

Números revisados

El recuento de las neuronas pone en jaque postulados de la neurociencia

Ricardo Zorzetto

PUBLICADO EN FEBRERO DE 2012



En la tarde del miércoles 11 de enero, los investigadores Frederico Casarsa de Azevedo y Carlos Humberto Moraes ejecutaban una tarea poco común para los neurocientíficos. Cubrían un estante de mampostería con cartulina blanca para tapar una ventana al fondo, limpiaban una mesa de granito y trasladaban recipientes de vidrio, pipetas y reactivos hacia otra mesada contigua, ya ocupada con otros recipientes, pipetas y reactivos. Preparaban así el laboratorio dirigido por el médico Roberto Lent, en la Universidad Federal de Río de Janeiro (UFRJ), para una sesión de fotos y videos. Deseaban registrar en detalle el funcionamiento de una máquina que habían comenzado a construir siete años antes y que ahora estaba lista: el fraccionador celular automático, que pretendían patentar. Y el contexto no podía desentonar.

El dispositivo con nombre complicado y casi un metro de altura es una especie de triturador de tamaño familiar. Cuenta con motores eléctricos que hacen girar a 400 revoluciones por minuto seis pistones plásticos sujetos a una base móvil. Cada pistón funciona sumergido en un recipiente de vidrio que contienen muestras de tejido cerebral bañadas en una solución con detergente. Una vez puesto en marcha el fraccionador, sus pistones agitan el líquido incoloro originando remolinos que deshacen las muestras. Dos horas más tarde, fragmentos de tejido cerebral se encuentran disueltos en una mezcla lechosa. Se trata de lo que los investigadores apodaron cariñosamente como jugo de cerebro.

La máquina probada en el Laboratorio de Neuroplasticidad del Instituto de Ciencias Biomédicas

(ICB) de la UFRJ es una versión con turbina de un fraccionador bastante más sencillo –un tubo y un pistón, ambos de vidrio, accionados manualmente– que Lent y la neurocientífica Suzana Herculano-Houzel utilizan desde 2004 para dividir porciones de cerebro y contar sus células. Creada por ellos mismos, esa técnica ha venido permitiendo conocer con mayor precisión algo que ya se daba por conocido: cuántas neuronas existen en el cerebro y en el resto de los órganos del encéfalo, que se encuentran albergados en el cráneo.

Actualmente se sabe, en parte gracias al trabajo del grupo de Río, que existen 86 mil millones de neuronas en el cerebro humano, y no 100 mil millones como hablaba años atrás. También se puede afirmar con mayor seguridad que esas neuronas se encuentran acompañadas por 85 mil millones de células gliales, el otro tipo de células que compone el cerebro. Una cantidad bastante inferior al billón anunciado con anterioridad.

No son datos menores. La verificación de cuántas son y dónde se encuentran las células cerebrales resulta importante para comprender cómo funciona el cerebro e intentar conocer las estrategias adoptadas por la naturaleza para construir un órgano tan complejo que, en el caso humano, permitió el surgimiento de la mente autoconsciente. También puede ayudar a identificar las características que distinguen al cerebro normal de otro enfermo.

Pero detenerse tan sólo en el número de células no es suficiente como para dilucidar uno de los más intrigantes y fascinantes órganos del cuerpo. Actualmente la neurociencia considera al cerebro mucho más que una colección de neuronas, células que se comunican por medio





Fracccionador turbinado: transforma porciones de cerebro en una sopa de núcleos de neuronas

de la electricidad. Tanto o más importante que el total de neuronas son las conexiones efectivas que ellas establecen entre sí, creando redes que procesan la información en forma distribuida, según el neuroanatomista italiano Alessandro Vercelli, de la Universidad de Turín. “El número, el patrón y la calidad de esas conexiones varían en el espacio y el tiempo”, comenta Martín Cammarota, neurocientífico de la Pontificia Universidad Católica de Río Grande do Sul, quien estudia la formación y evocación de las memorias. “El hecho de contar con más o menos neuronas no necesariamente convierte a un individuo en más inteligente que otro o a una especie más inteligente que otra”, dice.

A pesar de estas consideraciones, los resultados que Suzana y Lent recaban desde 2005 los condujeron a cuestionar algunas ideas consideradas como verdades absolutas al respecto de la composición y de la estructura del cerebro. El año pasado, Lent consideró que los datos generados por su grupo y el de Suzana ya eran lo suficientemente consistentes como para asentarlos en una crítica más directa. Junto con tres investigadores de su laboratorio, escribió la revisión publicada en enero en el *European Journal of Neuroscience* en la cual afirma que al menos cuatro conceptos básicos de la neurociencia deben ser repensados.

El primer dogma discutido en el artículo es el de que el cerebro humano y el resto del encéfalo cuentan, en conjunto, con 100 mil millones de neuronas. Esa cifra, conocida hasta por quienes

1º DOGMA

Hay 100 mil millones de neuronas en el cerebro humano

no son expertos, circula en artículos científicos y libros didácticos desde hace casi 30 años. El propio Lent tiene un libro, publicado en 2001 y utilizado en carreras de grado, intitulado *Cem bilhões de neurônios* [*Cien mil millones de neuronas*].

EL ORIGEN

A propósito, este libro se encuentra de cierto modo en el origen de las dudas que motivaron a los investigadores de la UFRJ a investigar cuántas células hay en el cerebro. Poco antes de su presentación, Suzana había comenzado un estudio destinado evaluar el conocimiento de los estudiantes de enseñanza media y universitaria sobre neurociencia. Una de las 95 afirmaciones, de las que ellos tenían que decir si era cierta o errónea, era: *utilizamos tan sólo un 10% del cerebro*.

Casi un 60% de los 2.200 entrevistados respondió que sí, que era correcta. Esta afirmación –incorrecta, ya que usamos todo el cerebro todo el tiempo– fue suscitada por otra, planteada en 1979 por el neurobiólogo canadiense David Hubel, quien recibió el Nobel de Medicina y Fisiología en 1981. Hubel afirmaba que en el cerebro había 100 mil millones de neuronas y 1 billón de células gliales. Repetida por otras publicaciones, la información se propagó. Como las neuronas son las unidades que procesan información –y representarían sólo una décima parte de las células cerebrales–, se concluyó que el restante 90% del cerebro no se utilizaría cuando se camina, se planifica un viaje o se duerme.

Este resultado no convenció a Suzana, quien investigó en la literatura científica la fuente original de esos números y no la encontró. Ella, que había colaborado con el libro de Lent, le transmitió su duda: “¿Cómo sabe usted que son 100 mil millones de neuronas?”. A lo que Lent le respondió: “Mira, todo el mundo lo sabe, todos los libros lo dicen”. Muchos artículos y libros presentaban esta información. Pero no decían de dónde la habían recogido. “Eran datos aparentemente intuitivos que se consolidaron y la gente los citaba sin meditarlo demasiado”, comenta Lent.

Uno de los motivos por los cuales no se encuentran fácilmente esas cifras reside en que no es sencillo contar las células cerebrales. Más allá de ser un órgano grande –el cerebro humano pesa alrededor de 1.200 gramos y el encéfalo, 1.500–, su composición es compleja. Distintas áreas contienen concentraciones variadas de células y la técnica entonces disponible para contarlas, la estereología, sólo funciona correctamente para regiones pequeñas, con distribución celular homogénea. Su aplicación en el recuento de las células cerebrales generaba estimaciones poco confiables, que variaban hasta 10 veces para algunas regiones y sugerían de el cerebro humano contaba con una cantidad entre 75 mil millones y 125 mil millones de neuronas.

En esa época, y recientemente contratada por la UFRJ, Suzana Herculano-Houzel le comentó a Lent que se le había ocurrido una idea “audaz y algo loca” de cómo contabilizar neuronas, pero no tenía un laboratorio. Y él la invitó a trabajar en conjunto. La propuesta de Suzana era sencilla: homogeneizar las regiones cerebrales antes de contar sus células. ¿Cómo? Deshaciendo las células.

La principal razón de la heterogeneidad del encéfalo reside en que las células y el espacio que las separa varían de tamaño. Al disolver las células, la cuestión estaría resuelta, en tanto fuese posible preservar sus núcleos, la parte central, que alberga el ADN. Como cada célula cerebral posee solamente un núcleo, el recuento se simplifica. La suma de los núcleos revelaría el total de células. Colorantes que sólo marcan las neuronas permitieron a continuación distinguirlas de otras células cerebrales.

Utilizando compuestos químicos que preservan la estructura de las células, Suzana logró destruir solamente la membrana externa sin dañar el núcleo y, junto a Lent, describió la técnica en 2005 en el *Journal of Neuroscience*. “Se trata de un método inteligente, sencillo y fácil de usar y replicar”, comenta Vercelli. “Me pregunto por qué no lo pensé antes”. Según la opinión de Zoltan Molnar, neurocientífico de la Universidad de Oxford, en Inglaterra, esta constituyó un importante avance. “La genómica, la transcriptómica y la proteómica son áreas cuantitativas y perfeccionadas que han progresado mucho, mientras los anatomistas nos quedamos en la edad de las tinieblas. No desarrollamos métodos que puedan medir la cantidad, la densidad y las variaciones de la arquitectura de las células”, expresa.

El primer test se realizó con cerebros de ratas. El total de células del encéfalo fue de 300 millo-

nes, de los cuales 200 millones eran neuronas. A diferencia de lo esperado, sólo un 15% de ellas se encontraba en el cerebro, la parte más voluminosa. La mayor parte (un 70%) se hallaba en un órgano menor en la región posterior del cráneo: el cerebelo.

Así sucedía en las ratas. ¿Pero, y en las otras especies? Suzana analizó a continuación el cerebro de otros cinco roedores (ratón común, hámster, cuis, paca y carpincho). Como ya se sabía, cuanto mayor es el animal, mayor el cerebro y el número de neuronas. El ratón común, con tan sólo 40 gramos, es el menor de ellos y cuenta con 71 millones de neuronas almacenadas en un cerebro de 0,4 gramos. Casi 1.200 veces más pesado, la capibara o carpincho cuenta con un encéfalo 183 veces mayor (76 gramos), aunque con sólo 22 veces más neuronas (1.600 millones).

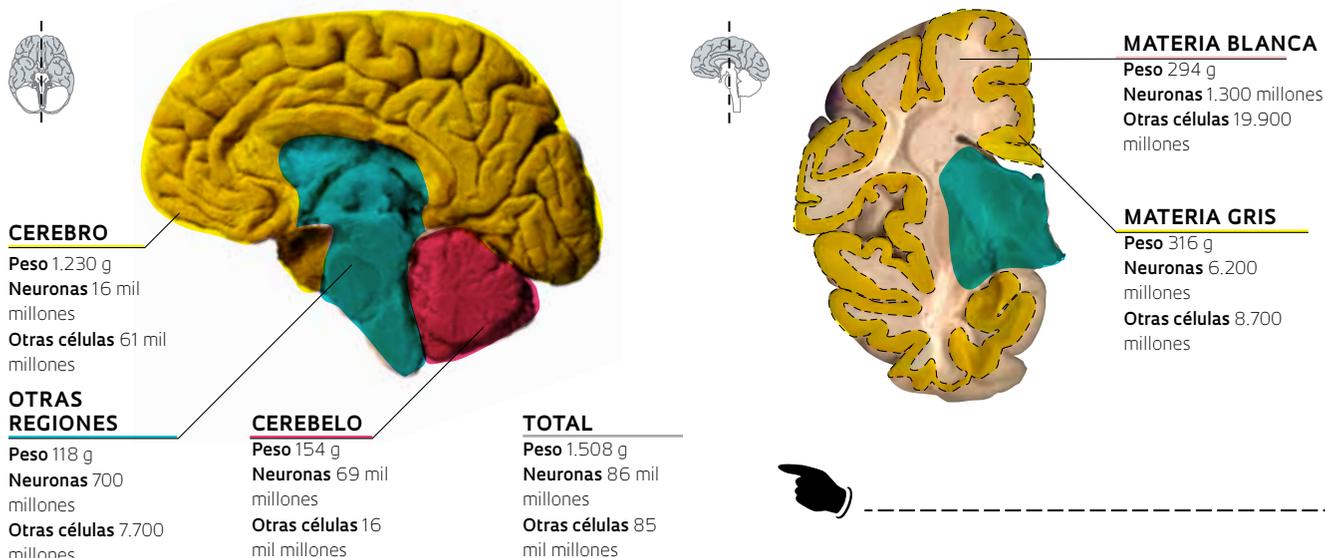
2º DOGMA

La cantidad de células gliales es 10 veces mayor que la de las neuronas

EL CEREBRO HUMANO

Bajo la dirección de Suzana y Lent, el biólogo Frederico Azevedo realizó el conteo de las células en cerebros humanos. Sin embargo, previamente, tuvo que adaptar la técnica. “Lo que funcionaba para los roedores no resultaba para los humanos”, comenta. Pasaron meses hasta descubrir que el problema residía en la manera de fijar el tejido antes de fraccionarlo. Cuando el cerebro pasaba demasiado tiempo sumergido en compuestos que evitan su deterioro, el investigador no lograba marcar las neuronas para luego contarlas en el microscopio. Frederico dividió a mano las muestras del cerebro de cuatro personas (con edades entre 50 y 71 años), cedidas por el banco de cerebros de la Universidad de São Paulo (USP). “En aquel momento comencé a imaginar una forma de hacer ese trabajo en forma automática”, dice el biólogo, quien realiza un doctorado en el Instituto Max Planck, en Alemania.

Dónde se encuentran las neuronas



El recuento de células reveló que el cerebro humano tiene en promedio 86 mil millones de neuronas. La cifra es un 14% menor que lo estimado anteriormente y se ubica cerca del propuesto en 1988 por Karl Herrup, de la Universidad Rutgers. “Habrà quien diga que se trata de una diferencia pequeña, pero disiento”, dice Suzana. “Es la correspondiente al cerebro de un babuino o a medio cerebro de un gorila, uno de los primates evolutivamente más cercanos a los seres humanos”, explica la neurocientífica, jefa del Laboratorio de Neuroanatomía Comparada del ICB-UFRJ.

Lent comenta con cautela: “No podemos afirmar que esos números sean representativos de la especie humana. Es probable que sean representativos de adultos maduros”. O ni siquiera eso, ya que fueron analizados tan sólo cuatro cerebros. También podría ser diferente para los más jóvenes. “Tal vez los individuos de alrededor de 20 años tengan 100 mil millones de neuronas, que las van perdiendo con el tiempo, a lo mejor”, se cuestiona el investigador. Su grupo ahora estudia el cerebro de gente más joven y compara cerebros de varones y mujeres. Mientras no deleva esa cuestión, Lent alteró el título de la segunda edición de su libro, publicada en 2010, como *Cem bilhões de neurônios?* [¿Cien mil millones de neuronas?], en forma de interrogante.

EL CEREBELO

Como sucede en los roedores, la mayor parte de esas neuronas no se encuentra en el cerebro, sino en el cerebelo. El cerebro –específicamente la corteza cerebral, hasta hace poco tiempo considerada la principal responsable de todas las funciones cognitivas, tales como la atención, la memoria y el lenguaje– es la parte del encéfalo que más creció en el curso de la evolución. En el caso humano, pesa 1.200 gramos y ocupa más de la mitad del cráneo, aunque alberga tan sólo 16 mil millones de neuronas. En tanto, el cerebelo, con sus 150 gramos, cuenta con 69 mil millones (vea la infografía de la página 29).

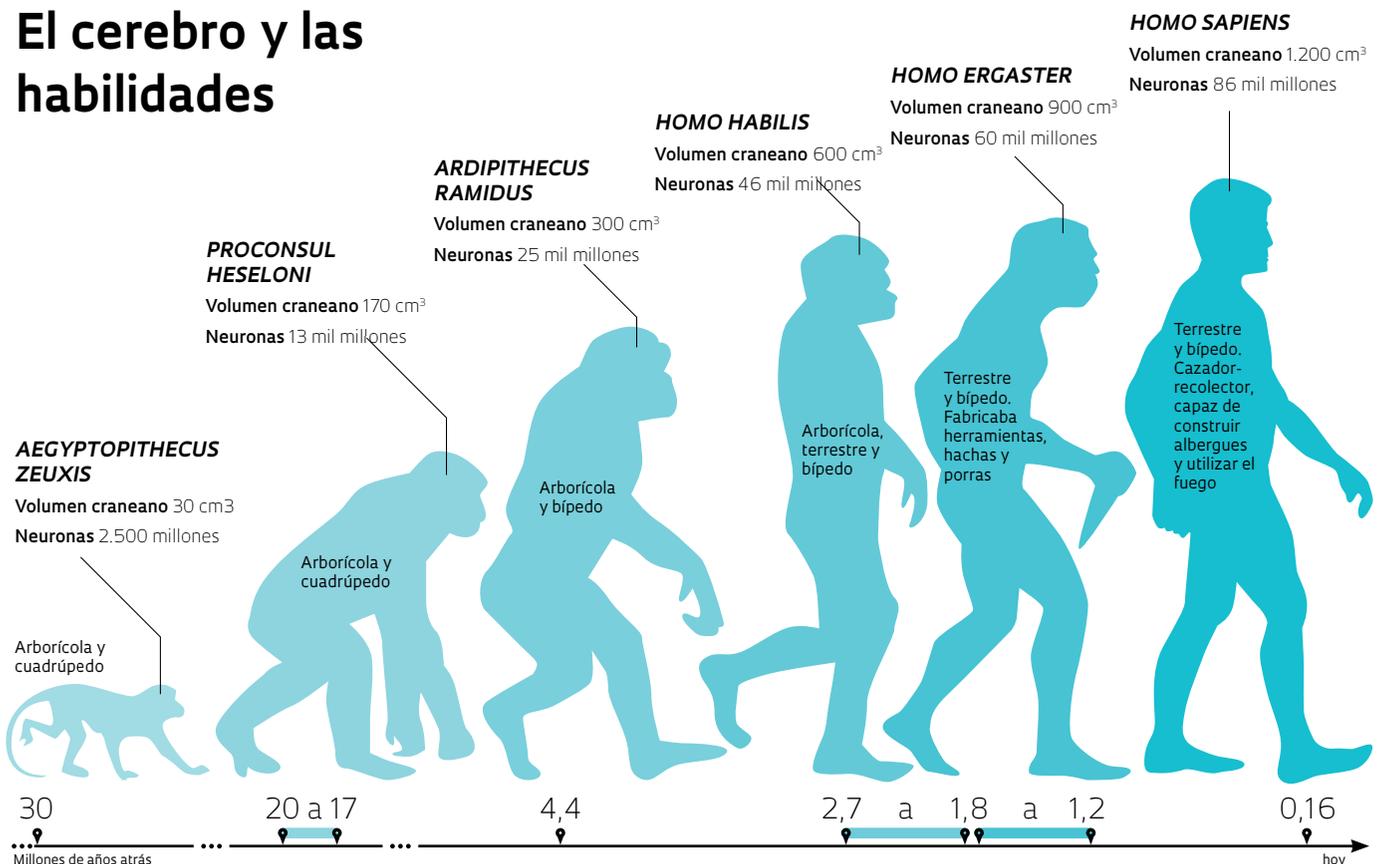
¿Cómo se explican entonces tamaños tan diferentes para esos órganos? La respuesta es múltiple. En primer lugar, el cerebro cuenta con menos neuronas que el cerebelo, aunque casi cuatro veces más de otros tipos de células, las glías. Estas células, anteriormente consideradas tan sólo soporte físico de las neuronas, desempeñan otras funciones esenciales: ayudan en la transmisión de los impulsos, nutren a las neuronas y defienden al sistema nervioso central contra organismos invasores. Y, por supuesto, ocupan espacio. En segundo lugar, cerebro y cerebelo están conformados por diferentes tipos de neuronas, que se conectan de manera distinta.

3º DOGMA

El cerebro humano es más complejo que el de otros primates

”

El cerebro y las habilidades



Mediante este trabajo, el grupo de Río constató también que la evolución no privilegió solamente el desarrollo del cerebro. Entre los mamíferos, la clase de animales a la que pertenecen los seres humanos, el cerebro y el cerebelo sumaron neuronas al mismo ritmo. Este resultado, según Vercelli, corrobora el de las investigaciones que indican que la función del cerebelo no está restringida al control de los movimientos. Es fundamental para el aprendizaje, la memoria, la adquisición del lenguaje y el control del comportamiento y las emociones. “Se está demostrando cada vez más que el cerebelo participa en procesos que antes asociábamos tan sólo con la corteza cerebral”, comenta Herrup, de la Rutgers.

LAS ESTRATEGIAS

Desde que desarrolló la técnica, Suzana ya la ha aplicado para estudiar el encéfalo de 38 especies de mamíferos, verificando que, durante los últimos 90 millones de años, la naturaleza adoptó al menos dos estrategias para desarrollar cerebros. Una para los roedores y otra para los primates.

En los roedores, el aumento en el número de neuronas del encéfalo ocurre en escala logarítmica. En modo general, a medida que aumenta el tamaño de la especie, el encéfalo se torna mayor y el número absoluto de neuronas también. Pero cuanto mayor es el roedor, suma proporcionalmente menos neuronas. En tanto, en los primates, que incluyen a monos y humanos, el aumento es lineal: la cantidad de neuronas crece proporcionalmente al volumen cerebral. “Ocurrió una transición abrupta entre los mamíferos inferiores, tales como los roedores, y los superiores, como en el caso de los primates”, comenta Vercelli. Esta modificación, según Lent, permitió al cerebro de los primates agrupar mayor cantidad de neuronas en un volumen menor y acumular más células que el de los roedores.

Este patrón de desarrollo encefálico de los primates condujo a Suzana y a Lent a cuestionar otra idea vigente desde hace casi 40 años: la que sostiene que el cerebro humano sería excepcionalmente grande. En 1973, el paleoneurólogo estadounidense Harry Jerison afirmó que nuestro cerebro tenía siete veces el tamaño esperado para el de un mamífero de 70 kilogramos. La neurocientífica Lori Marino afirmaría más tarde que era grande incluso para un primate. Con 1.500 gramos, el encéfalo humano es el mayor entre los todos los primates, ya que el gorila, el mayor primate, pesa 200 kilogramos y cuenta con un encéfalo de 500 gramos. Pero esta idea parte del principio de que el tamaño del cuerpo sería un buen indicador del tamaño del cerebro. Parece que no es así. Cuando se deja de lado la masa corporal y se analiza el número de células, se nota que el cerebro humano no escapa al patrón

de los primates. “Nuestro cerebro cuenta con la cantidad de células esperada para un primate con ese tamaño”, afirma Suzana.

Basándose en esta regla y en el volumen del cráneo, Suzana y el neurocientífico Jon Kaas, de la Universidad Vanderbilt, en Estados Unidos, publicaron en 2011 en la revista *Brain, Behavior and Evolution* una estimación de la cantidad de células cerebrales de otros nueve homínidos. Como era de esperarse, la especie que más se aproxima a la humana (*Homo sapiens*) en cuanto al número de neuronas es la de los neandertales (*Homo neanderthalensis*), que habitaron hace entre 300 mil y 30 mil años en la región de la actual Europa. Ellos tenían 85 mil millones de neuronas, según estimaciones de Suzana y Kaas. Con la ayuda del bioantropólogo Walter Neves, de la USP, Lent amplió la proyección a otras especies de primates que integran la superfamilia de los homínidos y calcula que los neandertales pueden haber tenido 100 mil millones de neuronas (vea la infografía en la página 30).

Otro dogma en discusión es el que expresa que el total de células gliales supera en 10 veces al de las neuronas, lo cual constituye el origen de la idea que afirma que sólo se utiliza el 10% del cerebro. “Ese elevado índice de células gliales se enseñaba en los libros de estudio, aunque ya existían experimentos que indicaban que la proporción era de 1 a 1”, comenta Helen Barbas, de la Universidad de Boston.

Más que el número de células gliales –son 85 mil millones en los seres humanos, más concentradas en el cerebro que en el cerebelo–, lo que más sorprendió a Suzana es el hecho de que éstas prácticamente no hayan experimentado cambios morfológicos durante la evolución. Su tamaño es casi constante entre los primates, mientras que el de las neuronas varía hasta 250 veces. “El funcionamiento de las células gliales debe hallarse ajustado de manera tan fundamental que la naturaleza eliminó cualquier modificación que haya surgido”, comenta.

Se espera que surjan otros instigadores resultados a medida que se difunda la técnica brasileña. “Si se empleara asiduamente, podría simplificar el tedioso proceso de conteo de las células cerebrales”, dice Herrup. Quizá se ahorren más horas si la versión turbo del fraccionador llega a ser tan eficiente como se espera. ■

Artículos científicos

1. LENT, R. et al. How many neurons do you have? Some dogmas of quantitative neuroscience under revision. **European Journal of Neuroscience**. v 35 (1). ene. 2012.
2. HERCULANO-HOUZEL, S.; LENT, R. Isotropic fractionator: a simple, rapid method for the quantification of total cell and neurons in the brain. *Journal of Neuroscience*. v. 25(10), p. 2.518-21. 9 mar. 2005.

4º DOGMA

Los módulos (agrupamientos de células) del cerebro contienen el mismo número de neuronas