

ARTÍCULO ESPECIAL

MEDICINA (Buenos Aires) 2014; 74: 321-325

**REGENERACIÓN AXONAL POSTERIOR A LESIONES TRAUMÁTICAS DE MÉDULA ESPINAL.
PAPEL CRÍTICO DE GALECTINA-1*****HÉCTOR R. QUINTÁ¹, JUANA M. PASQUINI^{1#}, GABRIEL A. RABINOVICH^{2#}, LAURA A. PASQUINI^{1#}**

¹Instituto de Química y Físico Química Biológica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, ²Laboratorio de Inmunopatología, IBYME-CONICET, Buenos Aires, Argentina, #Contribuyeron en forma equivalente a este trabajo.
*Premio León Cherny, Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica, Mar del Plata, noviembre 2013

Resumen Al producirse una lesión de médula espinal (LME), un sinnúmero de proteínas inhibitoras de la regeneración axonal ocupan el sitio de lesión en forma secuencial. La primera proteína en llegar al mismo se conoce como semaforina 3A (Sema3A), siendo además una de las más potentes por su acción de inhibir la regeneración axonal. A nivel mecanístico la unión de esta proteína al complejo-receptor neuronal neuropilina-1 (NRP-1)/PlexinA4 evita que se produzca regeneración axonal. En este trabajo de revisión se discutirá la acción de galectina-1 (Gal-1), una proteína endógena de unión a glicanos, que selectivamente se une al complejo-receptor NRP-1/PlexinA4 de las neuronas lesionadas a través de un mecanismo dependiente de interacciones lectina-glicano, interrumpiendo la señalización generada por Sema3A y permitiendo de esta manera la regeneración axonal y recuperación locomotora luego de producirse la LME. Mientras ambas formas de Gal-1 (monomérica y dimérica) contribuyen a la inactivación de la microglia, solo la forma dimérica de Gal-1 es capaz de unirse al complejo-receptor NRP-1/PlexinA4 y promover regeneración axonal. Por lo tanto, Gal-1 dimérica produce recuperación de las lesiones espinales interfiriendo en la señalización de Sema3A a través de la unión al complejo-receptor NRP-1/PlexinA4, sugiriendo el uso de esta lectina en su forma dimérica para el tratamiento de pacientes con LME.

Palabras clave: galectina-1, semaforina 3A, neuropilina-1, lesión de médula espinal

Abstract *Axonal regeneration in spinal cord injury: a key role of galectin-1.* When spinal cord injury (SCI) occurs, a great number of inhibitors of axonal regeneration consecutively invade the injured site. The first protein to reach the lesion is known as semaphorin 3A (Sema3A), which serves as a powerful inhibitor of axonal regeneration. Mechanistically binding of Sema3A to the neuronal receptor complex neuropilin-1 (NRP-1) / PlexinA4 prevents axonal regeneration. In this special article we review the effects of galectin-1 (Gal-1), an endogenous glycan-binding protein, abundantly present at inflammation and injury sites. Notably, Gal1 adheres selectively to the NRP-1/PlexinA4 receptor complex in injured neurons through glycan-dependent mechanisms, interrupts the Sema3A pathway and contributes to axonal regeneration and locomotor recovery after SCI. While both the monomeric and dimeric forms of Gal-1 contribute to 'switch-off' classically-activated microglia, only dimeric Gal-1 binds to the NRP-1/PlexinA4 receptor complex and promotes axonal regeneration. Thus, dimeric Gal-1 promotes functional recovery of spinal lesions by interfering with inhibitory signals triggered by Sema3A adhering to the NRP-1/PlexinA4 complex, supporting the use of dimeric Gal-1 for the treatment of SCI patients.

Key words: galectin-1, semaphorin 3A, neuropilin-1, spinal cord injury

Los traumatismos de la médula espinal son lesiones que producen alteraciones temporarias o permanentes sobre las funciones motoras, sensitivas y autonómicas. Dependiendo del grado de lesión, el paciente puede terminar incapacitado. Solo en los EE.UU. ocurren entre 10 000 y 20 000 lesiones traumáticas de médula espinal (LTME) por año, 38% de las cuales ocurren durante accidentes automovilísticos. Al día de hoy, si bien se han

realizado avances extraordinarios no hay una cura para esta patología traumática (Fuente: *National Spinal Cord Injury Statistical Center*, <https://www.nscisc.uab.edu/>) por lo que representa un gran desafío para la biomedicina.

El proceso patológico de este tipo de lesiones involucra la acción secuencial de múltiples factores que contribuyen a inhibir la regeneración axonal. En este sentido, una intervención temprana que limite dicho proceso sería indispensable para permitir la restauración y neo-formación de circuitos neuronales que restablezcan las funciones motoras perdidas.

El principal inhibidor de la regeneración axonal es la semaforina 3A (Sema3A), una proteína soluble miembro de la superfamilia de las semaforinas. Durante el desarrollo

Recibido: 23-IV-2014

Aceptado: 28-V-2014

Dirección postal: Dr. Héctor R. Quintá, Instituto de Química y Físico Química, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Junín 954, 1113 Buenos Aires, Argentina

e-mail: quintaramiro@hotmail.com

del sistema nervioso, esta proteína direcciona el crecimiento axonal a través de su unión al complejo receptor neuronal: neuropilina-1 (NRP-1)/plexina A4 (PlexinA4), produciendo un efecto inhibitorio para el crecimiento axonal^{1,2} al gatillar señales que actúan directamente sobre la dinámica de los microtúbulos y microfilamentos del citoesqueleto^{3,4}. Una vez establecida la correcta formación de los circuitos axonales, la expresión de Sema3A disminuye hasta niveles indetectables en la médula espinal adulta sana⁵. Al producirse una LTME, la concomitante ruptura de las meninges permite la migración de los fibroblastos meningeales, los cuales además de expresar y secretar la Sema3A, ingresan al sitio de lesión conformando la cicatriz glial⁶. Asimismo, tanto los tractos axonales descendentes axotomizados como las neuronas en el sitio de lesión aumentan la expresión del complejo receptor NRP-1/PlexinA4 aumentando la avidéz por Sema3A y produciendo el colapso del cono de crecimiento axonal⁷. Por lo tanto, la interrupción de la señalización mediada por Sema3A constituye un potencial blanco terapéutico.

La galectina-1 (Gal-1), miembro altamente conservado de la familia de las galectinas, une múltiples unidades del disacárido [(Gal.1-4)GlcNAc] localizadas en *N*- y *O*-glicanos de receptores celulares. Esta lectina existe en un equilibrio monómero-dímero dependiente de su concentración⁸. A nivel del sistema nervioso central (SNC), la Gal-1 participa en la proliferación de progenitores neurales en el cerebro adulto⁹, en la regulación de la neurogénesis¹⁰ y en forma indirecta en la regeneración neuronal¹¹. Además, se demostró recientemente que la Gal-1 previene la neurodegeneración por inactivación de la microglía tipo-1 (M1) en un modelo de neuroinflamación autoinmune¹². De manera interesante, en modelos no neuronales se observó que Gal-1 interacciona con NRP-1 modulando la migración de células endoteliales¹³. Llamativamente, este efecto se asemeja a la migración o 'guidance' axonal.

Así, nuestra hipótesis de trabajo fue que el tratamiento con Gal-1 recombinante administrada *in situ* al momento de una LTME en concentraciones que desplazan el equilibrio hacia la forma dimérica, podría evitar la unión de Sema3A al complejo receptor NRP-1/PlexinA4 por unión directa de Gal-1 a dicho complejo a través de una interacción proteína-glicano evitando así la inhibición de la regeneración axonal¹⁴. En primera instancia llevamos a cabo un estudio *in vivo* para evaluar la capacidad de las distintas conformaciones moleculares de Gal-1 para producir una recuperación locomotora post-LTME. Se procedió a generar una lesión de médula espinal completa a nivel torácico T9-T10 en ratones C57BL/6 *Lgals1*^{-/-} así como en ratones *wild-type* (WT) administrándoles distintas concentraciones de Gal-1 recombinante (D-Gal-1) (0.5-1.0 mg/ml), una Gal-1 mutante que es monomérica en forma estable (M-Gal-1) y una Gal-1 dimérica con una mutación puntual en el sitio de reconocimiento a carbohidratos (Gal-1-N46-D). Al grupo control se le administró vehículo. Los

tratamientos se inyectaron en un volumen de 10 ml, en el epicentro del sitio de lesión, y en ángulos de 45° con orientación craneal y caudal. Utilizando el test Locomotor de Campo Abierto, se analizaron distintos parámetros de motricidad, luego volcados a la escala de *Basso Beattie Bresnahan* (BBB)¹⁵ cuyo rango oscila entre 0 y 21, dividiéndose en tres estadios de recuperación:

- Estadios tempranos (*score* de 0-7): movimientos aislados del tren inferior o ausencias de los mismos.

- Estadios intermedios (*score* de 8-13): intervalos no coordinados de movimientos del tren inferior.

- Estadios avanzados (*score* de 14-21): coordinación motora entre el tren superior e inferior.

Los análisis finalizaron a los 7 días posteriores a la LTME para evitar cualquier sobre-estimación locomotora del tren inferior asociada a una posible recuperación espontánea de los reflejos espinales.

Se pudo demostrar que tanto los ratones *Lgals1*^{-/-} como los WT tratados con 0.5 µg/µl y 1 µg/µl de D-Gal-1 consiguieron recuperar su motricidad respecto de los controles. Por otro lado, solo los ratones tratados con 1 µg/µl de D-Gal-1 alcanzaron los niveles de recuperación coincidentes con coordinación motora (Fig. 1b-c).

En línea con estos resultados, los ratones WT control presentaron algún movimiento aislado del tren inferior, los que se corresponden con estadios tempranos de recuperación locomotora; lo interesante fue que el mismo fue superior al observado en los *Lgals1*^{-/-} control. Por el contrario, en el tratamiento con 0.5 µg/µl de D-Gal-1, los ratones *Lgals1*^{-/-} respondieron de mejor manera que los WT. Finalmente, con 1 µg/µl de D-Gal-1, no se observaron diferencias significativas entre ratones WT y *Lgals1*^{-/-}. Estos resultados fueron los primeros indicios que indicaron que Gal-1 endógena estaría desplazada hacia la conformación monomérica, ya que solo a altas concentraciones de la proteína exógena (equilibrio desplazado hacia la forma dimérica) se consiguió una recuperación motora coordinada.

En línea con estos experimentos y a los fines de entender las bases celulares de la regeneración axonal, se realizó una retransección de la médula espinal en los animales que habían recuperado la motricidad coordinada para descartar que dicho fenómeno se debiera a una compensación por funciones autónomas río abajo del sitio de lesión. La cirugía fue realizada en el mismo sitio anatómico 8 días post-LTME, analizándose la actividad locomotora 4 y 15 días posteriores a la segunda lesión. Los animales retransectados perdieron la actividad locomotora que habían recuperado, el *score* BBB disminuyó a cero y permaneció en ese valor por más de 2 semanas. Este hallazgo sugirió que los ratones tratados con D-Gal-1 recuperaron la actividad locomotora debido a que se produjo una regeneración axonal local.

Asimismo, el análisis macroscópico de las médulas espinales de los ratones lesionados mostró que el tamaño de la cicatriz glial disminuyó en los ratones que fueron

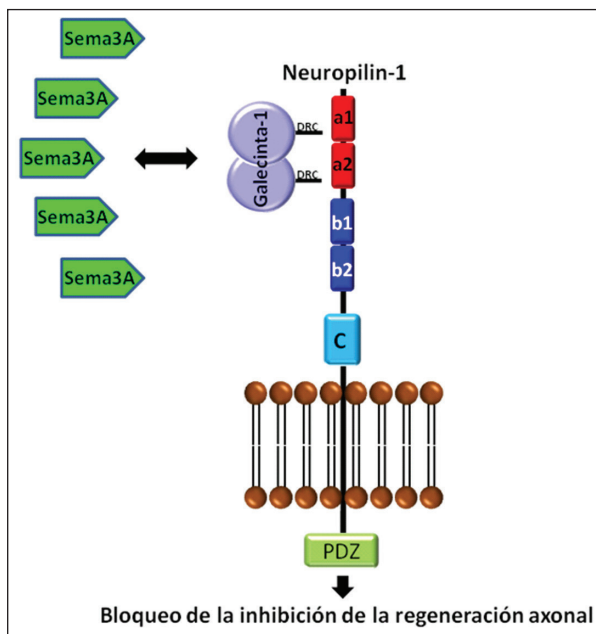


Fig. 1.— Representación esquemática del modelo mecánico propuesto de regeneración axonal por Gal-1. NRP-1 es una proteína que tiene un dominio N-terminal extracelular de 835 amino ácidos, un dominio transmembrana de 23 amino ácidos y un dominio citoplasmático de 44 amino ácidos. La región extracelular está dividida en 3 dominios formados por a1/a2, b1/b2 y C. La porción citoplasmática tiene un dominio PDZ el cual corresponde a la región de NRP-1 que tiene la propiedad de interactuar con proteínas citoplasmáticas. Por lo tanto el esquema muestra el bloqueo de la interacción entre Sema3A y el complejo receptor neuronal NRP-1 debido al tratamiento con D-Gal-1 desviada hacia la forma dimérica de la molécula, la cual a través de su dominio de reconocimiento a carbohidratos se une a NRP-1

tratados con D-Gal-1 respecto del grupo control. Además, en línea con lo observado en los experimentos de motricidad, se evidenció que si bien el tamaño de la cicatriz glial en los ratones *WT* control es considerable, fue menor al observado en los ratones *Lgals1^{-/-}* control. Se puede concluir que la adición exógena de D-Gal-1 produjo una disminución significativa en la respuesta inflamatoria y que además la Gal-1 endógena tuvo una acción protectora.

Dado que la formación de la cicatriz glial es dependiente de la respuesta inflamatoria post-lesión, gatillada por la microglía tipo-1 activada, macrófagos y astrocitos reactivos¹⁶⁻¹⁹, se investigó microscópicamente la localización y fenotipo de estos tipos celulares en las médulas lesionadas. La localización de microglía activada estuvo acotada exclusivamente al sitio de lesión en los ratones *Lgals1^{-/-}* tratados con D-Gal-1, mientras que el grupo control, además de presentar dicha señal en el sitio de lesión

también presentó un incremento en el número de células ED1⁺ río arriba del sitio de lesión. Asimismo, al analizar el fenotipo de los astrocitos que invadieron el sitio de lesión, los ratones control presentaron un fenotipo correspondiente a astrocitos reactivos, altamente arborizados respecto a los observados en los ratones tratados con D-Gal-1, cuyas arborizaciones y procesos fueron menores. En resumen, la menor respuesta inflamatoria generada por el tratamiento con D-Gal-1 estuvo asociada a una disminución de la microglía tipo-1 activada (en línea con lo ya demostrado por Starossom y col.¹¹) y la disminución de la barrera física formada por astrocitos, convirtiendo la zona lesionada en un ambiente más permisivo para que ocurra un fenómeno de regeneración axonal.

El grado de recuperación funcional luego de una LTME depende de la reorganización de nuevos circuitos, dado por la plasticidad sináptica y “*collateral sprouting*” de los tractos axonales lesionados^{20, 21}. Por lo tanto, el efecto del tratamiento con D-Gal-1 sobre la regeneración de los axones lesionados se evaluó utilizando el marcador neuronal β III-tubulina, los marcadores de regeneración axonal neurofilamento-M (NF-M) y Tau-1 (proteína estabilizadora de microtúbulos²²) y el marcador de “*sprouting*”. Al analizar la sustancia gris correspondiente a las médulas espinales de los ratones *Lgals1^{-/-}* controles no se encontró ningún axón regenerado en el epicentro de la lesión, en contraste a lo observado en los ratones tratados con D-Gal-1, los que presentaron un incremento dosis-dependiente en el número de axones regenerados NF-M⁺, un incremento en la expresión de Tau-1, así como en el área ocupada por axones en dicha zona. Además, en los ratones *WT* control no se observó ningún axón regenerado en el epicentro de la lesión, indicando que la Gal-1 endógena no participa en el fenómeno de regeneración axonal.

Resultó interesante que, al analizar el área ocupada por motoneuronas río arriba del sitio de lesión, solo los ratones tratados con D-Gal-1 presentaron motoneuronas con fenotipo normal ocupando la misma área que la observada en ratones Sham. En forma opuesta, los ratones *Lgals1^{-/-}* controles presentaron una disminución en el área ocupada por motoneuronas en la sustancia gris siendo su fenotipo consistente con degeneración neuronal. En concordancia con estos hallazgos, al analizar el área río abajo del sitio de lesión, las motoneuronas en la sustancia gris preservaron su fenotipo normal en ratones *Lgals1^{-/-}* tratados con D-Gal-1 respecto a los controles (en los que en la mayoría de los casos estas zonas estuvieron tan dañadas que ni siquiera se pudieron recuperar). Además, mantuvieron aproximadamente los mismos niveles de ocupación que los observados en los ratones Sham. Los ratones *WT* tratados con vehículo preservaron el número de motoneuronas respecto a los ratones *Lgals1^{-/-}* control, sugiriendo que Gal-1 endógena activaría circuitos homeostáticos que generan neuroprotección pero no regeneración axonal.

Nota: La Fig.1 se puede apreciar en color en www.medicinabuenaesaires.com

En cuanto a los tractos axonales regenerados que transitan por la sustancia blanca y atraviesan el sitio de lesión, el porcentaje de la sustancia blanca ocupada por axones β III-tub⁺ en los ratones *Lgals1*^{-/-} tratados con D-Gal-1 fue superior respecto de los animales control. Paralelamente, el mismo resultado se observó para axones regenerados, tal como lo reveló la inmunotinción con NF-M⁺.

Dado que el tratamiento con D-Gal-1 produjo una recuperación locomotora mediada por una regeneración axonal sitio-específica en la sustancia gris y de los tractos axonales descendentes en la sustancia blanca, y que además hubo preservación de motoneuronas río abajo de la lesión, se caracterizó la funcionalidad del circuito motor lumbar eferente, el cual controla los movimientos del tren inferior. La preservación de las motoneuronas lumbares y la funcionalidad de sus axones solo en los ratones *Lgals1*^{-/-} tratados con D-Gal-1 fue confirmada.

La explicación molecular del mecanismo por el cual D-Gal-1 produce regeneración axonal fue abordada realizando una serie de experimentos que permitieron demostrar que Gal-1 administrada exógenamente en conformación dimérica une al complejo receptor neuronal NRP-1/PlexinA4.

Sobre tejidos de médula espinal provenientes de ratones *Lgals1*^{-/-} tratados con D-Gal-1 o controles se analizó la localización de NRP-1, PlexinA4 y Sema3A, vinculándola con la localización de D-Gal-1. Se observó que en tejidos provenientes de ratones *Lgals1*^{-/-} control, los cuales no presentaron regeneración axonal ni recuperación de la actividad locomotora, las neuronas adyacentes al sitio de lesión presentaron axones seccionados con acumulación de NRP-1. Además, en el epicentro de la lesión se encontró que todas las neuronas con axones seccionados captaron Sema3A. En contraposición, los ratones *Lgals1*^{-/-} tratados con D-Gal-1, además de mostrar regeneración axonal y recuperación de la motricidad, presentaron una dispersión de NRP-1 en todo el soma celular y en el axón regenerado, a diferencia de lo observado en los controles, siendo el aspecto más importante que cada "cluster" de NRP-1 se localizó en la vecindad focal de otro de Gal-1; esta cercanía espacial fue evidenciada por una reconstrucción en 3D. Además, ninguna de estas neuronas regeneradas captó Sema3A. A su vez la cercanía entre Gal-1 y el complejo receptor fue corroborada utilizando PlexinA4.

Las interacciones moleculares fueron evaluadas por inmunoprecipitación de NRP-1. Solo tejidos correspondientes a ratones tratados con D-Gal-1 revelaron un co-inmunoprecipitado compuesto por NRP-1 y Gal-1. Estos complejos presentaron disminución en la captación de la Sema3A respecto a ratones controles. En este contexto, cabe preguntarse cuán necesaria es la forma dimérica de Gal-1 para el efecto neuroregenerador. Para responder a este interrogante se procedió a llevar cabo la misma batería de experimentos descripta (experimentos *in vivo*, macroscópicos, microscópicos y bioquímicos) utilizando una variante de Gal-1 estable monomérica que no dime-riza aun en altas concentraciones (M-Gal-1).

A nivel locomotor, el valor alcanzado luego de tratar los ratones *Lgals1*^{-/-} con M-Gal-1 fue similar al obtenido para los ratones *WT* control, sugiriendo que el equilibrio de Gal-1 endógena se encuentra desplazado hacia el estado monomérico. La exposición a M-Gal-1 no logró generar los resultados bioquímicos obtenidos con D-Gal-1. Sin embargo, el tratamiento con M-Gal-1 indujo una disminución en el tamaño de la cicatriz glial respecto a los animales *Lgals1*^{-/-} control, aunque no igualaron los valores observados por incubación con D-Gal-1. Respecto a la expresión de ED1 (marcador de microglia/macrófagos), no hubo diferencias significativas en el sitio de lesión cuando se lo comparó con los animales tratados con D-Gal-1; sin embargo hubo una disminución del número de células ED1⁺ río arriba y río abajo del sitio de lesión al compararlos con los animales *Lgals1*^{-/-} control. Respecto al fenotipo de los astrocitos en el sitio de lesión luego del tratamiento con M-Gal-1, los astrocitos nestina⁺ presentaron arborizaciones y longitudes de los procesos significativamente superiores a las generadas con D-Gal-1, y similares a las observados en ratones *Lgals1*^{-/-} control. El tratamiento con M-Gal-1 no produjo regeneración axonal alguna ya sea en el epicentro del sitio de lesión ni en la sustancia blanca, evidenciado en ambos casos por la ausencia total de axones positivos para β III-tubulina. Además, al analizar la sustancia gris río arriba y río abajo del sitio de lesión, se evidenció un fenotipo normal de las motoneuronas, similar al observado en los animales tratados con D-Gal-1, sugiriendo que este fenómeno neuroprotectivo se debería a la inactivación de la microglía tipo-1 (M1).

Además, se demostró que las neuronas lesionadas provenientes de animales *Lgals1*^{-/-} tratados con M-Gal-1 no solo no regeneraron sus axones sino que además NRP-1 se acumuló en parches en las zonas aledañas al axón seccionado y ninguna de estas neuronas captaron la M-Gal-1. Asimismo, cuando se realizó la inmunoprecipitación de NRP-1 previo tratamiento con M-Gal-1, en el co-inmunoprecipitado solo apareció la Sema3A sin rastros de M-Gal-1, sugiriendo que esta conformación carece de la habilidad de unirse al complejo receptor y desplazar a la Sema3A.

Por lo tanto, dado que solo la D-Gal-1 en conformación dimérica produjo regeneración axonal, y que además esa conformación es la única con capacidad de unir glicanos, se investigó la interacción molecular involucrada en dicho fenómeno. Realizamos digestión enzimática del inmunoprecipitado compuesto por NRP-1/D-Gal-1 con la enzima PNGasaF, la cual remueve N-glicanos de la glicoproteína. De esta manera se logró evidenciar la liberación de D-Gal-1 por parte de NRP-1. Este resultado sugiere que la interacción entre D-Gal-1 y NRP-1/PlexinA4 es vía unión a glicanos. Finalmente la validación de dicho hallazgo fue llevada a cabo en ratones *Lgals1*^{-/-} con LTME los cuales fueron tratados con Gal-1-N46-D. Estos ratones no recuperaron motricidad alguna. Este resultado estuvo en línea con una ausencia total de regeneración axonal y una

marcada captación de Sema3A por parte de las neuronas con axones seccionados adyacentes al sitio de lesión.

En resumen, estos hallazgos demuestran un nuevo mecanismo a través del cual el tratamiento *in-situ* con Gal-1 en conformación dimérica posterior a una LTME produce regeneración axonal funcional y recuperación de la motricidad coordinada, actuando directamente a nivel neuronal. Dicho mecanismo es independiente de fenómenos de inactivación de la microglía. Además, se observó que el hecho de administrar D-Gal-1 en concentraciones farmacológicas consistentes con el equilibrio dimérico es fundamental para la completa actividad neuroregenerativa de la misma. Se demostró que solo D-Gal-1 en conformación dimérica interacciona vía N-glicanos con el complejo NRP-1/PlexinA4 y de esa manera impide la unión de Sema3A, contrarrestando la inhibición de la regeneración axonal. Se demostró que M-Gal-1 no puede producir regeneración axonal y por ende tampoco recuperación de la actividad locomotora debido a que carece de la propiedad de unirse a glicanos específicos del complejo receptor neuronal. Si bien esta forma de Gal-1 puede inactivar la microglía protegiendo las neuronas río arriba y río abajo del sitio de lesión, este efecto es insuficiente para recuperar las funciones motoras. En línea con este hallazgo, se determinó que la acción protectora, aunque mínima, observada en los ratones *WT* control se debe a que la conformación de Gal-1 endógena es monomérica. La interacción molecular lectina-carbohidrato fue demostrada *in vitro* por digestión enzimática de N-glicanos, e *in vivo*, utilizando una variante de Gal-1 dimérica con una mutación en el sitio de reconocimiento a carbohidratos (Fig. 1).

Estos resultados apoyan el uso racional de Gal-1 en una forma dimérica estable con potencial terapéutico para tratar LTME, teniendo en cuenta que la expresión de la Sema3A aparece recién 7 días posteriores a la lesión⁵, su administración dentro de las primeras 24 horas de producirse la lesión (consistente con los tiempos de los procesos quirúrgicos aplicados en clínica médica para descomprimir la zona afectada y estabilizar las vertebrales lesionadas) harían aplicable su uso en humanos; sumado al hecho de que la administración *in situ* evitaría el fenómeno de oxidación de Gal-1 y otros efectos sistémicos.

Todos los autores son miembros de la Carrera del Investigador Científico del CONICET.

Conflicto de intereses: Ninguno para declarar.

Bibliografía

- Kolodkin AL, Levengood DV, Rowe EG, Tai YT, Giger RJ, Ginty DD. Neuropilin is a semaphorin III receptor. *Cell* 1997; 90: 753-62.
- He Z, Tessier-Lavigne M. Neuropilin is a receptor for the axonal chemorepellent Semaphorin III. *Cell* 1997; 90: 739-51.
- De Winter F, Oudega M, Lankhorst AJ, et al. Injury-induced class 3 semaphorin expression in the rat spinal cord. *Exp Neurol* 2002; 175: 61-75.
- Kolodkin AL, Matthes DJ, Goodman CS. The semaphorin genes encode a family of transmembrane and secreted growth cone guidance molecules. *Cell* 1993; 75: 1389-99.
- Kaneko S, Iwanami A, Nakamura M, et al. A selective Sema3A inhibitor enhances regenerative responses and functional recovery of the injured spinal cord. *Nat Med* 2006; 12: 1380-9.
- Pasterkamp RJ, Giger RJ, Ruitenberg MJ, et al. Expression of the gene encoding the chemorepellent semaphorin III is induced in the fibroblast component of neural scar tissue formed following injuries of adult but not neonatal CNS. *Mol Cell Neurosci* 1999; 13: 143-66.
- Lindholm T1, Sköld MK, Suneson A, Carlstedt T, Cullheim S, Risling M. Semaphorin and neuropilin expression in motoneurons after intraspinal motoneuron axotomy. *Neuroreport* 2004; 15: 649-54.
- Rabinovich GA, Croci DO. Regulatory circuits mediated by lectin-glycan interactions in autoimmunity and cancer. *Immunity* 2012; 36: 322-35.
- Sakaguchi M1, Shingo T, Shimazaki T, et al. A carbohydrate-binding protein, Galectin-1, promotes proliferation of adult neural stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 7112-7.
- Ishibashi S1, Kuroiwa T, Sakaguchi M, et al. Galectin-1 regulates neurogenesis in the subventricular zone and promotes functional recovery after stroke. *Exp Neurol* 2007; 207: 302-13.
- Yamane J1, Nakamura M, Iwanami A, et al. Transplantation of galectin-1-expressing human neural stem cells into the injured spinal cord of adult common marmosets. *J Neurosci Res* 2010; 88: 1394-1405.
- Starossom SC, Mascanfroni ID, Imitola J, et al. Galectin-1 deactivates classically activated microglia and protects from inflammation-induced neurodegeneration. *Immunity* 2012; 37: 249-63.
- Hsieh SH, Ying NW, Wu MH, et al. Galectin-1, a novel ligand of neuropilin-1, activates VEGFR-2 signaling and modulates the migration of vascular endothelial cells. *Oncogene* 2008; 27: 3746-53.
- Quinta HR, Pasquini JM, Rabinovich GA, Pasquini LA. Glycan-dependent binding of galectin-1 to neuropilin-1 promotes axonal regeneration after spinal cord injury. *Cell Death Differ* 2014 (in press).
- Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection. *Exp Neurol* 1996; 139: 244-56.
- Popovich PG, Guan Z, Wei P, Huitinga I, van Rooijen N, Stokes BT. Depletion of hematogenous macrophages promotes partial hindlimb recovery and neuroanatomical repair after experimental spinal cord injury. *Exp Neurol* 1999; 158: 351-65.
- Jones TB, McDaniel EE, Popovich PG. Inflammatory-mediated injury and repair in the traumatically injured spinal cord. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 1223-36.
- Tian DS, Yu ZY, Xie MJ, Bu BT, Witte OW, Wang W. Suppression of astroglial scar formation and enhanced axonal regeneration associated with functional recovery in a spinal cord injury rat model by the cell cycle inhibitor olomoucine. *J Neurosci Res* 2006; 84: 1053-63.
- Tian DS1, Xie MJ, Yu ZY, et al. Cell cycle inhibition attenuates microglia induced inflammatory response and alleviates neuronal cell death after spinal cord injury in rats. *Brain Res* 2007; 1135: 177-85.
- Raineteau O, Schwab ME. Plasticity of motor systems after incomplete spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 263-73.
- Cafferty WB, McGee AW, Strittmatter SM. Axonal growth therapeutics: regeneration or sprouting or plasticity? *Trends Neurosci* 2008; 31: 215-20.
- Conde C, Caceres A. Microtubule assembly, organization and dynamics in axons and dendrites. *Nat Rev Neurosci* 2009; 10: 319-32.