

CREIXEMENT I REGENERACIÓ NEURONAL: CENT ANYS DESPRÉS DE RAMÓN Y CAJAL

Xavier Fontana, José A. del Río i Eduardo Soriano

Departament de Biologia Cel·lular

Parc Científic de Barcelona. Universitat de Barcelona

Fernando de Castro

Institut de Neurociències de Castella i Lleó (INCYL). Universitat de Salamanca

INTRODUCTION

This presentation, in commemoration of the 150 anniversary of the birth of the Spanish neuroscientist Santiago Ramón y Cajal (1852, Petilla de Aragón), and being part of the conferences organized by Institut d'Estudis Catalans in Barcelona, on November of 2002, discusses about some of the main contributions made by this scientist.

Using this as a fertile substratum, we emphasize on the current knowledge about the mechanisms of axonal pathfinding during development. Furthermore, we discuss about the implication of axonal navigation molecules in regeneration and finally we focus on how these molecules interact to configure the specific connection patterns found in the entorhino-hippocampal subsystem.

CONTRIBUCIONS FONAMENTALS DE SANTIAGO RAMÓN Y CAJAL

Els rigorosos i innovadors mètodes d'observació histològica del sistema nerviós utilitzats per aquest científic espanyol, guardonat amb el Premi Nobel de Medicina l'any 1906, junt amb la seva gran capacitat d'abstracció i imaginació, configuraren un cos de coneixement que, després de dissipar la boira que envoltava les discussions científiques sobre el sistema nerviós fa cent anys, donà un nou i encertat rumb a la neurociència fins a arribar a l'actualitat.

La potència del sistema nerviós radica en l'establiment de patrons de connexions altament estereotipats que formen xarxes neuronals. Aquesta connectivitat cel·lular

s'integra anatòmicament i configura grans vies de connexió entre les diferents àrees cerebrals. Això planteja la qüestió de com aquesta arquitectura histològica es pot construir durant el desenvolupament, ja que cada neurona ha d'especificar la seva diana sinàptica. Ramón y Cajal va aconseguir un avenç significatiu en aquesta qüestió: primer, amb la identificació, l'any 1890, de l'estructura terminal de l'axó, el conus de creixement (figura 1), i després amb la formulació de la hipòtesi neurotròfica, l'any 1892.

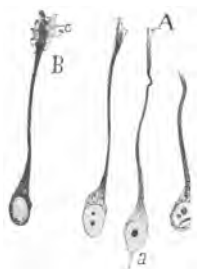


FIGURA 1. Dibuix que mostra l'estructura terminal de diversos axons neuronals. [Dibuix extret de S. Ramón y Cajal, *Études sur la neurogenèse de quelques vertébrés*, Madrid, 1929]

Posteriorment, s'ha demostrat que és el conus de creixement el responsable d'integrar el conjunt de senyals químics que aquest es troba durant la seva elongació i l'establiment sinàptic en el transcurs del desenvolupament.

Durant el desenvolupament, i a través d'una sèrie de processos tals com la proliferació, la migració, l'elongació axonal i la sinaptogènesi, s'evoluciona morfològicament des d'un neuroepiteli fins al cervell adult (figura 2).

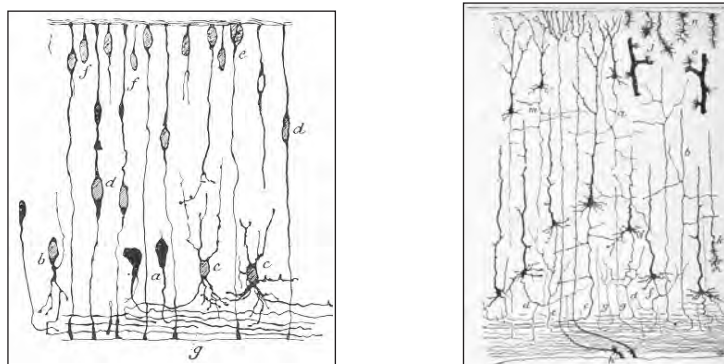


FIGURA 2. Làmines que mostren l'evolució anatòmica i estructural des d'un neuroepiteli incipient fins a obtenir una distribució estereotipada de l'escorça cerebral en capes. Vegeu el canvi de morfologia cel·lular, des de neuroblasts migratoris, amb unes prolongacions molt rudimentàries, fins a neurones piramidals madures i funcionals, amb unes neurites profusament ramificades. [Adaptat de S. Ramón y Cajal, *Études sur la neurogenèse de quelques vertébrés*, Madrid, 1929]

Cal destacar que Ramón y Cajal, armat tan sols amb tècniques histològiques que li permetien una visió estàtica del sistema nerviós *post mortem*, fou capaç d'atansar-se al funcionament del sistema nerviós i de postular encertats principis fisiològics combinant imaginació amb raonaments deductius. Teories com la «polarització dinàmica» o la idea de la constant remodelació del sistema nerviós i la hipòtesi connectivista del coneixement en són exemples brillants:

- La polarització dinàmica implica que l'impuls elèctric es propaga en un únic sentit pre-postsinàptic (actualment se sap que existeixen certs tipus de comunicació no elèctrica en sentit post-presinàptic), i per tant, seguint la seqüència bàsica dendrita-soma-axó//dendrita-soma-axó. Avui dia es coneix que tot i ser un principi general, també existeixen sinapsis axó//axó i axó//soma neuronal.
- La gran versatilitat del cervell, l'adaptació als canvis i el ràpid aprenentatge han d'obeir a alguna espècie de remodelació anatòmica nerviosa. Ramón y Cajal va intuir aquesta plasticitat en forma de canvis en la morfologia cel·lular tant de dendrites com d'axons. La profunditat de la interacció entre els terminals sinàptics seria, doncs, dependent de l'ús-desús d'aquella via nerviosa.

Aquestes idees, sumades a altres d'igualmente esclaridores i bàsiques com la doctrina neuronal, que descriu la naturalesa del cervell en termes d'individualitat i contigüïtat cel·lular, no pas continuïtat, permeten que a continuació pugueu llegir els coneixements que es tenen avui dia sobre les molècules implicades en la navegació axonal.

INTRODUCCIÓ A LES MOLÈCULES DE GUIA AXONAL

Un dels reptes més estimulants als quals s'enfronta actualment la neurobiologia és poder explicar i identificar els mecanismes moleculars responsables de la formació de connexions nervioses en els sistemes nerviosos central (SNC) i perifèric (SNP).

El cervell dels mamífers conté aproximadament 10^{12} neurones, les quals durant el desenvolupament estenen axons a través de grans distàncies seguint rutes específiques cap a les seves dianes. La formació de connexions nervioses està integrada tant per processos d'elongació axonal com també de retracció, i ambdós són crucials per a la navegació axonal a través del parènquima nerviós.

Mentre succeeix aquest procés de guia axonal, l'extrem terminal de l'axó, anomenat *conus de creixement*, explora l'entorn extracel·lular que l'envolta, tant la ma-

triu extracel·lular com la superfície d'altres cèl·lules, alhora que respon i és sensible a una gran diversitat de senyals de guia (Giger i Kolodkin, 2001).

D'ençà del sorgiment de la hipòtesi quimiotròfica, s'ha acumulat un cabal important d'informació referent a la identificació i caracterització dels senyals que influencien la guia i el creixement axonal, de tal manera que s'ha identificat un nombre creixent de famílies de lligands i receptors. Aquestes molècules poden classificar-se a grans trets en funció del seu rang espacial d'influència i de l'acció que exerceixen sobre el conus de creixement. Així, trobem molècules d'ampli rang d'influència, de caràcter difusible, i també d'un rang estret d'influència, no difusibles o associades a la membrana plasmàtica. A més, poden exercir un paper inhibidor/repulsiu o bé no inhibidor/attractiu (Tessier-Lavigne i Goodman, 1996). Aquesta acció no és mútuament exclouent, de manera que una mateixa molècula pot desencadenar efectes repulsius o atractius depenent de l'ambient molecular i de la dotació en receptors del conus de creixement.

Per tant, existeix una regulació combinatorial formada per gran diversitat de lligands i receptors, i la integració de tots aquests senyals condueix al fenomen de la guia axonal (Yu i Bargmann, 2001). Estudis addicionals mostren que les molècules de guia axonal i els seus receptors estan sotmesos a regulació transcripcional i post-transcripcional, fet que genera un gran ventall de respostes axonals i neuronals.

És d'esperar que les vies de transducció activades per aquestes molècules de guia axonal repercutixin directament o indirecta en el citoesquelet cel·lular. Per tant, les respostes d'atracció/repulsió axonal, migració cel·lular, arborització i d'altres efectes provocats per aquestes molècules obeeixen a una regulació dinàmica dels components fibril·lars a través d'intrincades xarxes de transducció i a la regulació de les molècules d'adhesió intercel·lular i d'associació amb la matriu extracel·lular.

Les molècules de guia han estat implicades no només en aquests fenòmens de guia sinó també en la regulació d'altres processos biològics com la migració cel·lular, la morfogènesi d'òrgans o l'angiogènesi.

L'expressió de la majoria d'aquestes molècules està regulada durant el desenvolupament, i algunes són presents en l'SNC adult, on es poden reexpressar per cèl·lules no neuronals en el cas que es produeixin lesions. Tot i que la seva funció en l'adult no és ben compresa, se'ls atribueix un paper en la plasticitat del sistema nerviós.

A continuació ens centrarem en les funcions específiques de quatre famílies conservades de molècules de guia axonal: netrines, slit, semaforines i ephrines.

NETRINES, RECEPTORS DCC/UNC I GUIA AXONAL

Les netrines són una família de proteïnes secretables (~600 aa) derivades de la placa del terra que foren identificades com una família quimioatractiva per als axons comissurals, als quals guia cap a la línia mitjana de la medul·la espinal (Sera-

fini *et al.*, 1994, 1996; Kennedy *et al.*, 1994). Estan relacionades amb les laminines, i contenen un domini C-terminal petit de caràcter bàsic, que els confereix la seva propietat de difusió.

S'han descrit diversos membres d'aquesta família, que s'uneixen principalment a DCC (*deleted in colorectal cancer*), a Neogenina, i a UNC 5H-1, -2 i -3. Aquests últims són els receptors que reconeixen les netrines en els mamífers.

Els efectes que són capaces d'exercir les netrines poden ser antagonics depenent dels receptors amb els quals interaccionen. La interacció de la Netrina-1 amb DCC/Neogenina produeix una resposta quimioattractiva, mentre que la unió amb membres de receptors de la família UNC5 provoca quimiorepulsió. Si en la cèl·lula diàna existeix coexpressió d'aquests tipus de receptors, el resultat net serà de repulsió (Cooper, 2002).

A més, aquesta coexpressió i la seva interacció amb la Netrina-1 exerceix un efecte tròfic promotor de la supervivència sobre neurones de la zona ventricular del tronc de l'encèfal (Llambi *et al.*, 2001).

Es coneix que la Netrina-1 és capaç d'atraure axons de projeccions corticals i hipocàmiques, i també neurones precerebel·lars, cèl·lules ganglionars de la retina i interneurons comissurals de la medulla espinal. En canvi, produeix un efecte contrari en actuar sobre axons troclears, neurones motores del nervi cranial o les fibres paral·leles de les cèl·lules granulars del cerebel.

Els ratolins genoanul·lats (*knock-out*) han permès esbrinar els efectes de la pèrdua de funció de la Netrina-1 i també del receptor DCC. Ambdós mostren un fenotip molt semblant, fet que demostra el paper clau de la Netrina-1 a través de la senyalització via DCC. Presenten malformacions severes de l'anatomia del sistema nerviós, sobretot pel que fa als tractes comissurals (encarregats de connectar àrees homòlogues entre els dos hemisferis) de l'hipocamp i del gir dentat, el cos callós i el quiasma òptic, tractes que són absents en el ratolí genoanul·lat (*knock-out*) per la Netrina-1 (Serafini *et al.*, 1996; Braisted *et al.*, 2000; Barallobre *et al.*, 2000) i que comporten la mort de l'individu al cap de poques hores del naixement.

El fenotip que mostra aquest ratolí és força interessant, ja que després del part i durant les poques hores de vida que té, és ben palès el fet que els moviments de les seves extremitats són simultanis ja que no és capaç de moure independentment una meitat del cos de l'altra. Això és un reflex de la pèrdua anatòmica de connexió entre els dos hemisferis mitjançant les fibres comissurals, que hi són absents.

D'altra banda, els ratolins genoanul·lats (*knock-out*) per l'UNC5 presenten una localització ectòpica de les neurones del cerebel deguda a una migració rostral errònia (Ackerman *et al.*, 1997).

A més d'aquests efectes a llarg termini, les netrines secretables posseeixen funcions a curt termini pel que fa al creixement i arborització dendrítica, i estan involucrades en la comunicació neurooligodendroglial (Spassky *et al.*, 2002).

A causa de la naturalesa secretable de la Netrina, és important considerar la seva distribució en l'entorn extracel·lular. Estudis recents han demostrat que aquesta depèn de les propietats d'unió de la Netrina amb altres molècules presents en la matriu extracel·lular i altres molècules de guia axonal (com els Slit) o receptors. El receptor Frazzled (l'ortòleg de DCC en *Drosophila*) és necessari per a la senyal de quimioatracció axonal per mitjà de la Netrina-1, però no per a dur a terme la repulsió axonal. Això condueix a la hipòtesi que el segrest de la Netrina-1 per Frazzled és crucial per a la presentació d'aquest estímul quimioatractiu sobre les cèl·lules diana (Cooper, 2002).

Els mecanismes intracel·lulars de senyalització encara són poc comprensos. Però recentment s'ha trobat que l'activació de la MAPK (proteïna cinasa activada en la mitosi) a través de les cinases ERK1 i ERK2 (cinases regulades per senyals extracel·lulars) és crucial (Forcet *et al.*, 2002). A més, els efectes atractius i repulsius exercits per la Netrina depenen de les concentracions citosòliques de cAMP i calci. GTPases com Rac1 i Cdc42 també participen en la senyalització (Li *et al.*, 2002).

La intuïció que forçosament les vies d'atracció-repulsió han de tenir repercussions en el citoesquelet cel·lular queda confirmada pel fet que s'ha trobat una proteïna pont, la NcK-2, que relaciona els receptors de Netrina amb el component d'actina del citoesquelet a través de dominis SH3 presents en la cua citoplasmàtica del receptor DCC.

SEMAFORINES I ELS SEUS RECEPTORS COM A GUIES DE LA NAVEGACIÓ AXONAL

Les semaforines han estat identificades com a molècules de guia, amb efecte quimiorepel·lent sobre els axons durant el desenvolupament del sistema nerviós. Constitueixen una gran família de proteïnes que conté membres tant secretables com associats a la membrana.

Totes les semaforines comparteixen un domini «Sema» d'uns 500 aminoàcids responsable de la seva especificitat d'unió (Nakamura *et al.*, 2000; Raper, 2000). Aquest domini és necessari i suficient per si sol per a desencadenar la seva activitat biològica.

Les semaforines secretables s'han caracteritzat com a quimiorepel·lents sobre axons de neurones de l'hipocamp i del bulb olfatiu, sobre axons pontocerebel·lars del cervell anterior en l'SNC, i també en axons simpàtics, sensorials i motors de l'SNP.

Tot i això, estudis recents indiquen un efecte dual, ja que també tenen propietats atractives sobre:

- dendrites corticals de la superfície pial, com és el cas de la Sema-3A,
- axons corticals, a través de la Sema-3C,
- axons de les cèl·lules mitrals del bulb olfactiu, a través de la Sema-3B (Bagnard *et al.*, 1998; De Castro *et al.*, 1999).

Pel que fa als receptors, és la classe III de semaforines secretables en mamífers la més estudiada. S'uneix a dos membres de la família de les neuropilines, la Np-1 i la Np-2, (Neufeld *et al.*, 2002). Aquests receptors són proteïnes transmembrana amb un domini intracel·lular d'uns quaranta residus, mancat d'activitat senyalitzadora, i són capaços de formar homodímers i heterodímers. S'ha vist que són unes altres molècules, capaces de formar complexos funcionals en unir-se a les neuropilines, les responsables de la senyalització intracel·lular: les plexines (Raper, 2000).

Les quatre classes de plexines, proteïnes també transmembrana, poden interaccionar tant amb neuropilines com amb semaforines. Per exemple, en el complex receptor Np-1-Plexina A1, la Np-1 conté la zona d'unió a la Sema-3A, mentre que la Plexina-A1 actua com a transductora de senyal. Els receptors per al factor de creixement endotelial vascular (VEGF), molècules d'adhesió cel·lular com la L1, o receptors de neurotrofines són capaços d'unir-se a les neuropilines (i possiblement també a les plexines), i formar complexos receptors multimèrics (Neufeld *et al.*, 2002).

Els efectes descrits per a les semaforines secretables sobre la navegació axonal són quasi exclusivament de tipus repulsiu. En algunes ocasions, aquestes molècules provoquen el col·lapse dels conus de creixement axonal, i fins i tot poden ser responsables de promoure l'apoptosi d'algunes poblacions neuronals (Shirvan *et al.*, 2000). Al contrari, s'ha descrit un efecte tròfic sobre progenitors oligodendroglials (Spassky *et al.*, 2002).

La gran quantitat de molècules que pertanyen a aquesta família de lligands-receptors fa esperar que existeixi cert solapament funcional entre els seus membres. Aquesta idea es reforça en estudiar les anomalies presents en el ratolí genoanul·lat (*knock-out*) per la Sema-3A, que s'uneix exclusivament a la Np-1, i que es limiten a l'absència d'alguns grups de neurones sensorials en l'SNP i a un patró desdibuixat de l'estructura laminar de les connexions de l'hipocamp.

L'abundància de diferents membres junt amb l'especificitat d'algunes parelles té altres conseqüències. És cert que la Sema-3A promou repulsió axonal només en cèl·lules que expressen el receptor Np-1, però aquest és capaç d'unir-se també a la Sema-3B o la Sema-3C, panorama que fa pensar en una unió competitiva al receptor entre diverses semaforines, i que axons que contenen Np-1 podrien travessar àrees no permissives «Sema-3A» si altres semaforines actuessin com a antagonistes (Tamagnone i Comoglio, 2000).

Les vies de senyalització a través de semaforines es coneixen de manera discontinua. Algunes proteïnes implicades són les CRMP (proteïnes mediadores de la

resposta per col·lapsina), cinases com la GSK-3 (cinasa de la glicogen sintasa) (Eickholt *et al.*, 2002) i la PAK (cinasa activada P21) (Aizawa *et al.*, 2001) o membres de la família Rho de GTPases (Negishi i Katoh, 2002)

A més, un estudi recent ha descobert que la MICAL, una proteïna citosòlica localitzada en els axons, amb dominis flavoproteïna monooxigenasa, és capaç d'interaccionar amb les plexines, i que els inhibidors de l'activitat monooxigenasa són capaços de revocar la repulsió axonal per mitjà de la Sema-3A. Cal destacar que els experiments de Terman i els seus col·laboradors, han estat els primers a vincular processos oxidoreductasa amb guia axonal (Terman *et al.*, 2002).

EL SISTEMA DE GUIA SLIT/ROUNDABOUT

El grup de molècules Slit fou identificat a la medul·la espinal (vegeu la revisió de Kaprielian *et al.*, 2000), i en mamífers, se'n coneixen tres membres, Slit-1, -2 i -3. Contenen un domini N-terminal, ric en leucina, que se sap que és vital per a la seva acció biològica, i que limita la seva acció difusible a llarg rang. El receptors dels Slit s'anomenen *Robo*, i a diferència dels receptors de les semaforines, contenen un gran domini intracitoplasmàtic que els permet desencadenar vies de transducció. En vertebrats es coneixen el Robo-1, el Robo-2 i el Rig-1. Els dos primers mostren una afinitat química similar per a cada Slit, promiscuïtat que produeix redundància molecular.

Els resultats publicats fins ara limiten l'acció de l'Slit/Robo a la repulsió del conus de creixement (Nguyen-Ba-Charvet i Chedotal, 2002). Actuen sobre axons motors i sobre neurones comissurals de la medul·la espinal un cop han travessat la línia mitjana, sobre cèl·lules retinals ganglionars, cèl·lules mitrals del bulb olfatiu, neurones talàmiques que projecten al còrtex, axons corticals que projecten dins del cos callós i neurones que projecten des del gir dentat de l'hipocamp. En alguns d'aquests casos, són capaces de col·lapsar els conus de creixement, de manera similar al que s'ha descrit en les semaforines. També s'ha suggerit en un estudi de McAllister de l'any 2002 que l'Slit-2 pot induir elongació axonal i arborització en neurones del gangli de l'arrel dorsal de mamífers.

En invertebrats, l'Slit-2 és capaç d'interaccionar fortament amb la Netrina-1 (Guthrie, 2001), i també s'uneix a glypican-1 (un proteoglicà d'heparan sulfat). Recentment s'ha demostrat que per a exercir una repulsió potent, el complex Slit-2/Robo-1 ha d'interaccionar amb molècules d'heparan sulfat de la superfície cel·lular.

Els Robo també poden interaccionar amb DCC (receptor de Netrina-1) i CXCR4 (un receptor de quimioquines) (Cooper, 2002), fent intrincada la xarxa de transducció de les molècules de guia axonal, i demostrant que existeix una interconnexió forta entre aquestes vies.

A més, els patrons d'expressió dels slit i dels robo, que són complementaris o solapats en moltes estructures de l'SNC, apunten que aquestes molècules poden actuar de manera autocrina, és a dir, que una cèl·lula secreta una molècula vers la qual és sensible.

EL SISTEMA DE GUIA EPHRINA / RECEPTORS EPH

Les ephrines són un grup de molècules ancorades a la membrana que s'uneixen a membres de receptors Eph tirosina-cinasa. L'activació dels receptors Eph per interacció amb els lligands Ephrina causa la seva homodimerització i autofosforil·lació.

Hi ha dos tipus de lligands Ephrina, en funció del tipus d'associació que mantenen amb la membrana plasmàtica. El tipus A conté un grup GPI (glucosilfosfatidilinositol), mentre que el tipus B està format per proteïnes transmembrana amb un petit domini citoplasmàtic (Gale *et al.*, 1996). Fins a l'actualitat, s'han descrit en els vertebrats cinc lligands Ephrina-A, tres de tipus Ephrina-B i fins a catorze receptors Eph, categoritzats en EphA i EphB, obeint al fet que, tot i existir certa promiscuïtat, les ephrines A i B s'uneixen principalment als receptors EphA i EphB respectivament, amb l'excepció de l'EphB4, que reté els lligands Ephrina-A i Ephrina-B equivalentment.

Les ephrines estan involucrades en diferents processos que transcorren en el desenvolupament de l'SNC (Wilkinson, 2001): determinació de la identitat regional durant la regionalització del tub neural, guia de cèl·lules migratòries, formació de tractes axonals i mapes topogràfics, arborització axonal, etc.

Ephrines i receptors Eph han estat catalogats com a molècules repulsives per als axons en creixement, acció dependent del contacte entre membranes, a causa del seu caràcter no difusible. Tot i això, es coneix l'efecte dual d'aquestes molècules; per exemple, impedeixen als tractes corticoespinals creuar la línia mitjana de la medulla espinal (Imondi *et al.*, 2000), mentre que canalitzen els axons comissurals per tal de travessar-la en el cervell mitjà i anterior (Orioli *et al.*, 1996; Park *et al.*, 1997).

De manera anàloga, promouen l'arborització d'axons hipocàmics a través de l'Ephrina-A5 i l'Ephrina-A2 (Gao *et al.*, 1999; Man *et al.*, 2002), mentre que d'altres són supressores sobre les cèl·lules ganglionars de la retina (Roskies *et al.*, 1994).

Aquestes molècules són vitals a l'hora de generar mapes topogràfics de projecció. L'exemple clàssic és el desenvolupament de la projecció des de la retina fins al tèctum; axons emesos per les cèl·lules ganglionars de la retina temporal projecten a la part anterior del tèctum, mentre que els axons que provenen de la retina nasal ho fan a la part posterior (Cheng *et al.*, 1995; Drescher *et al.*, 1995). Aquesta segregació té una correspondència amb els patrons d'expressió dels lligands i els receptors: les molècules Ephrina-A2 i Ephrina-A5 s'expressen en el tèctum en un gradient creixent en sentit anteroposterior, mentre que l'EphA3 (en pollastre) o l'EphA5 (en

ratolí) són presents en nivells més alts en els axons de les neurones de la retina temporal que en els de les neurones de la retina nasal. D'aquesta manera, els axons més sensibles a les ephrines (axons temporals) s'aturen en la meitat anterior del tèctum, i els menys sensibles (axons nasals) són capaços de viatjar fins a la meitat posterior. Diversos estudis, utilitzant mutants genoanul·lats (*knock-out*) per l'Ephrina-A2 i/o l'Ephrina-A5 o bé provocant l'expressió ectòpica de l'EphA3 en algunes cèl·lules de la retina, corroboren aquesta important funció de l'Ephrina/Eph en l'establiment d'aquest mapa topogràfic (Frisén *et al.*, 1998; Brown *et al.*, 2000; Feldheim *et al.*, 2000).

Altres mapes topogràfics que interconnecten diverses àrees també són especificats per aquestes molècules: retina - nucli geniculat lateral, òrgan vomeronasal - bulb olfactiu, hipocamp-septe del cervell anterior o neurones motores de la medul·la espinal - músculs (Knöll i Drescher, 2000).

En un estudi recent (Thompson, 2003) s'ha demostrat que l'activació dels receptors EphB causa la transformació de filopodis en espines dendrítiques, i a més, el reclutament de receptors NMDA, necessaris per a l'establiment de sinapsis excitatòries funcionals. A més, Murai i els seus col·laboradors, realitzant experiments de modificació d'activació dels receptors EphA, han demostrat que aquests són importants en la morfològia de les espines dendrítiques de les cèl·lules piramidals de l'hipocamp en l'adult, i més concretament, en la senyalització entre astròcits i neurones, ja que els astròcits que envolten les sinapsis expressen l'Ephrina-A3 (Murai *et al.*, 2003).

Pel que fa a la senyalització intracel·lular, se sap que l'activació dels receptors EphA transforma l'estat de les integrines, inactivant-les a través de la FAK (una cinasa d'adhesió focal involucrada en la via de senyalització via integrina), i produint un estat de desadhesió com a preludi de la repulsió (Miao *et al.*, 2001). Tanmateix, una ruta alternativa pot promoure l'adhesió cel·lular i l'atracció axonal a través de la β 1-integrina i la cinasa Src (Davy i Robbins, 2000; Huai i Drescher, 2001).

També es coneixen efectes oposats sobre la cascada de les MAP (proteïna associada a microtúbuls) a través de l'EphA o Ephrina-A. L'activació del receptor inactiva l'ERK1 i l'ERK2 (cinases regulades per senyals extracel·lulars), fet que deriva en la inactivació de les cadenes lleugeres de la miosina, i promou desadhesió, mentre que els lligands Ephrina-A activen la miosina i produeixen adhesió i creixement (Davy i Robbins, 2000).

EL PAPER DE LES MOLÈCULES DE GUIA EN LA REGENERACIÓ NEURAL

Al contrari dels axons de l'SNP, els de l'SNC són incapaços de regenerar-se espontàniament després d'una lesió. Les lesions en l'SNC van seguides d'una sèrie d'alteracions histològiques persistents tals com la mort cel·lular, la degeneració de

les fibres nervioses seccionades, la infiltració i la proliferació de cèl·lules no neuronals (cèl·lules meníngies i fibroblasts) i la deposició de components de la matriu extracel·lular a la zona de lesió (Fawcett i Asher, 1999). Tot i les respostes d'arborització local dels axons lesionats, aquests són incapaços de recreixer i per tant és impossible la reconexió amb la seva diana sinàptica. Les poblacions reactives glials i meníngies proliferen i formen una barrera no permissiva en la zona de lesió que inhibeix fortament el recreixement axonal. Aquest medi no permissiu es coneix com a *cicatriu glial*, i conté un combinat de molècules inhibidores com Nogo i MAG (glicoproteïna associada a la mielina), i altres proteïnes de matriu, com els proteoglicans sulfatats i el col·lagen (Horner i Gage, 2000).

Estudis actuals demostren que en lesions d'axotomia de tipus tallant en el cervell anterior i en la medul·la espinal, es reexpressen diverses semaforines per part de cèl·lules de les meninges que s'infiltra en el parènquima nerviós (Pasterkamp i Verhaagen, 2001). En canvi, en lesions contusives, l'expressió de semaforines està limitada a la fulla meníngia. En contrast amb el que succeeix quan es produeix una lesió en l'SNC, la lesió en l'SNP no induïx l'expressió de la SEMA3A, ans el contrari: les motoneurons disminueixen l'expressió de la Sema-3A, fet que coincideix amb l'episodi del recreixement axonal (Pasterkamp *et al.*, 1998).

Miranda i els seus col·laboradors han demostrat la sobreexpressió d'altres molècules de guia axonal en la cicatriu glial (Miranda *et al.*, 1999). L'EphB3 és expressada pels astròcits reactius en lesions de medul·la de tipus contusiu, però no en canvi en altres models de lesió, com la secció del nervi òptic. Cadascuna de les diferents lesions en l'SNC és única en l'aspecte de la resposta cel·lular i molecular, i aquestes molècules inhibidores del creixement hi tenen rols diferents.

Les netrines i els seus receptors també es regulen en cas de lesió; existeix un augment de fins a un factor 40 en l'expressió de la Netrina-1 en les cèl·lules de Schwann després d'una lesió de l'SNP (Madison *et al.*, 2000). Els receptors DCC i UNC5 mostren un decrement de l'expressió en cèl·lules ganglionars de la retina després de la secció del nervi òptic, i també en axons regenerants olfactivs després d'una bulbectomia unilateral (Astic *et al.*, 2002).

Aquestes dades posen de manifest la necessitat i l'encert d'estudiar aquestes molècules de guia axonal en el panorama de la regeneració de l'SNC.

LA SINERGIA DE LES MOLÈCULES DE GUIA AXONAL PER AL DESENVOLUPAMENT DE CONNEXIONS HIPOCÀMPIQUES

L'hipocamp i la *fascia dentata* són àrees corticals discretes amb un patró únic d'organització laminar de capes cel·lulars i aferències nervioses. Els cossos cel·lulars de les neurones principals (cèl·lules piramidals i granulars) s'agrupen en dues fulles

cel·lulars, que reben les principals connexions nervioses (aferència de l'escorça entorínica i projeccions del septo i comissurals) a diferents nivells de la longitud de les seves dendrites, en una forma estratificada (Amaral i Witter, 1995). Aquesta estructura planteja la qüestió de com aquestes connexions tan acurades s'estableixen i especifiquen durant el desenvolupament.

Els estudis de desenvolupament *in vitro* han posat en evidència que els axons entorínics i els comissurals són repel·lits per les semaforines secretables (Sema-3A i Sema-3F) (Chedotal *et al.*, 1998; Steup *et al.*, 1999; Pozas *et al.*, 2001). A més, la Netrina-1 atrau els axons comissurals de l'hipocamp en cultius de col·lagen (Barallobre *et al.*, 2000; Steup *et al.*, 2000; Skutella i Nitsch, 2001).

Pel que fa als estudis d'expressió, els assajos d'hibridació *in situ* mostren que les semaforines i els seus receptors s'expressen en l'escorça entorínica i en l'hipocamp. El receptor de la Netrina-1 (DCC) també s'expressa en neurones hipocàmiques, i l'mRNA de la Netrina-1 es pot trobar en el ventricle pròxim a la fimbria. Aquestes dades suggereixen que els axons entorínics són repel·lits per les semaforines presents en l'escorça, i dirigits cap a l'hipocamp. La combinació dels dos senyals seria, doncs, capaç de dirigir els axons comissurals de l'hipocamp cap a la fimbria, repel·lits per les semaforines i atrets per la Netrina-1.

Un altre membre de la família de les semaforines, la Sema-3C, és capaç de promoure repulsió sobre neurites septals, però no sobre les que tenen un origen entorínic o hipocàmpic. D'aquesta manera es regula l'entrada d'aferents septohipocàmics (Steup *et al.*, 2000). A més, l'Ephrina-A3 i el seu receptor, l'EphA5, també modelen les fibres entoríniques en un mode d'especificació sinàptica laminar (Stein *et al.*, 1999). Un estudi recent ha posat de relleu que el sistema Ephrina/Eph també regula la connexió septohipocàmpica (Yue *et al.*, 2002); lligands i receptors s'expressen en territoris oposats en l'hipocamp i en el septo lateral, i l'expressió ectòpica de receptors truncats Eph altera el mapa topogràfic d'aquesta connexió.

El desenvolupament també requereix l'acció de la via de l'Slit/Robo per a configurar l'hipocamp; l'Slit-1 i l'Slit-2 s'expressen en l'escorça entorínica, mentre que els seus receptors s'expressen en el gir dentat (Nguyen Ba-Charvet *et al.*, 1999). La funció putativa de l'Slit/Robo seria, doncs, preservar l'organització intrínseca laminar de les connexions hipocàmiques.

El conjunt d'aquestes dades demostra que un gran nombre de molècules junt amb els seus receptors tenen un paper actiu a l'hora de promoure el creixement i la guia de les connexions hipocàmiques. Les accions coordinades i la sinergia existent entre aquestes molècules i altres com les neurotrofines o molècules d'adhesió cel·lular modulen les propietats atractives/quimiorrepulsives d'aquests axons.

BIBLIOGRAFIA

- ACKERMAN, S. L.; KOZAK, L. P.; PRZYBORSKI, S. A.; RUND, L. A.; BOYER, B. B.; KNOWLES, B. B. (1997). «The mouse rostral cerebellar malformation gene encodes an UNC-5-like protein». *Nature*, núm. 386, p. 838-842.
- AIZAWA, H.; WAKATSUKI, S.; ISHII, A.; MORIYAMA, K.; SASAKI, Y.; OHASHI, K.; SEKINE-AIZAWA, Y.; SEHARA-FUJISAWA, A.; MIZUNO, K.; GOSHIMA, Y.; YAHARA, I. (2001). «Phosphorylation of cofilin by LIM-kinase is necessary for semaphorin 3A-induced growth cone collapse». *Nat. Neurosci.*, núm. 4, p. 367-373.
- AMARAL, D. G.; WITTER, M. P. (1995). *The hippocampal formation*. Nova York: Academic Press.
- ASTIC, L.; PELLIER-MONNIN, V.; SAUCIER, D.; CHARRIER, C.; MEHLEN, P. (2001). «Expression of netrin-1 and netrin-1 receptor, DCC, in the rat olfactory nerve pathway during development and axonal regeneration». *Neuroscience*, núm. 109, p. 643-656.
- BAGNARD, D.; LOHRUM, M.; UZIEL, D.; PUSCHEL, A. W.; BOLZ, J. (1998). «Semaphorins act as attractive and repulsive guidance signals during the development of cortical projections». *Development*, núm. 125, p. 5043-5053.
- BARALLOBRE, M. J.; RÍO, J. A. del; ALCANTARA, S.; BORRELL, V.; AGUADO, F., RUIZ, M.; CARMONA, M. A.; MARTIN, M.; FABRE, M.; YUSTE, R.; TESSIER-LAVIGNE, M.; SORIANO, E. (2000). «Aberrant development of hippocampal circuits and altered neural activity in netrin 1-deficient mice». *Development*, núm. 127, p. 4797-4810.
- BEHAR, O.; GOLDEN, J. A.; MASHIMO, H.; SCHOEN, F. J.; FISHMAN, M. C. (1996). «Semaphorin III is needed for normal patterning and growth of nerves, bones and heart». *Nature*, núm. 383, p. 525-528.
- BRAISTED, J. E.; CATALANO, S. M.; STIMAC, R.; KENNEDY, T. E.; TESSIER-LAVIGNE, M.; SHATZ, C. J.; O'LEARY, D. D. M. (2000). «Netrin-1 promotes thalamic axon growth and is required for proper development of the thalamocortical projection». *J. Neurosci.*, núm. 20, p. 5792-5801.
- BROWN, A.; YATES, P. A.; BURROLA, P.; ORTUNO, D.; VAIDYA, A.; JESSELL, T. M.; PFAFF, S. L.; O'LEARY, D. D.; LEMKE, G. (2000). «Topographic mapping from the retina to the midbrain is controlled by relative but not absolute levels of EphA receptor signaling». *Cell*, núm. 102, p. 77-88.
- CASTELLANI, V.; YUE, Y.; GAO, P. P.; ZHOU, R.; BOLZ, J. (1998). «Dual action of a ligand for Eph receptor tyrosine kinases on specific populations of axons during the development of cortical circuits». *J. Neurosci.*, núm. 18, p. 4663-4672.
- CASTRO, F. de; HU, L.; DRABKIN, H.; SOTELO, C.; CHEDOTAL, A. (1999). «Chemoattraction and chemorepulsion of olfactory bulb axons by different secreted semaphorins». *J. Neurosci.*, vol. 11, núm. 19 (1 juny), p. 4428-4436.
- CHEDOTAL, A.; RÍO, J. A. del; RUIZ, M.; HE, Z.; BORRELL, V.; CASTRO, F. de; EZAN, F.; GOODMAN, C. S.; TESSIER-LAVIGNE, M.; SOTELO, C.; SORIANO, E. (1988). «Semaphorins III and IV repel hippocampal formation via two distinct receptors». *Development*, núm. 125, p. 4313-4323.
- CHENG, H. J.; NAKAMOTO, M.; BERGEMANN, A. D.; FLANAGAN, J. G. (1995). «Complementary gradients in expression and binding of ELF-1 and Mek4 in development of the topographic retinotectal projection map». *Cell*, núm. 82, p. 371-381.

- COOPER, H. M. (2002). «Axon guidance receptors direct growth cone pathfinding: rivalry at the leading edge». *Int. J. Dev. Biol.*, núm. 46, p. 621-631.
- COWAN, C. A.; HENKEMEYER, M. (2002). «Ephrins in reverse, park and drive». *Trends Cell Biol.*, núm. 12, p. 339-346.
- DAVY, A.; ROBBINS, S. M. (2000). «Ephrin-A5 modulates cell adhesion and morphology in an integrin-dependent manner». *EMBO J.*, núm. 19, p. 5396-5405.
- DE WINTER, F.; OUDEGA, M.; LANKHORST, A. J.; HAMERS, F. P.; BLITS, B.; RUITENBERG, M. J.; PASTERKAMP, R. J.; GISPEN, W. H.; VERHAAGEN, J. (2002). «Injury-induced class 3 semaphorin expression in the rat spinal cord». *Exp. Neurol.*, núm. 175, p. 61-75.
- DRESCHER, U.; KREMOSER, C.; HANDWERKER, C.; LOSCHINGER, J.; NODA, M.; BONHOEFER, F. (1995). «In vitro guidance of retinal ganglion cell axons by RAGS, a 25 kDa tectal protein related to ligands for Eph receptor tyrosine kinases». *Cell*, núm. 82, p. 359-370.
- EICKHOLT, B. J.; WALSH, F. S.; DOHERTY, P. (2002). «An inactive pool of GSK-3 at the leading edge of growth cones is implicated in Semaphorin 3A signaling». *J. Cell Biol.*, núm. 157, p. 211-217.
- ELLEZAM, B.; SELLES-NAVARRO, I.; MANITT, C.; KENNEDY, T. E.; MCKERRACHER, L. (2001). «Expression of netrin-1 and its receptors DCC and UNC-5H2 after axotomy and during regeneration of adult rat retinal ganglion cells». *Exp. Neurol.*, núm. 168, p. 105-115.
- FAWCETT, J. W.; ASHER, R. A. (1999). «The glial scar and central nervous system repair». *Brain Res. Bull.*, núm. 49, p. 377-391.
- FELDHEIM, D. A.; KIM, Y. I.; BERGEMANN, A. D.; FRISÉN, J.; BARBACID M.; FLANAGAN, J. G. (2000). «Genetic analysis of ephrin-A2 and ephrin-A5 shows their requirement in multiple aspects of retinocollicular mapping». *Neuron*, núm. 25, p. 563-574.
- FORCET, C.; STEIN, E.; PAYS, L.; CORSET, V.; LLAMBI, F.; TESSIER-LAVIGNE, M.; MEHLEN, P. (2002). «Netrin-1-mediated axon outgrowth requires deleted in colorectal cancer-dependent MAPK activation». *Nature*, núm. 417, p. 443-447.
- FRISÉN, J.; YATES, P. A.; MCLAUGHLIN, T.; FRIEDMAN, G. C.; O'LEARY, D. D.; BARBACID, M. (1998). «Ephrin-A5 (AL-1/RAGS) is essential for proper retinal axon guidance and topographic mapping in the mammalian visual system». *Neuron*, núm. 20, p. 235-243.
- GALE, N.; HOLLAND, S.; VALENZUELA, D.; FLENNIKEN, A.; PAN, L.; RYAN, T.; HENKEMEYER, M.; STREBHARDT, K.; HIRAI, H.; WILKINSON, D.; PAWSON, T.; DAVIS, S.; YANCOPOULUS, G. (1996). «Eph receptors and ligands comprise two major specificity subclasses and are reciprocally compartmentalized during embryogenesis». *Neuron*, núm. 17, p. 9-19.
- GAO, P. P.; YUE, Y.; CERRETTI, D. P.; DREYFUS, C.; ZHOU, R. (1999). «Ephrin-dependent growth and pruning of hippocampal axons». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 96, p. 4073-4077.
- GHOSE, A.; VACTOR, D. van (2002). «GAPs in Slit- robo signaling». *Bioessays*, núm. 24, p. 401-404.
- GIGER, R. J.; KOLODKIN, A. L. (2001). «Silencing the siren: guidance cue hierarchies at the CNS midline». *Cell*, núm. 105, p. 1-4.
- GUTHRIE, S. (2001). «Axon guidance: robos make the rules». *Curr. Biol.*, núm. 11, p. 300-303.

- HATTORI, M.; OSTERFIELD, M.; FLANAGAN, J. G. (2000). «Regulated cleavage of a contact-mediated axon repellent». *Science*, núm. 289, p. 1360-1365.
- HORNER, P. J.; GAGE, F. H. (2000). «Regenerating the damaged central nervous system». *Nature*, núm. 407, p. 963-970.
- HUAL, J.; DRESCHER, U. (2001). «An ephrin-A-dependent signalling pathway controls integrin function and is linked to the tyrosine phosphorylation of a 120 kDa protein». *J. Biol. Chem.*, núm. 276, p. 6689-6694.
- IMONDI, R.; WIDEMAN, C.; KAPRIELIAN, Z. (2000). «Complementary expression of transmembrane ephrins and their receptors in the mouse spinal cord: a possible role in constraining the orientation of longitudinally projecting axons». *Development*, núm. 127, p. 1397-1410.
- KAPRIELIAN, Z.; IMONDI, R.; RUNKO, E. (2000). «Axon guidance at the midline of the developing CNS». *Anat. Rec.*, núm. 261, p. 176-197.
- KENNEDY, T. E.; SERAFINI, T.; TORRE, J. R. de la; TESSIER-LAVIGNE, M. (1994). «Netrins are diffusible chemotrophic factors for commissural axons in the embryonic spinal cord». *Cell*, núm. 78, p. 425-435.
- KNÖLL, B., DRESCHER, U. (2002). «Ephrin-As as receptors in topographic projections». *Trends Neurosci.*, núm. 25, p. 145-149.
- KNÖLL, B.; ISENMANN, S.; KILIC, E.; WALKENHORST, J.; ENGEL, S.; WEHINGER, J.; BAHR, M.; DRESCHER, U. (2001). «Graded expression patterns of ephrin-As in the superior colliculus after lesion of the adult mouse optic nerve». *Mech. Dev.*, vol. 1-2, núm. 106 (agost), p. 119-127.
- LI, X.; MERIANE, M.; TRIKI, I.; SHEKARABI, M.; KENNEDY, T. E.; LAROSE, L.; LAMARCHE-VANE, N. (2002). «The adaptor protein Nck-1 couples the netrin-1 receptor DCC (deleted in colorectal cancer) to the activation of the small GTPase Rac1 through an atypical mechanism». *J. Biol. Chem.*, núm. 277, p. 37788-37797.
- LI, X.; SAINT-CYR-PROULX, E.; AKTORIES, K.; LAMARCHE-VANE, N. (2002). «Rac1 and Cdc42 but not RhoA or Rho kinase activities are required for neurite outgrowth induced by the Netrin-1 receptor DCC (deleted in colorectal cancer) in N1E-115 neuroblastoma cells». *J. Biol. Chem.*, núm. 277, p. 15207-15214.
- LIVESEY, F. J. (1999). «Netrins and netrin receptors». *Cell. Mol. Life Sci.*, núm. 56, p. 62-68.
- LLAMBI, F.; CAUSERET, F.; BLOCH-GALLEGO, E.; MEHLEN, P. (2001). «Netrin-1 acts as a survival factor via its receptors UNC5H and DCC». *EMBO J.*, núm. 20, p. 2715-2722.
- LLINÁS, Rodolfo R. (2003). «The contribution of Santiago Ramón y Cajal to functional neuroscience». *Nature Reviews*, vol. 4.
- MADISON, R. D.; ZOMORODI, A.; ROBINSON, G. A. (2000). «Netrin-1 and peripheral nerve regeneration in the adult rat». *Exp. Neurol.*, núm. 161, p. 563-570.
- MANN, F.; PEUCKERT, C.; DEHNER, F.; ZHOU, R.; BOLZ, J. (2002). «Ephrins regulate the formation of terminal axonal arbors during the development of thalamocortical projections». *Development*, núm. 129, p. 3945-3955.
- MCALLISTER, A. K. (2002). «Conserved cues for axon and dendrite growth in the developing cortex». *Neuron*, núm. 33, p. 2-4.
- MIAO, H.; WEI, B. R.; PEEHL, D. M.; LI, Q.; ALEXANDROU, T.; SCHELLING, J. R.; RHIM, J. S.;

- SEADOR, J. R.; BURNETT, E.; WANG, B. (2001). «Activation of Eph receptor tyrosine kinase inhibits the Ras/MAPK pathway». *Nat. Cell. Biol.*, núm. 3, p. 527-530.
- MING, G. L.; WONG, S. T.; HENLEY, J.; YUAN, X. B.; SONG, H. J.; SPITZER, N. C.; POO, M. (2002). «Adaptation in the chemotactic guidance of nerve growth cones». *Nature*, núm. 417, p. 411-418.
- MIRANDA, J. D.; WHITE, L. A.; MARCILLO, A. E.; WILLSON, C. A.; JAGID, J.; WHITTEMORE, S. R. (1999). «Induction of Eph B3 after spinal cord injury». *Exp. Neurol.*, núm. 156, p. 218-222.
- MITSUMI, N.; INATOME, R.; TAKAHASHI, S.; GOSHIMA, Y.; YAMAMURA, H.; YANAGI, S. (2002). «Involvement of Fes/Fps tyrosine kinase in semaphorin3A signaling». *EMBO J.*, núm. 21, p. 3274-3285.
- MURAI, K. K.; NGUYEN, L. N.; IRIE, F.; YAMAGUCHI, Y.; PASQUALE, E. B. (2003). *Nature Neuroscience*, núm. 6, p. 153-160.
- NAKAMURA F.; KALB, R. G.; STRITTMATTER, S. M. (2000). «Molecular basis of semaphorin-mediated axon guidance». *J. Neurobiol.*, núm. 44, p. 219-229.
- NEGISHI, M.; KATOH, H. (2002). «Rho family GTPases as key regulators for neuronal network formation». *Journal Biochem.*, núm. 132, p. 157-166.
- NEUFELD, G.; COHEN, T.; SHRAGA, N.; LANGE, T.; KESSLER, O.; HERZOG, Y. (2002). «The neuropilins: multifunctional semaphorin and VEGF receptors that modulate axon guidance and angiogenesis». *Trends Cardiovasc. Med.*, núm. 12, p. 13-19.
- NGUYEN BA-CHARVET, K. T.; BROSE, K.; MARILLAT, V.; KIDD, T.; GOODMAN, C. S.; TESSIER-LAVIGNE, M.; SOTELO, C.; CHEDOTAL, A. (1999). «Slit2-Mediated chemorepulsion and collapse of developing forebrain axons». *Neuron*, núm. 22, p. 463-473.
- NGUYEN-BA-CHARVET, K. T.; CHEDOTAL, A. (2002). «Role of Slit proteins in the vertebrate brain». *J. Physiol.* [Paris], núm. 96, p. 91-98.
- ORIOLO, D.; HENKEMEYER, M.; LEMKE, G.; KLEIN, R.; PAWSON, T. (1996). «Sek4 and Nuk receptors cooperate in guidance of commissural axons and in palate formation». *EMBO J.*, núm. 15, p. 6035-6049.
- PARK, S.; FRISÉN, J.; BARBACID, M. (1997). «Aberrant axonal projections in mice lacking EphA8 (Eek) tyrosine protein kinase receptors». *EMBO J.*, núm. 16, p. 3106-3114.
- PASTERKAMP, R. J.; GIGER, R. J.; VERHAAGEN, J. (1998). «Regulation of semaphorin III/collapsin-1 gene expression during peripheral nerve regeneration». *Exp. Neurol.*, núm. 153, p. 313-327.
- PASTERKAMP, R. J.; VERHAAGEN, J. (2001). «Emerging roles for semaphorins in neural regeneration». *Brain Res. Rev.*, núm. 35, p. 36-54.
- PETRAUSCH, B.; JUNG, M.; LEPPERT, C. A.; STUERMER, C. A. (2000). «Lesion-induced regulation of netrin receptors and modification of netrin-1 expression in the retina of fish and grafted rats». *Mol. Cell. Neurosci.*, núm. 16, p. 350-364.
- POZAS, E.; PASCUAL, M.; NGUYEN, BA-CHARVET, K. T.; GUÑIJARRO, P.; SOTELO, C.; CHEDOTAL, A.; RÍO, J. A. del; SORIANO, E. (2001). «Age-dependent effects of secreted Semaphorins 3A, 3F, and 3E on developing hippocampal axons: in vitro effects and phenotype of Semaphorin 3A (-/-) mice». *Mol. Cell. Neurosci.*, núm. 18, p. 26-43.
- RAPER, J. A. (2000). «Semaphorins and their receptors in vertebrates and invertebrates». *Curr. Opin. Neurobiol.*, vol. 1, núm. 10 (febrer), p. 88-94.

- ROSKIES, A. L.; O'LEARY, D. D. M. (1994). «Control of topographic retinal axon branching by inhibitory membrane-bound molecules». *Science*, núm. 265, p. 799-803.
- SERAFINI, T.; COLAMARINO, S. A.; LEONARDO, E. D.; WANG, H.; BEDDINGTON, R.; SKARNES, W. C.; TESSIER-LAVIGNE, M. (1996). «Netrin-1 is required for commissural axon guidance in the developing vertebrate nervous system». *Cell*, núm. 87, p. 1001-1014.
- SERAFINI, T.; KENNEDY, T. E.; GALKO, M. J.; MIRZAYAN, C.; JESSELL, T. M.; TESSIER-LAVIGNE, M. (1994). «The netrins define a family of axon outgrowth-promoting proteins homologous to *C. elegans* UNC-6». *Cell*, núm. 78, p. 409-424.
- SHIFMAN, M. I.; SELZER, M. E. (2000). «Expression of the netrin receptor UNC-5 in lamprey brain: modulation by spinal cord transection». *Neurorehabil. Neural Repair*, núm. 14, p. 49-58.
- SHIRVAN, A.; SHINA, R.; ZIV, I.; MELAMED, E.; BARZILAI, A. (2000). «Induction of neuronal apoptosis by Semaphorin3A-derived peptide». *Brain Res. Mol. Brain Res.*, núm. 83, p. 81-93.
- SKUTELLA, T.; NITSCH, R. (2001). «New molecules for hippocampal development». *Trends Neurosci.*, núm. 24, p. 107-113.
- SOTELO, C. (2003). «Viewing the brain through the master hand of Ramón y Cajal». *Nature Reviews*, vol. 4.
- SPASSKY, N.; CASTRO, F. de; LE BRAS, B.; HEYDON, K.; QUERAUD-LESAUX, F.; BLOCH-GALLEGO, E.; CHEDOTAL, A.; ZALC, B.; THOMAS, J. L. (2002). «Directional guidance of oligodendroglial migration by class 3 semaphorins and netrin-1». *J. Neurosci.*, vol. 14, núm. 22, p. 5992-6004.
- STEIN, E.; SAVASKAN, N. E.; NINNEMANN, O.; NITSCH, R.; ZHOU, R.; SKUTELLA, T. (1999). «A role for the Eph ligand ephrin-A3 in entorhino-hippocampal axon targeting». *J. Neurosci.*, núm. 19, p. 8885-8893.
- STEUP, A.; LOHRUM, M.; HAMSCHO, N.; SAVASKAN, N. E.; NINNEMANN, O.; NITSCH, R.; FUJISAWA, H.; PUSCHEL, A. W.; SKUTELLA, T. (2000). «Sema3C and netrin-1 differentially affect axon growth in the hippocampal formation». *Mol. Cell. Neurosci.*, núm. 15, p. 141-155.
- STEUP, A.; NINNEMANN, O.; SAVASKAN, N. E.; NITSCH, R.; PUSCHEL, A. W.; SKUTELLA, T. (1999). «Semaphorin D acts as a repulsive factor for entorhinal and hippocampal neurons». *Eur. J. Neurosci.*, núm. 11, p. 729-734.
- TAMAGNONE, L.; COMOGLIO, P. M. (2000). «Signalling by semaphorin receptors: cell guidance and beyond». *Trends Cell Biol.*, núm. 10, p. 377-383.
- TERMAN, J. R.; MAO, T.; PASTERKAMP, R. J.; YU, H. H.; KOLODKIN, A. L. (2002). «MICALs, a family of conserved flavoprotein oxidoreductases, function in plexin-mediated axonal repulsion». *Cell*, núm. 109, p. 887-900.
- TESSIER-LAVIGNE, M.; GOODMAN, C. S. (1996). «The molecular biology of axon guidance». *Science*, núm. 274, p. 1123-1133.
- THOMPSON, Scott M. (2003). «Ephrins keep dendritic spines in shape». *Nature Neuroscience*, vol. 6, núm. 2.
- WALSH, F. S.; DOHERTY, P. (1997). «Neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily: Role in axon growth and guidance». *Annu. Rev. Cell Biol.*, núm. 13, p. 425-456.

- WILKINSON, D. G. (2001). «Multiple roles of Eph receptors and ephrins in neural development». *Nature Rev. Neurosci.*, núm. 2, p. 155-164.
- WINBERG, M. L.; TAMAGNONE, L.; BAI, J.; COMOGLIO, P. M.; MONTELL, D.; GOODMAN, C. S. (2001). «The transmembrane protein Off-track associates with Plexins and functions downstream of Semaphorin signaling during axon guidance». *Neuron*, núm. 32, p. 53-62.
- YU, T. W.; BARGMANN, C. I. (2001). «Dynamic regulation of axon guidance». *Nat. Neurosci.*, núm. 4, p. 1169-1176.
- YUE, Y.; CHEN, Z. Y.; GALE, N. W.; BLAIR-FLYNN, J.; HU, T. J.; YUE, X.; COOPER, M.; CROCKETT, D. P.; YANCOPOULOS, G. D.; TESSAROLLO, L.; ZHOU, R. (2002). «Mistargeting hippocampal axons by expression of a truncated Eph receptor». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 99, p. 10777-10782.
- ZISCH, A. H.; STALLCUP, W. B.; CHONG, L. D.; DAHLIN-HUPPE, K.; VOSHOL, J.; SCHACHNER, M.; PASQUALE, E. B. (1997). «Tyrosine phosphorylation of L1 family adhesion molecules: implication of the Eph kinase Cdk5». *J. Neurosci. Res.*, núm. 47, p. 655-665.