



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

### ***Discurso del Doctorando Dr. Hubert Vaudry***

Es para mí un inmenso honor recibir el Grado de Doctor “Honoris Causa” de la prestigiosa Universidad de Córdoba. Aunque sinceramente creo no ser merecedor de tal distinción, esta ocasión me da no obstante la oportunidad de expresar públicamente mi gratitud al Profesor Dr. Francisco Gracia Navarro y a sus colegas por la excepcional colaboración que hemos mantenido durante los últimos quince años. Conocí al Dr. Gracia Navarro y a la Dra. María Malagón (quien era su estudiante predoctoral en aquel momento) por primera vez en el Congreso Internacional de Endocrinología Comparada que tuvo lugar en Málaga en 1989. Posteriormente, el Profesor Dr. Francisco Gracia Navarro realizó una visita como Profesor Invitado en la Universidad de Rouen en 1991 y la Dra. Malagón permaneció durante dos años como becaria postdoctoral en mi laboratorio. Esto supuso el inicio de una intensa y muy fructífera colaboración, subvencionada por varios



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

proyectos europeos, que ha permitido el intercambio de muchos estudiantes e investigadores entre ambas Universidades y que recientemente se ha extendido también al laboratorio del Dr. Manuel Tena Sempere, habiendo dado lugar a la publicación de más de veinte artículos conjuntos. Pero, sin lugar a dudas, el resultado máspreciado de esta larga colaboración (que, espero, durará muchos años) es la profunda amistad que hemos establecido a lo largo de los años y para la cual no hay palabras que puedan hacer justicia.

El famoso actor Woody Allen dijo una vez: *“el cerebro es mi segundo órgano favorito”*. Aunque Woody Allen no es neurobiólogo ni endocrinólogo, es una persona sabia y, como tal, instintivamente comprendió que el cerebro no puede operar sin la contribución de otros órganos del cuerpo, los llamados órganos periféricos. De hecho, en mi país este concepto se ha puesto en práctica con mucho éxito.

Nuestro cerebro necesita nutrientes que son suministrados por el tracto digestivo. Nuestro cerebro necesita oxígeno, que proviene del sistema respiratorio. Nuestro cerebro también necesita información para funcionar



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

correctamente. El cuerpo (los órganos periféricos) pueden usar dos rutas diferentes para informar al cerebro: la ruta neuronal y la ruta humoral (también llamada hormonal).

La información neuronal es suministrada principalmente por los órganos sensoriales. Cada vez que tomamos una ducha, probamos la temperatura del agua con los dedos. La información (la temperatura del agua) se transfiere al cerebro desde los nervios sensoriales a través de la médula espinal y entonces el cerebro decidirá si la temperatura es la adecuada o se tiene que ajustar. Este es un ejemplo de información neuronal llevada al cerebro.

El cuerpo también suministra información hormonal al cerebro. Las hormonas son mensajeros químicos producidos por órganos especializados (llamados glándulas endocrinas) que se liberan a la circulación y se transportan a cierta distancia para que actúen sobre otros órganos. Normalmente, el cerebro está separado del cuerpo por un filtro riguroso llamado la barrera hematoencefálica, la cual aísla selectivamente el cerebro y protege las células nerviosas de las acciones perjudiciales de agentes



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

químicos que circulan en la sangre. Así, a través de la barrera hematoencefálica solamente pueden filtrarse moléculas seleccionadas. Entre estas moléculas se encuentran: el agua, electrolitos (iones), glucosa y algunas hormonas.

Normalmente, las hormonas que atraviesan la barrera hematoencefálica son moléculas lipofílicas pequeñas, principalmente hormonas tiroideas y esteroideas. Las hormonas tiroideas son absolutamente esenciales para el cerebro. Un déficit de hormonas tiroideas en el recién nacido causará defectos importantes en el desarrollo del cerebro, provocando un retraso mental severo denominado idiotismo.

De manera similar, las hormonas esteroideas son esenciales para el desarrollo, crecimiento y diferenciación del sistema nervioso central. Las hormonas esteroideas son producidas principalmente por tres tipos de glándulas endocrinas: el testículo, el ovario y la glándula adrenal (cortex adrenal). Existen muchos ejemplos que demuestran la importancia de las hormonas esteroideas para el funcionamiento correcto del cerebro. Por ejemplo, los cordobeses saben bien que la castración de un toro, mediante



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

la supresión del suministro de la hormona testosterona masculina, afecta profundamente al comportamiento del animal, y reduce de una manera notable la agresividad y la actividad sexual. Cuando llega la menopausia, la caída dramática de estrógenos suele provocar problemas de sueño y trastornos psicológicos. En cuanto a las hormonas producidas por el cortex adrenal, un estudio de Bruce McEwen mostró que un exceso en la secreción de cortisol puede provocar daños a ciertas neuronas cerebrales, concretamente puede causar atrofia de las neuronas del hipocampo relacionadas con la memoria. Estos ejemplos ilustran la importancia del control que ejercen las hormonas esteroideas sobre el cerebro.

Recientemente, los investigadores han descubierto que sobre el cerebro también actúan otro tipo de hormonas. Estas hormonas se producen en varios órganos periféricos: por ejemplo, el cerebro recibe señales de la insulina, producida por el páncreas, la ghrelina, producida por el estómago, el PYY<sub>3-36</sub>, producido por el intestino y la leptina, producida por el tejido adiposo. Este nuevo concepto se ha recibido con cierto grado de escepticismo. Por una parte, todas estas hormonas son proteínas o polipéptidos pequeños que no se creía que fuesen capaces de atravesar la



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

barrera hematoencefálica. Pero ahora, los investigadores han identificado sistemas de transportadores utilizados por estas hormonas peptídicas para atravesar la barrera hematoencefálica. Por otra parte, es sorprendente que nuestro estómago e incluso nuestros depósitos de grasa actúen como glándulas endocrinas que mandan mensajeros a nuestro cerebro para informarle sobre la situación de las reservas energéticas del cuerpo, y así poder decidir si debemos comer o dejar de comer. En conjunto, estas observaciones revelan que nuestro cerebro está bajo la influencia de un número de hormonas que se originan en varios órganos periféricos del cuerpo.

En las últimas décadas ha surgido un nuevo concepto: nuestro cerebro no es sólo la diana para hormonas, sino que también es fuente de hormonas. En particular, ahora se ha establecido firmemente que varias poblaciones de células en el cerebro producen hormonas esteroideas que actúan dentro del mismo modulando la actividad de otras células nerviosas.

Dos investigadores franceses, Etienne Emile Baulieu y Paul Robel han jugado un papel importante en este campo. Primero, ellos descubrieron que



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

ciertas hormonas esteroideas, como la pregnenolona y la dehidroepiandrosterona (DHEA), están presentes a una mayor concentración en el cerebro que en el plasma sanguíneo. Segundo, mostraron que la castración y la adenolectomía, que suprimen las hormonas esteroideas del plasma, no afectan a la concentración de estas hormonas en el cerebro. Tercero, encontraron que las variaciones circadianas de los niveles de estas hormonas son muy diferentes en el plasma y en el cerebro. Estas simples observaciones sugirieron fuertemente que algunos de los esteroides que actúan en el cerebro son de hecho sintetizados en el cerebro.

La biosíntesis de hormonas esteroideas requiere la presencia de enzimas que catalizan la formación de estos esteroides. Por ejemplo, una enzima catalizará la conversión del colesterol, el precursor de todas las hormonas esteroideas, en pregnenolona. Entonces, una segunda enzima convertirá la pregnenolona en la hormona esteroidea femenina, la progesterona, y así sucesivamente. Por lo tanto, si el cerebro sintetiza realmente esteroides, algunas células en el cerebro deben expresar las enzimas necesarias para la formación de esteroides.



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

Para investigar esta cuestión, nosotros hemos utilizado esta bella criatura, la rana verde europea, *Rana esculenta*. El famoso biólogo Hans Krebs solía decir que “*Dios siempre ha creado el organismo correcto para cualquier problema biológico que queramos estudiar*”. Realmente, yo creo que la rana debe ser el organismo que Dios ha creado para el estudio de la biosíntesis de esteroides en el cerebro, en particular porque en estos animales la expresión de las enzimas esteroidogénicas es mucho más intensa que en mamíferos y así, la síntesis de neuroesteroides es mucho más activa.

Me gustaría ilustrar dos ejemplos de enzimas esteroidogénicas que son expresadas en el cerebro de la rana. La primera es la 3- $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa. Esta enzima es muy importante ya que convierte la pregnenolona en progesterona, la 17-hidroxipregnenolona en 17-hidroxiprogestero y la dehidroepiandrosterona (DHEA) en androstenediona. Por lo tanto, esta enzima se requiere para la síntesis de corticosterona y aldosterona (a partir de pregnenolona), cortisol (a partir de 17-hidroxiprogestero) y testosterona y estrógenos (a partir de androstenediona).

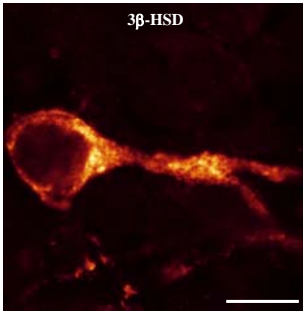




UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)



Nos interesó entonces conocer si esta enzima está de hecho presente en el cerebro. Para responder a esta pregunta, hemos producido un anticuerpo contra esta enzima (3- $\beta$ -HSD), y lo hemos usado para la detección inmunofluorescente de la enzima. En la figura se muestra que ciertas células contienen la enzima. Estas células son exclusivamente neuronas, no células gliales, y están localizadas en una parte restringida del cerebro, llamada el hipotálamo. La enzima no sólo se concentra en el cuerpo celular sino también en terminales nerviosos. Y mediante preadsorción del anticuerpo con la enzima, pudimos demostrar la especificidad de la inmunorreacción.

También hemos investigado la presencia en el cerebro de otra enzima, llamada citocromo P450<sub>C17</sub>. Esta enzima también es muy importante y posee una actividad doble. Por un lado, cataliza la hidroxilación del precursor esteroide en la posición 17; así la pregnenolona se convierte en 17-hidroxipregnenolona y progesterona en 17-hidroxiprogestero. Por otro lado, la enzima posee actividad liasa y, así, puede convertir la 17-hidroxipregnenolona en DHEA y la 17-hidroxiprogestero en



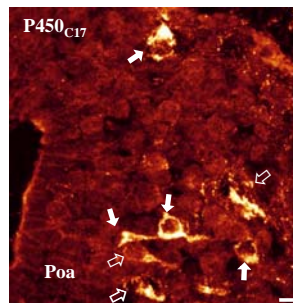
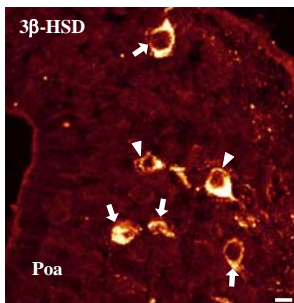
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

androstenediona. De nuevo, para detectar la presencia de citocromo P450<sub>C17</sub> en el cerebro, hemos desarrollado anticuerpos específicos. Usando estos anticuerpos hemos encontrado que la citocromo P450<sub>C17</sub> se expresa exclusivamente en neuronas que están localizadas en el hipotálamo. Y el control reveló la especificidad de la inmunorreacción.

Por tanto, hemos mostrado la presencia de dos enzimas (3- $\beta$ -HSD y P450<sub>C17</sub>), ambas presentes en un



área restringida del cerebro, el hipotálamo. La próxima pregunta es: ¿están las dos enzimas en las mismas

neuronas? Para responder esta pregunta, marcamos secciones consecutivas del cerebro con los anticuerpos dirigidos contra cada enzima. Las fotografías muestran que ciertas neuronas sólo contienen la enzima 3- $\beta$ -HSD, pero no expresan la P450<sub>C17</sub>. Al contrario, otras neuronas sólo expresan la enzima citocromo P450<sub>C17</sub>, pero no expresan la 3- $\beta$ -HSD. Y finalmente, una población de neuronas contiene ambas enzimas, la 3- $\beta$ -HSD y la P450<sub>C17</sub>. Esta simple observación tiene implicaciones importantes



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

porque sugiere que las neuronas que sólo contienen la 3- $\beta$ -HSD sólo serán capaces de convertir pregnenolona en progesterona; las neuronas que sólo contienen P450<sub>C17</sub> únicamente serán capaces de convertir pregnenolona en 17-hidroxipregnenolona y DHEA; y las neuronas que poseen ambas enzimas deben ser capaces de convertir pregnenolona en 17-hidroxiprogestero y androstenediona.

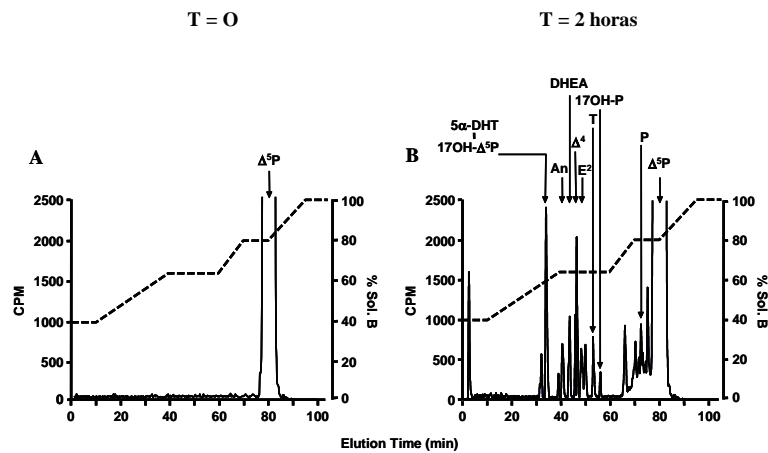
Para verificar si esta hipótesis es cierta, hemos utilizado una aproximación bioquímica. Incubamos cortes de hipotálamo (que contienen ambas enzimas) con un precursor tritiado (pregnenolona tritiada) y, después de 2 horas de incubación, analizamos por cromatografía todos los esteroides formados durante la incubación. La figura muestra el cromatograma antes de la incubación con un único pico radiactivo que corresponde a la pregnenolona. El otro perfil corresponde al cromatograma después de la incubación del tejido hipotalámico, que muestra la aparición de progesterona (sintetizada por las neuronas que contienen 3- $\beta$ -HSD), 17-hidroxipregnenolona y DHEA (sintetizadas por las neuronas que contienen P450<sub>C17</sub>) y 17-hidroxiprogestero y androstenediona (sintetizadas por las neuronas que contienen ambas enzimas).



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)



Por lo tanto, estos datos han mostrado que ciertas neuronas en el hipotálamo expresan enzimas esteroidogénicas como la 3- $\beta$ -HSD y la  $P450_{C17}$ , que estas enzimas no sólo están presentes, sino que también son activas, catalizando la conversión de precursores como la pregnenolona en otros esteroides. También sabemos que estos esteroides producidos en el cerebro presentan multitud de actividades biológicas: regulan el apetito, el sueño, el celo, la agresividad, el comportamiento sexual, etc. Sin embargo, a pesar de la importancia de los esteroides en la actividad del cerebro, en estos momentos se conoce poco sobre la regulación de la biosíntesis de estos esteroides cerebrales. Ahora voy a ilustrar brevemente los estudios que estamos llevando a cabo para investigar esta cuestión tan importante.



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

Hemos estado interesados por el posible papel del neuropéptido vasotocina en rana, el homólogo del neuropéptido humano arginina vasopresina. La razón de ello es que algunos de los efectos de la vasotocina sobre el aprendizaje y la actividad sexual son imitados por algunos neuroesteroides. Por eso, pensamos que algunos de estos efectos comportamentales de la vasotocina podrían estar mediados por la regulación de la producción de neuroesteroides.

Para investigar esto, primero tenemos que explorar las relaciones anatómicas entre las neuronas que contienen vasotocina y las células productoras de esteroides en el cerebro. Para este propósito, hemos realizado experimentos de doble marcaje. Primero, marcamos cortes de cerebro con un anticuerpo policlonal contra la enzima esteroideogénica 3- $\beta$ -HSD y observamos algunos cuerpos celulares marcados. Entonces, marcamos la misma sección cerebral con un anticuerpo monoclonal contra la vasotocina y encontramos la presencia de muchas fibras en los mismos campos. Finalmente, combinando las dos imágenes descubrimos que las neuronas productoras de esteroides (que expresan 3- $\beta$ -HSD) están innervadas/contactadas por fibras que contienen vasotocina.



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

Si la vasotocina actúa sobre las neuronas esteroidogénicas, estas neuronas deben expresar receptores de la vasotocina. Así, hemos clonado los receptores de la vasotocina y hemos localizado los ARNm que codifican estos receptores en el cerebro de rana gracias a la hibridación *in situ*. Curiosamente, encontramos que las regiones hipotalámicas que contienen las neuronas esteroidogénicas, como el área preóptica anterior y el núcleo hipotalámico dorsal, están también enriquecidas con receptores de vasotocina.

Así pues, las neuronas esteroidogénicas están innervadas por fibras con vasotocina y estas neuronas están probablemente equipadas con receptores de vasotocina. A continuación, examinamos si la vasotocina podría afectar la producción de neuroesteroides en explantes hipotalámicos de rana. La incubación durante dos horas de cortes hipotalámicos con vasotocina sintética aumentó marcadamente la síntesis de todos los esteroides. Además, la incubación de cortes de tejidos con distintas concentraciones de vasotocina estimuló de manera dosis-dependiente la producción de progesterona, 17-hidroxipregnenolona, 17-hidroxiprogesterona y DHEA. La caracterización farmacológica del receptor con una serie de agonistas y



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

antagonistas selectivos reveló que la acción de la vasotocina está mediada por un receptor parecido al V1a.

Recapitulando, estos datos han mostrado que las neuronas hipotalámicas que expresan enzimas esteroideogénicas, como la 3- $\beta$ -HSD y la P450<sub>C17</sub>, están inervadas por fibras que contienen vasotocina. Las regiones donde se localizan estas neuronas esteroideogénicas poseen una alta densidad de receptores de vasotocina, lo que sugiere que la vasotocina debe actuar directamente sobre estas neuronas. Y, finalmente, la vasotocina estimula la biosíntesis de neuroesteroides a través de receptores parecidos al V1a.

Recientemente, hemos identificado un número de factores que regulan la producción de neuroesteroides. Estos incluyen neurotransmisores como el GABA, y neuropéptidos como la vasotocina, endozepinas, el neuropéptido Y y GnRH. Algunos de estos factores estimulan la biosíntesis de neuroesteroides, mientras que otros la inhiben. Puesto que los neuroesteroides ejercen un amplio abanico de actividades biológicas, creemos que algunos de los efectos comportamentales de los neurotransmisores y neuropéptidos sobre el sueño, la atención, la memoria,



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Gabinete de Comunicación

[comunica@uco.es](mailto:comunica@uco.es)

la ingesta, la agresividad y la actividad sexual deben estar mediados por la producción de neuroesteroides.