

LES NEUROTROFINES EN EL SISTEMA NERVIÓS CENTRAL: EFECTES NEUROPROTECTORS I IMPLICACIONS TERAPÈUTIQUES

JORDI ALBERCH¹ I ERNEST ARENAS²

¹*Departament de Biologia Cel·lular i Anatomia Patològica. Universitat de Barcelona.*

²*Laboratori de Neurobiologia Molecular. Departament de Bioquímica i Biofísica Mèdiques. Institut Karolinska. Estocolm. Suècia.*

Adreça per a la correspondència: J. Alberch. Departament de Biologia Cel·lular i Anatomia Patològica. Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona. Casanova, 143. 08036 Barcelona.

INTRODUCCIÓ

La formació de les connexions i l'estabilització dels circuits neuronals són crítiques en el desenvolupament del sistema nerviós, ja que són la base de les seves funcions, com són l'aprenentatge i la memòria. Durant el desenvolupament es produeix un excés de cèl·lules nervioses que seran seleccionades en funció de la seva habilitat per establir contactes sinàptics amb les cèl·lules diana, mitjançant un procés de mort cel·lular fisiològica que serveix per seleccionar i estabilitzar els circuits neuronals. L'estudi dels mecanismes implicats en la regulació de la supervivència és important també per entendre i intentar trobar possibles tractaments per als processos de neurodegeneració selectiva que hi ha en alguns trastorns neurològics. Els últims anys ha tingut lloc un gran avenç en el coneixement dels diferents senyals que regulen la supervivència neuronal. Entre aquests senyals hi ha els factors neurotròfics.

Els factors neurotròfics són substàncies que regulen el desenvolupament del sistema nerviós, la plasticitat neuronal i el manteniment de la integritat estructural. La possible habilitat dels factors tròfics en la regulació del creixement axonal després d'una lesió ja va ser proposada al final del segle passat. Ramón i Cajal (1928) va estudiar àmpliament la regeneració després d'una axotomia, i ja va descriure que les cèl·lules de Schwann elaboraven una «substància humoral» que produïa un ambient favorable per a la regeneració de l'axó denervat. El concepte que la supervivència de les neurones també estava influenciada per senyals provinents de les zones diana va ser proposat en els treballs clàssics de Viktor Hamburger (1934). Un avenç decisiu en el camp de la neurobiologia del desenvolupament el va dur a terme Rita Levi-Montalcini, quan va trobar que un factor soluble era el responsable de l'estimulació del creixement

neuronal (Levi-Montalcini i Hamburger, 1951). Aquestes troballes van permetre aïllar i caracteritzar el primer factor neurotròfic, el factor de creixement nerviós (NGF) (Cohen *et al.*, 1960). Curiosament, l'NGF es troba en grans quantitats a la glàndula submaxil·lar de ratolí mascle, fet que va permetre la seva purificació i l'estudi de les seves funcions.

FAMÍLIA DE LES NEUROTROFINES

Les neurotrofines són una família de proteïnes amb una alta homologia amb l'NGF (Lindsay *et al.*, 1991). L'NGF es va convertir en el prototip de factor neurotròfic derivat de les zones diana, i té un paper molt important en la regulació de la supervivència, el manteniment i la diferenciació de les neurones sensorials i simpàtiques del sistema nerviós perifèric (Thoenen i Barde, 1980). En els anys vuitanta es va ampliar la seva funció al sistema nerviós central. Es va descriure que l'NGF tenia efecte tròfic sobre les neurones colinèrgiques dels nuclis basals (Hefti, 1986). També es van estendre els seus efectes com a regulador de la plasticitat neuronal i com a neuroprotector després de una lesió.

Malgrat que l'NGF es va descriure fa quatre dècades, als últims anys és quan realment s'ha avançat en demostrar l'existència de nous membres d'aquesta família de factors neurotròfics. No va ser fins a l'any 1982 que es va aïllar un altre membre d'aquesta família de factors neurotròfics, el factor neurotròfic derivat del cervell (BDNF). Aquest factor es va aïllar del cervell de porc, i regula la supervivència de les neurones sensorials de la medul·la espinal (Barde *et al.*, 1982). Quan va ser clonat es va observar que la seva seqüència presentava una gran homologia amb la seqüència de l'NGF (Leibrock *et al.*, 1989), i es va suggerir que podien pertànyer a una mateixa família de

factors neurotròfics. El BDNF dona suport tròfic a neurones del sistema nerviós perifèric, com són les neurones sensorials procedents de la cresta neural i del placode, i les neurones parasimpàtiques del gangli nodós (Leibrock *et al.*, 1989); però també augmenta la supervivència i el creixement axonal d'algunes neurones del sistema nerviós central, com són les neurones dopaminèrgiques del mesencèfal (Hyman *et al.*, 1991), les neurones colinèrgiques dels nuclis basals (Alderson *et al.*, 1990) i les motoneurones (Oppenheim *et al.*, 1992).

L'any 1991 es van clonar dos nous membres de la família de les neurotrofines, la neurotrofina-3 (NT-3) i la neurotrofina-4/5 (NT-4/5) utilitzant tècniques de la reacció en cadena de la polimerasa (PCR). Aquestes dues neurotrofines també presenten una gran homologia amb l'NGF i el BDNF. La NT-3 té efectes tròfics sobre les neurones sensorials i simpàtiques del sistema nerviós perifèric (Hohn *et al.*, 1990), sobre les neurones colinèrgiques dels nuclis basals i sobre les neurones noradrenèrgiques del locus ceruleus en el sistema nerviós central (Friedman *et al.*, 1993). La NT-4/5 va ser clonada en diferents espècies, la NT-4 del *Xenopus laevis* (Hallböök *et al.*, 1991) i la NT-5 en mamífers (Berkemeier *et al.*, 1991), per la qual cosa s'utilitza la terminologia NT-4/5. La supervivència i la diferenciació de les neurones simpàtiques, les neurones del gangli de l'arrel posterior i del gangli nodós, les neurones colinèrgiques dels nuclis basals i les noradrenèrgiques del locus ceruleus són regulades per la NT-4/5 (Friedman *et al.*, 1993; Hallböök *et al.*, 1991).

Recentment s'ha descrit la neurotrofina-6 (NT-6), que presenta una gran homologia amb l'NGF (Götz *et al.*, 1994). La NT-6 es va descriure en el peix *Xiphophorus*, però es desconeix si existeix en mamífers. Els seus efectes biològics encara no han estat ben estudiats, però són similars als de l'NGF.

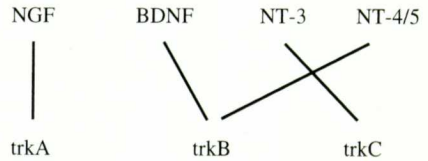
RECEPTORS PER A LES NEUROTROFINES

Els estudis inicials, utilitzant tècniques d'unió amb ^{125}I -NGF, van descriure dos tipus de llocs d'unió amb diferents constants de dissociació (Kd): d'alta afinitat (10^{-11}M) i de baixa afinitat (10^{-9}M).

Receptor de baixa afinitat (p75). El receptor de baixa afinitat va ser el primer de ser descrit i es va anomenar receptor de NGF (Johnson *et al.*, 1986; Radeke *et al.*, 1987). Posteriorment es va observar que tots els membres de la família de les neurotrofines també s'hi unien amb baixa afinitat (Rodríguez-Tebar *et al.*, 1990, 1992), per això és més correcte anomenar-lo p75.

La funció del p75 ha estat àmpliament discutida els darrers anys. Aquest receptor està localitzat principalment en cèl·lules que responen a les neurotrofines i ha estat implicat en processos d'apoptosi i de migració cel·lular (Chao i Hempstead, 1995). Malgrat la seva habilitat a interaccionar específicament amb les diferents neurotrofines, alguns estudis suggereixen que el p75 no és necessari per induir l'efecte de les neurotrofines. Algunes cèl·lules que expressen el receptor d'alta afinitat i no el p75 són capaces de respondre a les neurotrofines (Knusel *et al.*, 1994). També l'NGF mutant, que només s'uneix al receptor d'alta afinitat (trkA) i no al p75, és capaç de diferenciar les cèl·lules PC12 (Ibáñez *et al.*, 1992). Encara que el p75 no és indispensable en la producció de senyals intracel·lulars induïts per les neurotrofines, la presència de p75 podria potenciar els efectes tròfics de les neurotrofines (Chao i Hempstead, 1995). En canvi, s'ha descrit que la unió de l'NGF al p75, sense la presència de receptors d'alta afinitat, pot activar la via de l'esfingomielina (Dobrowsky *et al.*, 1994) i també genera respostes biològiques específiques, com els canvis en l'adhesió cel·lular (Itoh *et al.*, 1995).

Receptor d'alta afinitat: receptors tirosina cinasa (trk). Fins al moment han estat identificats tres receptors tirosina cinasa (trkA, trkB i trkC), que presenten diferents afinitats per les neurotrofines.



L'NGF s'uneix amb alta afinitat únicament amb el trkA. El BDNF i la NT-4/5 comparteixen el trkB. La NT-3 té més afinitat pel trkC. És interessant observar que malgrat que el BDNF i la NT-4/5 presenten alta afinitat pel mateix receptor, els seus efectes biològics són molt semblants però no idèntics. Això suggereix que les neurones tenen algun mecanisme per diferenciar les dues neurotrofines.

Els gens *trk* codifiquen diferents transcrits que donen lloc a una varietat funcional de receptors diferents. Hi ha diferents formes de trkB i trkC que no presenten el domini tirosina cinasa. La funció d'aquestes formes truncades és desconeguda (Barbacid, 1994).

Els receptors trk són necessaris per induir el creixement i la supervivència de certes poblacions neuronals. La unió de les neurotrofines als receptors trk produeixen una sèrie de respostes biològiques a través de l'activació del domini tirosina cinasa, i induïxen un ràpid augment de la fosforilació de substrates cel·lulars selectius, com són la fosfolipasa C, el fosfotidilinositol 3'-cinasa i la via *ras*/MAP cinasa, entre d'altres (Segal i Greenberg, 1996). Els receptors trk també tenen un paper molt important en el procés d'internalització de les neurotrofines (Meakin i Shooter, 1992).

MECANISMES D'ACCIÓ DE LES NEUROTROFINES

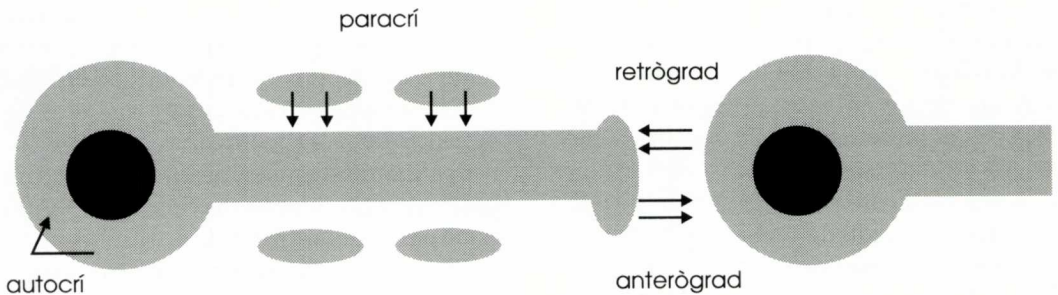
Als anys vuitanta es va formular la teoria neurotròfica que proposava que les cèl·lules diana secreten unes quantitats limitades de factors neurotròfics pels quals competeixen les cèl·lules presinàptiques. Les cèl·lules que tindrien accés al factor sobreviurien mentre que les altres moririen. Aquesta teoria provenia de treballs en què l'eliminació de la zona diana induïa un augment de la mort neuronal (Cowen *et al.*, 1984). Al contrari, en produir un bloqueig de la transmissió sinàptica o afegir una nova diana es produïa una disminució de la mort cel·lular. Aquests resultats suggerien que les neurones no estaven programades per morir, sinó que la seva supervivència depenia de la funció i la mida del teixit diana (Oppenheim, 1981).

Aquesta teoria proposava que eren les cèl·lules postsinàptiques les que normalment sintetitzarien i secretarien els factors neurotròfics i que a les cèl·lules presinàptiques estarien localitzats els receptors específics. El factor s'uniria al receptor i el complex seria internalitzat i transportat retrògradament cap al cos cel·lular.

Aquest mecanisme d'acció explicaria les activitats tròfiques derivades del teixit diana. El prototip d'aquests tipus de mecanisme d'acció és l'NGF actuant sobre les neurones simpàtiques i les sensorials del sistema nerviós perifèric.

Inicialment es va considerar que les neurotrofines i altres factors tròfics només podien actuar retrògradament. Actualment es considera que alguns factors neurotròfics podrien exercir la seva funció d'una forma anterògrada. Recentment s'ha demostrat que les neurotrofines poden ser transportades anterògradament des del cos cel·lular fins als terminals.

Actualment, l'aparició de nous factors tròfics amb accions diverses, especialment al sistema nerviós central, ha comportat que es consideressin nous mecanismes d'acció local: autocrí i paracrí. Alguns tipus de neurones no només sintetitzen factors tròfics, sinó que també expressen els seus receptors. El mecanisme autocrí serviria per donar suport tròfic a les neurones fins que estableixin contactes sinàptics amb les cèl·lules diana. Els factors neurotròfics també poden actuar d'una forma paracrina en ser alliberats i



tenir efectes en la mateixa zona. L'efecte paracrí pot estar produït per neurones o cèl·lules glials que donen suport tròfic a cèl·lules pròximes (revisió dels mecanismes d'acció per Korsching, 1993).

Els factors neurotròfics també poden potenciar els seus efectes donant una resposta sinèrgica. Amb l'aïllament de nous factors tròfics amb efectes sobre el sistema nerviós, s'ha trobat que diferents factors tròfics poden tenir efectes solapats. Especialment al sistema nerviós central, una neurona pot rebre suport tròfic de diferents neurones mitjançant diferents factors.

LES NEUROTROFINES COM A AGENTS TERAPÈUTICS A LES MALALTIES NEURODEGENERATIVES

Les malalties neurodegeneratives, com la malaltia d'Alzheimer, la malaltia de Parkinson, la corea de Huntington o l'esclerosi lateral amiotròfica, es caracteritzen per la mort selectiva de poblacions neuronals concretes. Fins ara només hi ha alguns tractaments simptomàtics, com la L-dopa en la malaltia de Parkinson, que no eviten la degeneració neuronal. L'aparició dels factors neurotròfics, com les neurotrofines, que regulen la supervivència i la diferenciació de les poblacions neuronals afectades en aquestes malalties, ha despertat una gran expectació en el camp de la neurologia, com a possibles tractaments etiològics de les malalties neurodegeneratives (Eide *et al.*, 1993; Hefti, 1994).

Els darrers anys s'ha estudiat intensament l'efecte neuroprotector de les neurotrofines en diferents models experimentals de malalties neurodegeneratives. El primer repte va ser trobar models que reproduïssin les alteracions neuroquímiques que es desenvolupen en aquestes malalties. Això només s'ha aconseguit parcialment, però la

informació obtinguda és necessària per dissenyar les possibles aplicacions terapèutiques. En la present revisió ens centrarem en les possibles teràpies tròfiques d'algunes malalties neurodegeneratives, com són la malaltia d'Alzheimer, la malaltia de Parkinson i la corea de Huntington.

Malaltia d'Alzheimer

En la malaltia d'Alzheimer s'ha observat una pronunciada degeneració de les neurones colinèrgiques de la base del cervell anterior (septe, banda de Broca i nucli basal de Meynert). La pèrdua d'aquestes neurones està relacionada amb la pèrdua progressiva de memòria, juntament amb altres trastorns cognitius (Wilcock, 1982). Estudis realitzats *in vitro* i *in vivo* han demostrat que totes les neurotrofines tenen efecte sobre aquestes neurones colinèrgiques, encara que l'NGF és el més eficaç. La lesió de la fimbria-fòrnix, un dels models experimentals de malaltia d'Alzheimer, produeix la degeneració de les neurones de la via septohipocampal, incloent-hi les neurones colinèrgiques. Aquestes cèl·lules poden ser protegides de la lesió si s'injecta NGF (Hefti, 1986). Estudis realitzats en el nostre laboratori utilitzant altres models experimentals de malaltia d'Alzheimer, com són els tractaments crònics amb anticolinèrgics (Alberch *et al.*, 1991a) o l'envelliment (Alberch *et al.*, 1991b), van demostrar que hi havia variacions en els receptors per a l'NGF, sense canvis en els nivells de NGF, només un augment en el septe, que indicava que els canvis en els receptors per a l'NGF a l'hipocamp, que afectarien el transport retrògrad, podrien estar implicats en la fisiopatologia de la malaltia d'Alzheimer. Canvis similars van ser observats en treballs realitzats en cervells de malalts d'Alzheimer procedents d'autòpsies (Scott *et al.*, 1995). En canvi altres estudis varen descriure uns ni-

vells normals de NGF i de p75 (Goedert *et al.*, 1986; Hefti i Mash, 1989). El receptor trk no es va estudiar en detall. S'han realitzat alguns assaigs clínics que han trobat millores en la irrigació sanguínia cerebral i en el metabolisme de la glucosa després de l'administració intraventricular de NGF, però no s'han observat millores de les funcions cognitives (Nordberg, 1996). En aquests estudis també s'han descrit efectes secundaris, com són dolor i pèrdua de pes.

La malaltia d'Alzheimer és una alteració bastant difusa i algunes poblacions que no responen a l'NGF també estan afectades, fet que indicaria que altres factors tròfics, a més de l'NGF, també hi estarien implicats. S'han descrit nivells baixos de l'ARN per al BDNF en malalts d'Alzheimer (Phillips *et al.*, 1991). Hi ha diferents poblacions neuronals que estan també afectades a la malaltia d'Alzheimer, com són les neurones peptidèrgiques de l'escorça cerebral, les neurones serotoninèrgiques del rafe i les neurones noradrenèrgiques del locus ceruli. El BDNF, la NT-3 i la NT-4/5 presenten efectes tròfics sobre aquestes poblacions neuronals (Arenas i Persson, 1994).

Malaltia de Parkinson

La principal via afectada a la malaltia de Parkinson és la via dopaminèrgica nigroestriatal. Malgrat que l'NGF no té efecte sobre aquestes neurones, la resta de neurotrofines (BDNF, NT-3 i NT-4/5) sí que presenten accions tròfiques sobre les neurones dopaminèrgiques de la substància negra (Altar *et al.*, 1994b; Hyman *et al.*, 1991, 1994). La neurotrofina que inicialment va despertar més interès va ser el BDNF, ja que era capaç de protegir les neurones dopaminèrgiques en models experimentals de malaltia de Parkinson, utilitzant MPTP o 6-hidroxidopamina (Lindsay *et al.*, 1993).

Posteriorment, també s'han observat efectes similars de la NT-3 i de la NT-4/5. Això indicaria que podria existir una cooperació entre les diferents neurotrofines en actuar sobre el seus receptors per aconseguir els efectes neuroprotectors. També és interessant considerar que a la malaltia de Parkinson no només hi ha una lesió de la via nigroestriatal, sinó que altres poblacions neuronals també estan afectades, com són les neurones noradrenèrgiques del locus ceruli. S'ha demostrat que l'administració local de NT-3 pot evitar la mort de neurones noradrenèrgiques induïda per 6-hidroxidopamina (Arenas i Persson, 1994).

Per obtenir futurs tractaments és realment important considerar els efectes sinèrgics entre els diferents factors tròfics. Actualment s'està considerant amb molta força un altre factor tròfic de la família dels TGF- β que es va descriure recentment, el factor neurotròfic derivat de les línies cel·lulars glials (GDNF) (Lin *et al.*, 1993). Aquest factor presenta un efecte important sobre la supervivència i la diferenciació de les neurones dopaminèrgiques de la substància negra (Lin *et al.*, 1993), però també sobre altres poblacions neuronals afectades en alguns síndromes parkinsonians (Arenas *et al.*, 1995; Mount *et al.*, 1995; Pérez-Navarro *et al.*, 1996). Tractaments basats en l'administració a dosis baixes de GDNF juntament amb les neurotrofines poden ser uns bons candidats per iniciar assaigs clínics en malalts parkinsonians, que evitin els efectes secundaris que es produeixen en administrar dosis altes.

Corea de Huntington

En la corea de Huntington es produeix un patró característic de degeneració neuronal al nucli estriat. En les fases inicials de la malaltia, les neurones més afectades són les

que contenen GABA/encefalina que envien projeccions al globus pàl·lid i les GABA/substància P, que envien projeccions a la substància negra. Entre les neurones intrínseques hi ha poblacions que s'afecten en estadis més avançats, com les neurones colinèrgiques, i d'altres que són resistents a la lesió, com les neurones que contenen somatostatina o neuropeptid Y.

El model experimental més utilitzat per estudiar la corea de Huntington és la injecció estereotàctica intraestriatal d'aminoàcids excitadors. Els aminoàcids excitadors estimulen diferents receptors i donen diferents patrons de lesió (Pérez-Navarro i Alberch, 1995). L'àcid quinolínic és un aminoàcid excitador que estimula el receptor NMDA i produeix unes alteracions neuroquímiques molt semblants a les que s'observen en la malaltia de Huntington (DiFiglia, 1990).

Les neurotrofines tenen efectes tròfics sobre algunes poblacions neuronals del nucli estriat. L'NGF té efecte sobre les neurones colinèrgiques que expressen el receptor *trkA* (Holtzham *et al.*, 1992). La injecció intraestriatal de NGF exogen evita la mort de les neurones colinèrgiques induïda per l'àcid quinolínic (Pérez-Navarro *et al.*, 1994). La injecció d'àcid quinolínic produeix un augment dels nivells de NGF endogen tant a l'adult com durant el desenvolupament (Pérez-Navarro i Alberch, 1995; Pérez-Navarro *et al.*, 1994), que suggereix una resposta de les cèl·lules estriatals davant de l'agressió. L'efecte neuroprotector de l'NGF podria donar-se mitjançant un mecanisme d'acció autocrí o paracrí, pel fet que aquestes neurones són intrínseques. L'origen de l'NGF és encara desconegut, però hi podria haver una participació important de les cèl·lules glials en la regulació de l'efecte neuroprotector davant de la lesió.

Les altres neurotrofines també tenen efectes tròfics sobre diferents poblacions neuronals, especialment el BDNF. Estudis realit-

zats en cultius primaris de neurones estriatals indiquen que el BDNF és la neurotrofina més eficaç que dona suport tròfic a les neurones GABAèrgiques (Ventimiglia *et al.*, 1995). En treballs *in vivo* realitzats als nostres laboratoris hem observat que el BDNF presenta l'efecte neuroprotector més important sobre diferents poblacions estriatals, especialment sobre les de projecció (GABA/encefalines) després de la lesió amb àcid quinolínic (Pérez-Navarro, Alberch, Neveu i Arenas, en preparació). Com que aquestes neurones són les que estan més afectades a la malaltia de Huntington, aquests resultats proposen el BDNF com a candidat per al disseny de tractaments d'aquesta malaltia extrapiramidal.

Desenvolupament d'estratègies terapèutiques

Un dels problemes principals de la utilització dels factors neurotròfics com a agents terapèutics és la via d'administració. En alguns assaigs clínics s'ha utilitzat l'administració per via sistèmica. Això ha fet que s'hagin d'utilitzar dosis molt elevades que provoquen efectes secundaris. Una alternativa que s'està desenvolupant és la utilització de trasplantaments de cèl·lules modificades genèticament per aconseguir l'alliberament del factor neurotròfic desitjat. Aquestes tècniques, encara que lluny de poder ser utilitzades com a eines terapèutiques, són de gran utilitat per estudiar la funció i la regulació dels factors neurotròfics en el sistema nerviós central.

Recentment, avenços en el camp de la biologia molecular, com són el desenvolupament de precursors immortalitzats i de promotors quimèrics regulables per fàrmacs (com la tetraciclina), estan començant a fer possible l'abordatge d'una possible teràpia gènica per a les malalties neurodegeneratives

basada en els factors neurotròfics. Així tenim que precursors neuronals que es diferencien en les cèl·lules pròpies de la zona on són implantats poden ser utilitzats per generar noves neurones i cèl·lules glials que participin en els processos reparadors, per expressar factors neurotròfics i per prevenir la mort de les poblacions neuronals que estan afectades en aquestes malalties. Aquesta doble estratègia, l'administració de noves neurones i factors tròfics, podria permetre el desenvolupament d'una nova teràpia per a les malalties neurodegeneratives.

AGRAÏMENTS

Els autors agraeixen a la Dra. Esther Pérez-Navarro i a la Dra. Julia Reiriz la seva col·laboració en els estudis realitzats i els seus comentaris en l'elaboració d'aquesta revisió. Els treballs dels autors citats en el text han estat subvencionats per la DGICYT (Ministeri d'Educació i Ciència), la Swedish Medical Research Council (MFR), BIOMED2 i European Research Grant.

BIBLIOGRAFIA

- ALBERCH, J.; M. CARMAN-KRZAN; M. FABRAZZO; B. C. WISE (1991a). «Chronic treatment with scopolamine and physostigmine changes nerve growth factor (NGF) receptor density and NGF content in rat brain». *Brain Res.*, núm. 542, pàg. 233-240.
- ALBERCH, J.; E. PÉREZ-NAVARRO; E. ARENAS; J. MARSAL (1991b). «Involvement of nerve growth factor and its receptor in the regulation of the cholinergic function in aged rats». *J. Neurochem.*, núm. 57, pàg. 1483-1487.
- ALDERSON, R. F.; A. L. ALTERMAN; Y.-A. BARDE; R. M. LINDSAY (1990). «Brain-derived neurotrophic factor increases survival and differentiated functions of rat septal cholinergic neurons in culture». *Neuron*, núm. 5, pàg. 297-306.
- ALTAR, C. A.; C. B. BOYLAN; M. FRITSCH; C. JACKSON; R. M. LINDSAY; C. HYMAN (1994). «Efficacy of BDNF and NT-3 on neurochemical and behavioral deficits associated with partial nigrostriatal dopamine lesions». *J. Neurochem.*, núm. 63, pàg. 1021-1032.
- ARENAS, E.; H. PERSSON (1994). «Neurotrophin-3 prevents the death of adult central noradrenergic neurons *in vivo*». *Nature*, núm. 367, pàg. 368-371.
- ARENAS, E.; M. TRUPP; P. AKERUD; C. F. IBÁÑEZ (1995). «GDNF prevents the degeneration and promotes the phenotype of brain noradrenergic neurons *in vivo*». *Neuron*, núm. 15, pàg. 1465-1473.
- BARBACID, M. (1994). «The trk family of neurotrophin receptor». *J. Neurobiol.*, núm. 25, pàg. 1386-1403.
- BARDE, Y.-A.; D. EDGAR; H. THOENEN (1982). «Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain». *EMBO J.*, núm. 1, pàg. 549-553.
- CHAO, M. V.; B. L. HEMPSTEAD (1995). «p75^{anf} Trk: a two-receptor system». *Trends Neurosci.*, núm. 18, pàg. 321-326.
- COHEN, S. (1960). «Purification of a nerve-growth factor promoting protein from the mouse salivary gland and its neurocytotoxic antiserum». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 46, pàg. 302-311.
- COWEN, W. M.; J. W. FAWCETT; D. D. M. O'LEARY; B. B. STANFIELD (1984). «Regressive events in neurogenesis». *Science*, núm. 225, pàg. 1258-1265.
- DIFIGLIA, M. (1990). «Excitotoxic injury of the neostriatum: a model for Huntington's disease». *Trends Neurosci.*, núm. 42, pàg. 286-289.
- DOBROWSKY, R. T.; M. H. WEREN; A. M. CASTELLINO; M. V. CHAO; Y. A. HANNUM (1994). «Activation of the sphingomyelin cycle through the low-affinity neurotrophin receptor». *Science*, núm. 265, pàg. 1596-1599.
- EIDE, F. F.; D. H. LOWENSTEIN; L. F. REICHARDT (1993). «Neurotrophins and their receptors-current concepts and implications for neurologic disease». *Exp. Neurol.*, núm. 121, pàg. 200-214.
- FRIEDMAN, W. J.; C. F. IBÁÑEZ; F. HALLBÖÖK; H. PERSSON; L. D. CAIN; C. F. DREYFUS; I. B. BLACK (1993). «Differential actions of neurotrophins in the locus coeruleus and basal forebrain». *Exp. Neurol.*, núm. 119, pàg. 72-78.
- GOEDERT, M.; A. FINE; S. P. HUNT; A. ULLRICH (1986). «Nerve growth factor mRNA in peripheral and central rat tissues and in the human central nervous system: lesion effects in the rat brain and levels in Alzheimer's disease». *Mol. Brain Res.*, núm. 1, pàg. 85-92.
- GÖTZ, R.; R. KÖSTER; C. WINKLER; R. RAULE; F. LOTTSPFICH; [ET AL.] (1994). «Neurotrophin-6 is a new member of the nerve growth factor family». *Nature*, núm. 372, pàg. 266-269.
- HAMBURGER, V. (1934). «The effects of wing bud extirpation on the development of the central nervous system in chick embryos». *J. Exp. Zool.*, núm. 68, pàg. 449-494.
- HALLBÖÖK, F.; C. F. IBÁÑEZ; H. PERSSON (1991). «Evolu-

- tionary studies of the nerve growth factor family reveal a novel member abundantly expressed in *Xenopus* ovary». *Neuron*, núm. 6, pàg. 845-858.
- HEFTI, F. (1986). «Nerve growth factor promotes survival of septal cholinergic neurons after fimbria transections». *J. Neurosci.*, núm. 6, pàg. 2155-2162.
- HEFTI, F. (1994). «Neurotrophic factor therapy for nervous system degenerative diseases». *J. Neurobiol.*, núm. 25, pàg. 1418-1435.
- HEFTI, F.; D. C. MASH (1989). «Localization of nerve growth factor receptors in the normal human brain and in Alzheimer's disease». *Neurobiol. Aging.*, núm. 10, pàg. 75-87.
- HOHN, A.; J. LEIBROCK; K. BAILEY; Y.-A. BRADE (1990). «Identification and characterization of a novel member of the nerve growth factor/brain-derived neurotrophic factor family». *Nature*, núm. 344, pàg. 339-341.
- HOLTZMAN, D. M.; M. Y. LI; L. F. PARADA; S. KINSMAN; C.-K. CHEN; J. S. VALLETA; J. ZHOU; J. B. LONG; W. C. MOBLEY (1992). «p140trk mRNA marks NGF-responsive forebrain neurons: Evidence that trk gene expression is induced by NGF». *Neuron*, núm. 9, pàg. 465-478.
- HYMAN, C.; M. HOFER; Y.-A. BRADE; M. JUHASZ; G. D. D. YANCOPOULOS; D. P. SQUINTO; R. M. LINDSAY (1991). «BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantia nigra». *Nature*, núm. 350, pàg. 230-232.
- HYMAN, C.; M. JUHASZ; C. JACKSON; P. WRIGHT; N. Y. IP; R. M. LINDSAY (1994). «Overlapping and distinct actions of the neurotrophins BDNF, NT-3 and NT-4/5 on cultured dopaminergic and GABAergic neurons of the ventral mesencephalon». *J. Neurosci.*, núm. 14, pàg. 335-347.
- IBÁÑEZ, C.; T. EBENDAL; G. BARBANY; R. J. MURRAY; T. L. BLUNDELL; H. PERSSON (1992). «Disruption of the low affinity receptor-binding site in NGF allows neuronal survival and differentiation by binding to the trk gene product». *Cell*, núm. 69, pàg. 329-341.
- ITOH, K.; R. BRACKENBURY; R. AKENSON (1995). «Induction of L1 mRNA in PC12 cells by NGF is modulated by cell-cell contact and does not require the high affinity NGF receptor». *J. Neurosci.*, núm. 15, pàg. 2504-2512.
- JOHNSON, E. M.; K. M. RICH; H. K. YIP (1986). «The role of NGF in sensory neurons *in vivo*». *Trends Neurosci.*, núm. 9, pàg. 33-37.
- KNUSEL, B.; S. RABIN; F. HEFTI; D. KAPLAN (1994). «Regulated neurotrophin receptor responsiveness during neuronal migration and early differentiation». *J. Neurosci.*, núm. 14, pàg. 1542-1554.
- KORSHING, S. (1993). «The neurotrophic factor concept: A reexamination». *J. Neurosci.*, núm. 13, pàg. 2739-2748.
- LEIBROCK, J.; F. LOTTSPIECH; A. HOHN; M. HOFER; B. HENGERER; P. MASIAKOWSKI; H. THOENEN; Y.-A. BARDE (1989). «Molecular cloning and expression of brain-derived neurotrophic factor». *Nature*, núm. 341, pàg. 149-152.
- LEVI-MONTALCINI, R.; V. HAMBURGER (1951). «Selective growth-stimulation effects of mouse sarcoma in the sensory and sympathetic nervous systems of the chick embryo». *J. Exp. Zool.*, núm. 116, pàg. 321-362.
- LEWIN, G. R.; Y.-A. BARDE (1996). «Physiology of the neurotrophins». *Annu. Rev. Neurosci.*, núm. 19, pàg. 289-317.
- LIN, L.-F.; D. H. DOHERTY; J. D. LILE; S. BEKTESH; F. COLLINS (1993). «GDNF: A glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons». *Science*, núm. 260, pàg. 1130-1132.
- LINDSAY, R. M.; R. F. ALDERSON; B. FRIEDMAN; C. HYMAN; N. Y. IP; M. E. FURCH; P. C. MAISONPIERRE; S. P. SQUINTO; G. D. YANCOPOULOS (1991). «The neurotrophin family of NGF-related neurotrophic factors». *Restorative Neurol. Neurosci.*, núm. 2, pàg. 211-220.
- LINDSAY, R. M.; C. A. ALTAR; J. M. CEDARBAUM; C. HYMAN; S. J. WIEGAND (1993). «The therapeutic potential of neurotrophic factors in the treatment of Parkinson's disease». *Exp. Neurol.*, núm. 124, pàg. 103-118.
- MEAKIN, S. O.; E. M. SHOOTER (1992). «The nerve growth factor family of receptors». *Trends Neurosci.*, núm. 15, pàg. 323-331.
- MOUNT, H. T. J.; D. O. DEAN; J. ALBERCH; C. F. DREYFUS; I. B. BLACK (1995). «Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) promotes the survival and morphological differentiation of Purkinje cells». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 92, pàg. 9092-9096.
- NORDBERG, A. (1996). «Functional studies of new drugs for the treatment of Alzheimer's disease». *Acta Neurol. Scand. (suppl.)*, núm. 165, pàg. 137-144.
- OPPENHEIM, R.W. (1981). «The neurotrophic theory. Studies of developmental neurobiology: Assays in honor to Victor Hamburger». A: Cowan, WM. Cambridge: Oxford Univ. Press. pàg. 74-133.
- PÉREZ-NAVARRO, E.; J. ALBERCH (1995). «Protective role of nerve growth factor against excitatory amino acid injury during neostriatal cholinergic neurons postnatal development». *Exp. Neurol.*, núm. 135, pàg. 146-152.
- PÉREZ-NAVARRO, E.; J. ALBERCH; E. ARENAS; N. CALVO; J. MARSAL (1994). «Nerve growth factor and basic fibroblast growth factor protect cholinergic neurons against quinolinic acid excitotoxicity in rat neostriatum». *Eur. J. Neurosci.*, núm. 6, pàg. 706-711.
- PÉREZ-NAVARRO, E.; E. ARENAS; J. REIRIZ; N. CALVO; J. ALBERCH. (1996). «Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) protects striatal calbindin immunoreactive neurons from excitotoxic damage». *Neuroscience*, núm. 75, pàg. 345-352.

- PHILLIPS, H. S.; J. M. HAINS; M. ARMANINI; G. R. LARAMEE; S. A. JOHNSON; J. W. WINSLOW (1991). «BDNF mRNA is decreased in the hippocampus of individuals with Alzheimer's disease». *Neuron*, núm. 7, pàg. 695-702.
- RADEKE, M. J.; T. P. MYSKO; C. HSU; L. A. HERZENBERG; E. M. SHOOTER (1987). «Gene transfer and molecular cloning of the rat nerve growth factor receptor». *Nature*, núm. 325, pàg. 593-597.
- RAMÓN Y CAJAL, S. (1928). «Degeneration and Regeneration of the Nervous System». A: May, R. M. Oxford: Oxford University Press. Vol. 1.
- RODRÍGUEZ-TEBAR, A.; G. DECHANT; Y.-A. BARDE (1990). «Binding of brain-derived neurotrophic factor to the nerve growth factor receptor». *Neuron*, núm. 4, pàg. 487-492.
- RODRÍGUEZ-TEBAR, A.; G. DECHANT; R. GÖTZ; Y.-A. BARDE (1992). «Binding of neurotrophin-3 to its neuronal receptors and interactions with nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor». *EMBO J.*, núm. 11, pàg. 917-922.
- SCOTT, S. A.; E. J. MUFSON; J. A. WEINGARTNER; K. A. SKAU; K. A. CRUTCHER (1995). «Nerve growth factor in Alzheimer's disease: Increased levels throughout the brain coupled with declines in nucleus basalis». *J. Neurosci.*, núm. 15, pàg. 6213-6221.
- SEGAL, R. A.; M. E. GREENBERG (1996). «Intracellular signaling pathways activated by neurotrophic factors». *Annu. Rev. Neurosci.*, núm. 19, pàg. 463-489.
- THOENEN, H.; Y.-A. BARDE (1980). «Physiology of nerve growth factor». *Physiol. Rev.*, núm. 60, pàg. 1284-1335.
- VENTIMIGLIA, R.; P. E. MATHER; B. E. JONES; R. M. LINDSAY (1995). «The neurotrophins BDNF, NT-3 and NT4/5 promote survival and morphological and biochemical differentiation of striatal neurons *in vitro*». *Eur. J. Neurosci.*, núm. 7, pàg. 213-222.
- WILCOCK, G. K.; M. M. ESIRI; D. M. BOWEN; C. C. T. SMITH (1982). «Alzheimer's disease: Correlation of cortical choline acetyltransferase activity with the severity of dementia and histological abnormalities». *J. Neurol. Sci.*, núm. 57, pàg. 407-417.