Célula	Gen Regulador Producto de transcripción o Neurotrofina	Referencias
Neurona de Purkinje	Wnt3	18
Célula glial de Bergmann	Pax3	19,20
Neurona granular	Pax2	21
	Pax6	19,20
	Zic1	22,23
	RU49	24
	Math1	25
	BDNF	26
	NT-4/5	27
	IGF-1	28
	Kv3.1; Kv4.2	29
	Glutamato	

presan fuertemente en las células granulares premigratorias de la capa externa y en las células granulares internas, pero no en otras neuronas cerebelosas²².

Las interacciones entre las neuronas de Purkinje y las granulares, son otro factor molecular genético importante, no sólo por sus circuitos sinápticos sino también por su expresión genética, para conservar la identidad de las células individuales¹⁸. Las células de Purkinje expresan el gen Sonic hedgehog (Shh) que es reconocido por los receptores del gen Patched (Ptc) de las células granulares y sirve de un mitógeno; Ptc suprime la expresión de otro gen, Smoothened (Smo); estas relaciones conservan las proporciones exactas entre estas células, las cuales son específicas para cada especie de vertebrado, y en el humano es aproximadamente de 1:3,000²⁹. Las mutaciones en Ptc resultan en la proliferación no controlada de las células granulares, y con transformación neoplásica al meduloblastoma en el ratón³⁰ y también en el humano²⁹. Los estudios de la replicación del ADN también indican la importancia de las relaciones entre neuronas granulares y otras células cerebelosas para regular su proliferación³².

La hipótesis propuesta puede probarse en el humano al demostrar la expresión o falta de expresión de los diversos genes candidatos, en secciones de tejido cerebral y cerebeloso de autopsia, inmediatamente después de la muerte, empleando

técnicas de hibridización *in situ* e inmunocitoquímica. Estos estudios se llevan a cabo actualmente en nuestro laboratorio.

REFERENCIAS

1. Norman RM. Primary degeneration of granular layer of the cerebellum: an unusual form of familial cerebellar atrophy occurring early in life. *Brain* 1940;63:365-379.
2. Jervis GA. Concordant primary atrophy of the cerebellar granules in monozygotic twins. *Acta Genet Med Gemollog* 1954;3:153-162.

Figura 6

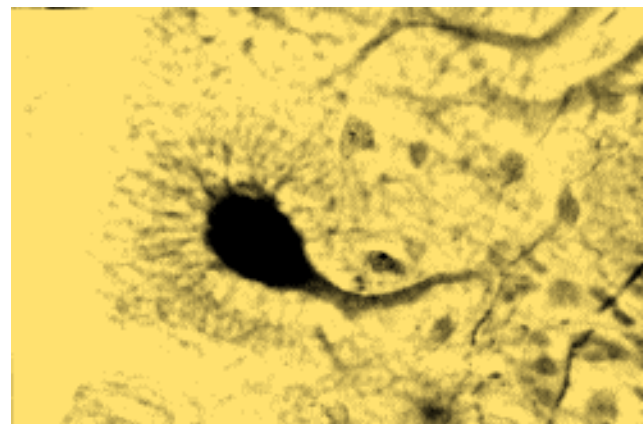


FIGURA 6. El mismo cerebelo mostrado en Figuras 4 y 5. La impregnación de plata muestra que el cuerpo asteroide es una terminación dendrítica de una célula de Purkinje. No se ven espinas dendríticas. Técnica de Bielschowsky. X400.

3. Grob E. Ein Fall von primären systematischer Kleinhirnrindentrophie van Koretypus bei familiärem konnatalem Kleinhirnsyndrom. *Dtsch Z Nerven* 1961;182:362-390.
4. Goulon M, Escourolle R, Barois A. et al. L'atrophie primitive de la couche des grains du cervelet de RM Norman. *Étude de deux cas. Presse Méd* 1968;76:1091-1094.
5. Bugiani O, Berio A, Di Stefano A, et al. Early degeneration of the cerebellar cortex, particularly the granule cells. *J Neurol* 1978;219:177-183.
6. Lapresle J, Annabi A. Atrophie congénitale et sporadique de la couche de grains du cervelet avec dégénérescence pontocérébelleuse secondaire. *Rev Neurol (Paris)* 1979;135:885-893.
7. Chou SM, Mizuno Y, Rothner AD. Congenital granulo-prival hypoplasia of cerebellar and hippocampal cortex. *J Child Neurol* 1987; 2:279-286.
8. Sarnat HB, Alcalá H. Human cerebellar hypoplasias: a syndrome of diverse causes. *Arch Neurol* 1980; 37:300-305.
9. Sarnat HB. *Cerebral Dysgenesis. Embryology and Clinical Expression.* New York: Oxford University Press. 1992.
10. Martínez S, Alvarado-Mallart R-M. Rostral cerebellum originates from the caudal portion of the so-called 'mesencephalic' vesicle: a study using chick/quail chimeras. *Eur J Neurosci* 1989;1:549-560.
11. Wingate RJ, Hatten ME. The role of the rhombic lip in avian cerebellar development. *Development* 1999;126:4395-4404.
12. McMahon AP, Joyner AL, Bradley A, McMahon JA. The mid-brain-hindbrain phenotype of *Wnt-1/Wnt-1-* mice results from stepwise deletion of engrailed-expressing cells by 9.5 days postcoitum. *Cell* 1992;69:581-595.
13. Sarnat HB, Benjamin DR, Siebert JR, Cheyette ST. Agenesis of the midbrain and upper pons with cerebellar hypoplasia in two infants: putative defective expression of the EN2 gene. Report of two human cases. *Dev Ped Pathol* 2000: in press.
14. Adler J, Cho NK, Hatten ME. Embryonic precursor cells from the rhombic lip are specified to a cerebellar granule neuron identity. *Neuron* 1996; 17:389-399.
15. Ozol KO, Hawkes R. Compartmentation of the granular layer of the cerebellum. *Histol Histopathol* 1997;12:171-184.
16. Herrup K, Kuemerle B. The compartmentalization of the cerebellum. *Annu Rev Neurosci* 1997;20:61-90.
17. Powell SK, Rivas RJ, Rodríguez-Boulán E, Hatten ME. Development of polarity in cerebellar granule neurons. *J Neurobiol* 1997;32:223-236.
18. Salinas PC, Fletcher C, Copeland NG, et al. Maintenance of WNT-3 expression in Purkinje cells of the mouse cerebellum depends on interactions with granule cells. *Development* 1994; 120:1277-1286.
19. Stoykova A, Gruss P. Roles of Pax genes in developing and adult brain as suggested by expression patterns. *J Neurosci* 1994; 14:1395-1412.
20. Hatten ME, Alder J, Zimmerman K, Heinz N. Genes involved in cerebellar cell specification and differentiation. *Curr Opin Neurobiol* 1997;7:40-47.
21. Rowitch DH, Kispert A, McMahon AP. Pax-2 regulatory sequences that direct transgenic expression in the developing neural plate and external granule cell layer of the cerebellum. *Dev Brain Res* 1999;117:99-108.
22. Aruga J, Yokota N, Hashimoto M, et al. A novel zinc finger protein, Zic, is involved in neurogenesis, especially in the cell lineage of cerebellar granule cells. *J Neurochem* 1994;63:1880-1890.
23. Aruga J, Minowa O, Yagunuma H. et al. Mouse *Zic1* is involved in cerebellar development. *J Neurosci* 1998;18:284-293.
24. Yang XW, Zhong R, Heintz N. Granule cell specification in the developing mouse brain as defined by expression of the zinc finger transcription factor RU49. *Development* 1996;122:555-566.
25. Ben-Arie N, Bellen HJ, Armstrong DL. *Math1* is essential for genesis of cerebellar granule neurons. *Nature* 1997;390:169-172.
26. Lin X, Bulleit RF. Insulin-like growth factor I (IGF-I) is a critical trophic factor for developing cerebellar granule cells. *Dev Brain Res* 1997; 99:234-242
27. Shibata R, Wakazono Y, Nakashira K, et al. Expression of *Kv3.1* and *Kv4.2* genes in developing cerebellar granule cells. *Devel Neurosci* 1999;21:887-93.
28. Burgoyne RD, Graham ME, Cambray-Deakin M. Neurotrophic effects of NMDA receptor activation on developing cerebellar granule cells. *J Neurocytol* 1993;22:689-695.
29. Wechsler-Reya F, Scott MP. Control of neuronal precursor proliferation in the cerebellum by Sonic hedgehog. *Neuron* 1999;22:103-114.
30. Goodrich LV, Mienkovic L, Higgins KM, Scott MP. Altered neural cell fates and medulloblastoma in mouse patched mutants. *Science* 1997; 277:1109-1113.
31. Walter, M, Reifenberger J, Summer C, et al. Mutations in the human homologue of the *Drosophila* segment polarity gene patched (PTCH) in sporadic basal cell carcinoma of the skin and primitive neuroectodermal tumors of the central nervous system. *Cancer Res* 1997;57:2581-2585.
32. Gao W-Q, Heintz N, Hatten ME. Cerebellar granule cell neurogenesis is regulated by cell-cell interactions in vitro. *Neuron* 1991;6:705-715.