

MECANISMOS DE DIFERENCIACIÓN CELULAR EN LA NEUROGÉNESIS

Trabajo Fin de Grado

Curso 22/23

JAVIER MAGRO AGUADO

Índice

Resumen	2
Introducción	3
Glía radial	5
Mecanismos moleculares de diferenciación en las NSC	6
Morfógenos.....	8
Neurotrofinas	9
Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)	11
Reelina	12
Vías de señalización	14
Vía de Notch	14
Vía de Wnt.....	17
Micro RNA y Epigenética	19
Neurogénesis en adultos	21
Conclusiones	24
Bibliografía	25

Resumen

El sistema nervioso central es el encargado de coordinar todas las funciones vitales de un organismo. Su origen tiene lugar en la gastrulación, momento en el que se forma el neuroepitelio, tejido del que provienen las células nerviosas. Durante el desarrollo e incluso después de este, el neuroepitelio pasa por un proceso llamado neurogénesis. La neurogénesis comprende las sucesiones de etapas de proliferación y diferenciación a las que se ve sometido este tejido, gracias a las cuales es capaz de formar las estructuras que darán lugar al sistema nervioso central. Las células que se ven sometidas a estos procesos se conocen como células neurales troncales (NSC), y deben ser coordinadas a través de estas etapas. Como en cualquier otra fase del desarrollo, existen numerosos mecanismos de regulación moleculares actuando en distintos niveles celulares, como señales externas, vías de señalización y bucles de control de la transcripción.

Introducción

Las células troncales (también conocidas como células madre) son un tipo de célula con capacidad de autorrenovación, pudiendo producir más células troncales hijas por mitosis, las cuales tendrán las mismas propiedades que sus progenitoras, o bien producir células hijas que se diferenciarán en otros tipos celulares con distintas funciones biológicas.

La capacidad de generar diferentes tipos celulares es conocida como “potencialidad”, y no todas las células troncales poseen la misma. Las células del cigoto son las que tienen más potencialidad, pero a medida que se van diferenciando y determinando en otros tipos celulares, van perdiendo esta capacidad. (*Teng et al., 2008*).

Las células troncales neurales son aquellas que dan lugar a las diferentes células del sistema nervioso central. El origen del sistema nervioso central se halla en el ectodermo, una de las 3 capas germinales originadas en la gastrulación. Tras este periodo de desarrollo, parte del ectodermo formará la placa neural, la cual comenzará a plegarse sobre sí misma y dará lugar al tubo neural en un proceso llamado neurulación. Es de este tubo neural de donde surgirán las futuras células que formarán el sistema nervioso central. Este grupo de células son conocidas como células troncales neurales (NSC), y se caracterizan por ser capaz de diferenciarse en neuronas, astrocitos y oligodendrocitos (*Pfaff & Volkow, 2016*). Durante el desarrollo del organismo, las poblaciones de NSC serán sometidas a numerosos factores de señalización, los cuales tienen un papel clave en la expresión genética de la célula, y por tanto en su destino celular (Figura 1).

Las NSC son las encargadas de iniciar linajes que desencadenarán en los distintos tipos de células neuronales. Sin embargo, estos productos finales rara vez se originan directamente de las NSC, si no que primero pasan a través de ciclos de divisiones en donde las distintas etapas celulares van perdiendo potencialidad. Es dentro de este grupo de células progenitoras intermedias donde comienzan las distintas rutas que llevarán a un destino celular u otro (*Dhara & Stice, 2008*). En este punto, hay una separación clave en cuanto a las rutas que siguen estas células, y es que unas formarán los precursores de las neuronas mientras que otras formarán precursores de células gliales (*Kriegstein & Alvarez-Buylla, 2009*).

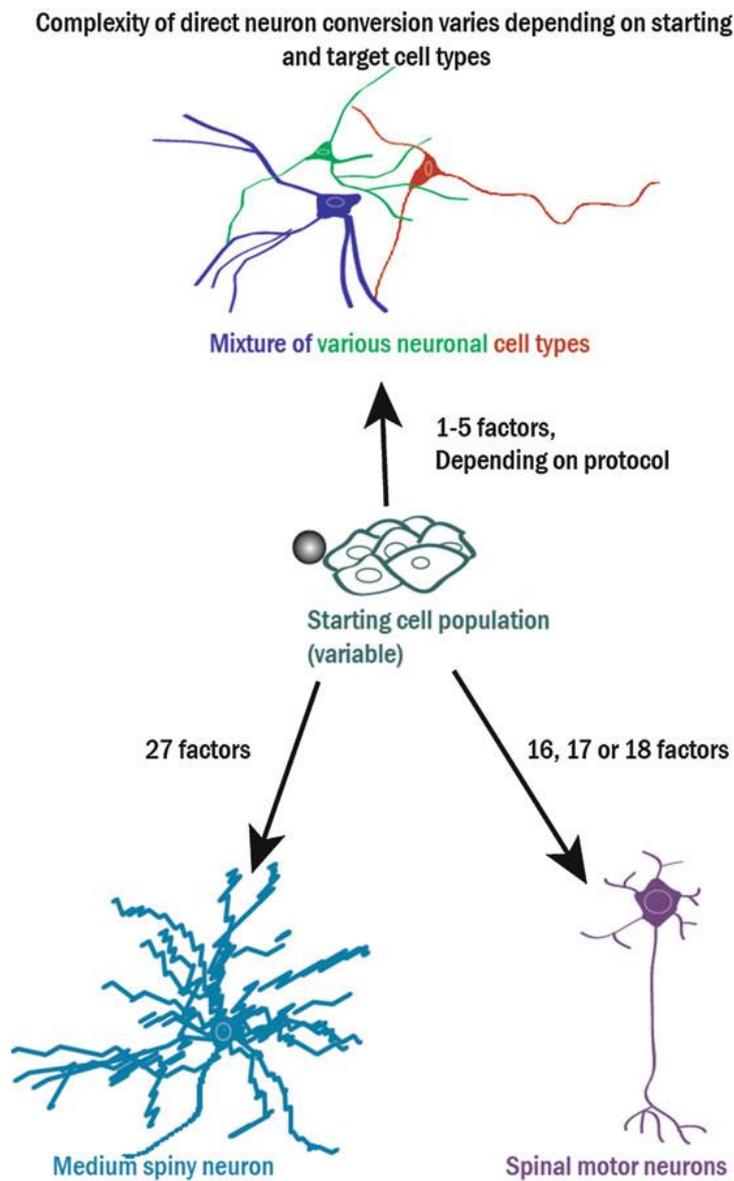


Figura 1. Una misma población de células troncales neurales (NSC) puede dar lugar a distintos grupos neurales diferenciados según los factores de señalización que se les haga llegar (Pfaff & Volkow, 2016)

Todo este proceso de proliferación, diferenciación y formación de estructuras del sistema nervioso central es lo que se conoce como neurogénesis. En su comienzo, una NSC puede encontrarse en estado quiescente, como suele ocurrir en las poblaciones del cerebro adulto (Alunni & Bally-Cuif, 2016). A través de las distintas etapas de un organismo, estas células van recibiendo señales que provocan un cambio en su estado celular. Durante el desarrollo las señales que reciben las hacen alternar entre los procesos de proliferación y diferenciación. Una vez entradas en la diferenciación es cuando pasan a través de diferentes etapas donde aún conservan potencialidad suficiente para que se pueda dirigir su destino celular. En ese momento, a estas células se las conoce como progenitores intermedios (IP) (Kriegstein & Alvarez-Buylla, 2009). A

medida que continúan llegando señales, su destino celular se va concretando hasta formar el neuroblasto, una neurona inmadura (*Galderisi et al., 2003*).

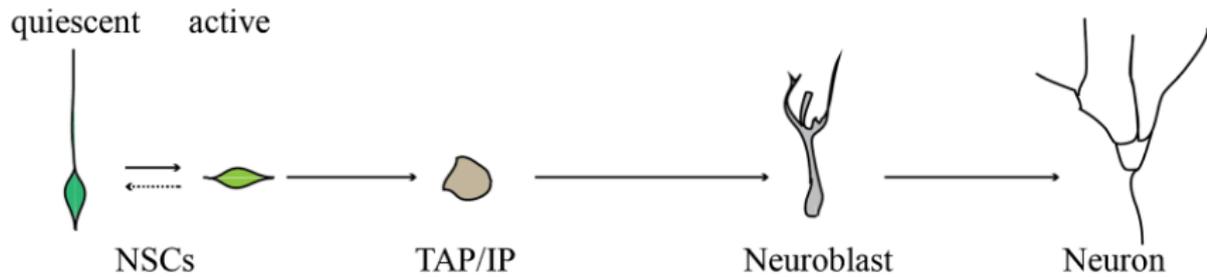


Figura 2. Etapas de la neurogénesis. Una NSC activa empieza a diferenciarse en progenitores intermedios (TAP/IP) que llegan a formar un neuroblasto, el cual madurará hasta llegar a una neurona (*Zhang et al., 2018*).

Glía radial

Durante las primeras etapas del desarrollo de la corteza cerebral en mamíferos se llevan a cabo una de las diferenciaciones más importantes del sistema nervioso. Las células neuroepiteliales del tubo neural sufren sus primeras transformaciones dando lugar a la glía radial (RG) (*Engler et al., 2018*). Esta glía radial la constituye NSC bipolares que se encuentran en la zona subventricular (SV). En ratones, a partir de E11.5 entrará en una fase de proliferación donde se creará más RG. Sin embargo, algunas células sufrirán una división asimétrica, dando lugar a los primeros IP, así como nuevas neuronas hasta formar la zona subventricular. Siguiendo este método, la RG hará de andamio durante la formación de las capas neocorticales, guiando a las futuras neuronas en su migración (*Greig et al., 2013*).

Además de las funciones mencionadas, la RG también tiene un papel de mantenimiento de las nuevas neuronas. En estas etapas del desarrollo, el primer tipo de célula nerviosa que se diferencia son las neuronas, pero es durante E15.5 y el periodo postnatal cuando aparecen los primeros astrocitos y oligodendrocitos (*Fuentealba et al., 2015*). Durante el desarrollo cortical, la RG expresa marcadores propios de células gliales encargadas de la mielinización primaria, por lo que se piensa que estas células son las responsables de ejercer las primeras funciones gliales en el sistema nervioso (*Howard et al., 2008*).

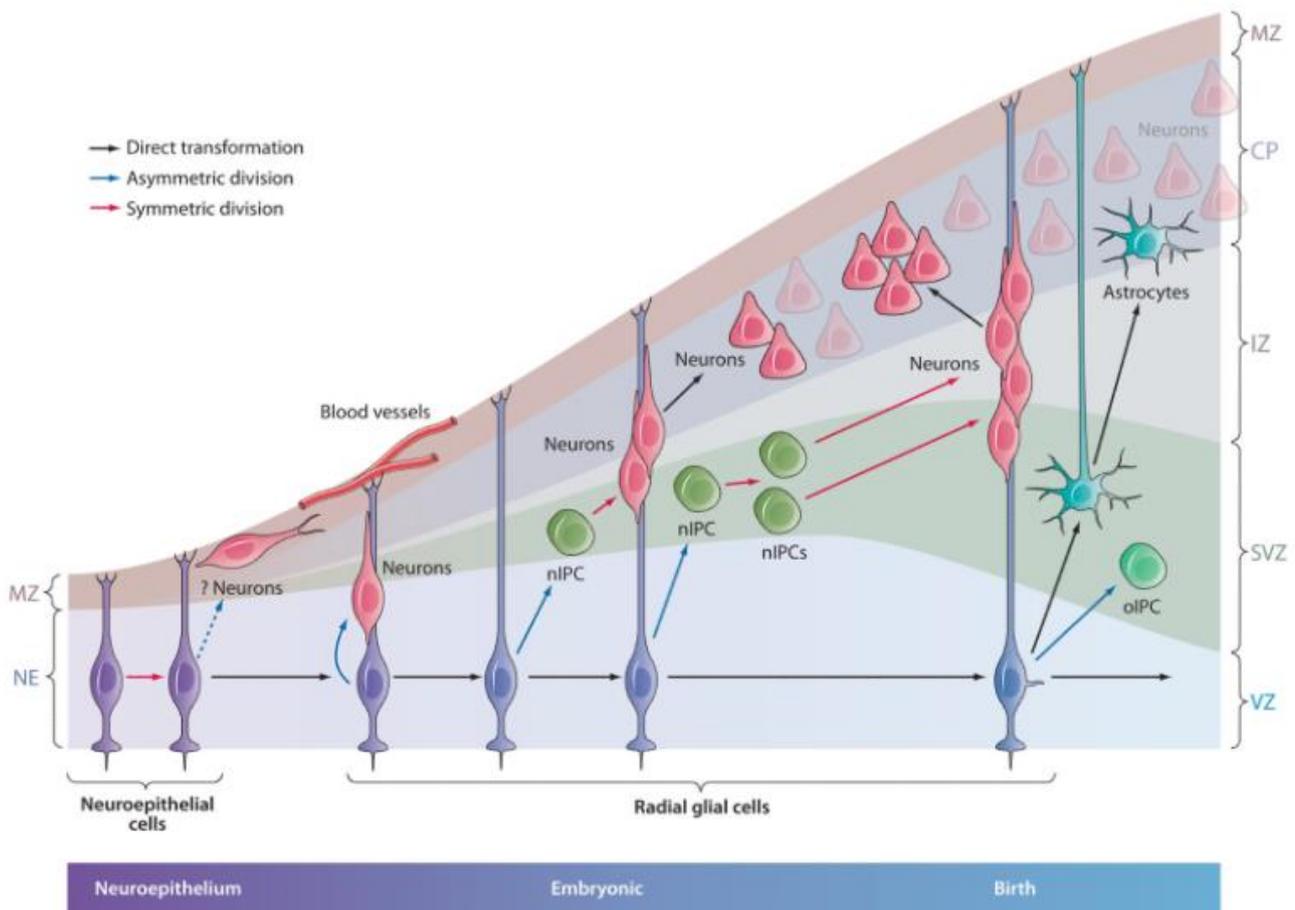


Figura 3. Evolución de la glía radial durante el desarrollo. El neuroepitelio sufre cambios que lo llevan a convertirse en la RG y empieza a formar las distintas capas de la corteza (VZ, SVZ, IZ, CP y MZ). Esta entra en una etapa de proliferación seguida de divisiones asimétricas que forman multitud de progenitores intermedios (nIPC), los cuales se diferenciarán en neuronas. En las últimas etapas de desarrollo embrionario y durante el desarrollo postnatal, la RG formará progenitores intermedios de células gliales (oIPC) (Kriegstein & Alvarez-Buylla, 2009).

El estudio de la neurogénesis está limitado por varias dificultades. Los grupos de NSC adultas son muy limitados y complicados de aislar, y su extracción requiere de cirugías muy invasivas. Por lo tanto, la obtención de NSC humanas proviene de fuentes como células troncales embrionarias (ES) o células troncales pluripotentes inducidas (iPS). Ambos son tipos celulares con una alta potencialidad, a los cuales puede inducirse la diferenciación en NSC (Pfaff & Volkow, 2016). Los avances en la comprensión de los mecanismos que regulan la neurogénesis tienen un enorme potencial a la hora de tratar con preocupaciones médicas como el envejecimiento del cerebro, enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson, etc.), memoria o aprendizaje. Por ello, este documento recoge las principales vías en la que la neurogénesis se lleva a cabo, para ofrecer un entendimiento general de los procesos implicados.

Mecanismos moleculares de diferenciación en las NSC

Para el inicio de cualquier diferenciación celular primero deben expresarse los genes que regulan este proceso. En eucariotas, la regulación de la expresión génica puede realizarse a varios niveles, a saber: cromatina, transcripcional, postranscripcional,

traduccional y postraduccional. Los métodos usados para regular un gen no tienen por qué parecerse a los usados para regular otro, existiendo grandes posibilidades en todo el abanico de genes que supone la diferenciación celular (*Anello et al., 2021*). Estos sistemas de regulación no actúan de forma lineal, sino que componen eslabones en una red que trabajan conjuntamente para llevar a cabo un resultado final. Es por ello que para una comprensión global del proceso de diferenciación es necesario atender a los varios mecanismos que trabajan en los distintos niveles de la expresión génica.

El conjunto que veremos a continuación se trata de una serie de herramientas genéticas, las cuales están muy conservadas evolutivamente entre los organismos en un mismo filo y tienen un papel clave en el control del desarrollo embrionario (*Cañestro et al., 2007*).

Algunos ejemplos de estas herramientas genéticas son los morfógenos, moléculas con función señalizadora que son secretadas por un tejido, propagándose con un gradiente de concentración. Una vez recibido en suficiente concentración por la célula diana, se activa una cascada de señalización que puede provocar varios efectos, entre ellos el de la diferenciación celular (*Tabata & Takei, 2004*). También son conocidos como factores de crecimiento y existen algunos que son exclusivos de NSC como son las neurotrofinas.

Otra herramienta genética relacionado con la anterior son las vías de señalización, una serie de reacciones químicas bien conservadas entre organismos que funcionan conjuntamente para llevar a cabo una función celular. Es conocido el papel de muchas de estas vías en el desarrollo embrionario, como pueden ser las vías Notch, Wnt o Erk (*Chiodoni et al., 2019*).

Una herramienta genética que actúa a nivel postraduccional son los micro-RNAs (miRNA). Se tratan de cadenas cortas no codificantes las cuales regulan la estabilidad y traducción de otros RNA mensajeros (mRNA) específicos. Se han descubierto varios miRNAs específicos del tejido neuronal, como miR-9 que promueve la proliferación de NSC. En adultos, se ha observado que su función se centra en mantener la población de NSC (*Pfaff & Volkow, 2016*).

A lo largo de las diferentes etapas de un organismo, ciertas herramientas genéticas ganan mayor relevancia que otras, como es el caso de la epigenética. Esta juega su papel de regulador de la expresión génica sin hacer modificaciones en la secuencia de DNA, interviniendo en mecanismos como la compactación de la cromatina mediante

acetilación o metilación de histonas. Un ejemplo de ello sería la histona deacetilasa (HDAC), enzima que causa condensación local de la cromatina, reprimiendo la transcripción de genes que promueven la neurogénesis en adultos (*Swaminathan et al., 2014*).

Existen muchos tipos de neuronas y células gliales, por lo que la neurogénesis es un proceso donde se implican una gran cantidad de factores diferentes y variados que no se recogen en los nombrados hasta el momento. Algunos ejemplos destacados son: 1) Señales mandadas por aferencias de otras regiones del sistema nervioso, como ocurre en las conexiones talamocorticales. 2) El líquido cefalorraquídeo, el cual posee una compleja mezcla de proteínas, de las cuales algunas pueden actuar como moléculas de señalización. 3) La matriz extracelular, cuya composición tiene efectos tanto en la proliferación como en la supervivencia de poblaciones celulares. 4) El entorno vascular, debido a las partículas de señalización presentes en la sangre y en la lámina basal del endotelio (*Guillemot, 2007; Obernier & Alvarez-Buylla, 2019*).

Morfógenos

Los morfógenos son moléculas señal secretadas por un tejido y que en función del gradiente de concentración que forman, marcan un patrón de desarrollo para las células afectadas, dando así forma a tejidos y estructuras. Para cumplir esa función, muchos de ellos además promueven la diferenciación celular (*Tabata & Takei, 2004*). En el caso de la neurogénesis, se han descrito morfógenos específicos que afectan a las neuronas y NSC, como pueden ser la familia de las neurotrofinas, así como otros factores de crecimiento inespecíficos, que han resultado tener efecto en este tipo celular. Algunos destacados son el ácido retinoico (RA), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y proteínas morfogénicas óseas (BMP), entre otros. Muchos de estos recientemente nombrados tienen como efecto principal el establecimiento del patrón regional de la corteza durante el desarrollo cortical, pero se ha demostrado que también actúan controlando la propia neurogénesis. Además, se ha registrado que no solo provienen de centros organizadores (como la cresta neural anterior), sino también de componentes tanto neurales (NSC o neuronas) como extraneurales (meninges, líquido cefalorraquídeo) (*Tiberi et al., 2012*).

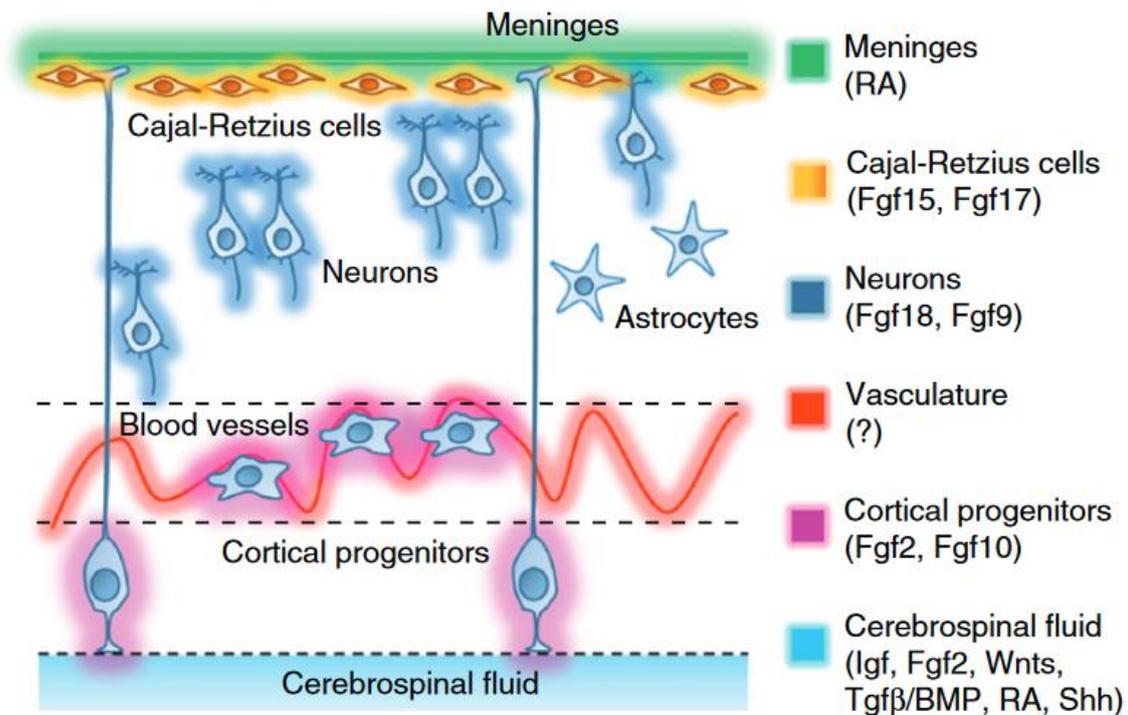


Figura 4. Diversas fuentes de morfógenos que dirigen el desarrollo cortical. Las fuentes tienen orígenes neurales (neuronas o progenitores neuronales) y extraneuronales (meninges, líquido cefalorraquídeo). Adaptado de Tiberi et al., 2012.

A continuación, se revisará con más detalle las principales familias de morfógenos con participación en la neurogénesis. Aquellos pertenecientes a vías de señalización importantes (Notch, Wnt, etc.) serán revisados en su posterior sección (pág. 14).

Neurotrofinas

Las neurotrofinas (NT) son una familia de morfógenos con un papel vital en el funcionamiento del sistema nervioso, tomando lugar en procesos como la mielinización, migración, plasticidad neuronal, supervivencia y diferenciación celular (Keefe et al., 2017). Son secretadas al medio extracelular como proteínas precursoras llamadas proneurotrofinas, las cuales tienen actividad biológica, siendo reconocidas por el receptor p75NTR, el cual es inespecífico y presenta afinidad por todas las neurotrofinas. Una vez maduras son reconocidas por la familia de receptores Trk, el cual tiene los subtipos TrkA, TrkB y TrkC que tienen mayor afinidad por cada una de las distintas neurotrofinas (Lu et al., 2005). Dentro de este grupo de morfógenos podemos distinguir 4 tipos: growth nerve factor (NGF), brain derived neurotrophic

factor (BDNF), neurotrofina-3 (NT-3), y neurotrofina-4/5 (N-4/5) (Langhnoja *et al.*, 2021).

Este conjunto de morfógenos forman un rico y variado microambiente en las distintas regiones del sistema nervioso durante el desarrollo que, sin embargo, se va reduciendo en la adultez. Además, la diferente mezcla de las neurotrofinas tiene distintos efectos biológicos: mientras que un solo tipo de neurotrofina aumenta la supervivencia celular, la combinación de varios tipos distintos fomenta la diferenciación. En esta línea de investigación, *Chen et al.*, 2014 experimentaron sometiendo a grupos de NSC a distintas combinaciones de neurotrofinas y otro morfógeno llamado factor de crecimiento de fibroblastos o bFGF (también llamado FGF2), otro morfógeno del que se ha descrito un rol importante en la neurogénesis. Los resultados mostraron que la combinación de NGF + BDNF + bFGF es la mezcla que más diferenciación provoca (Figura 5).

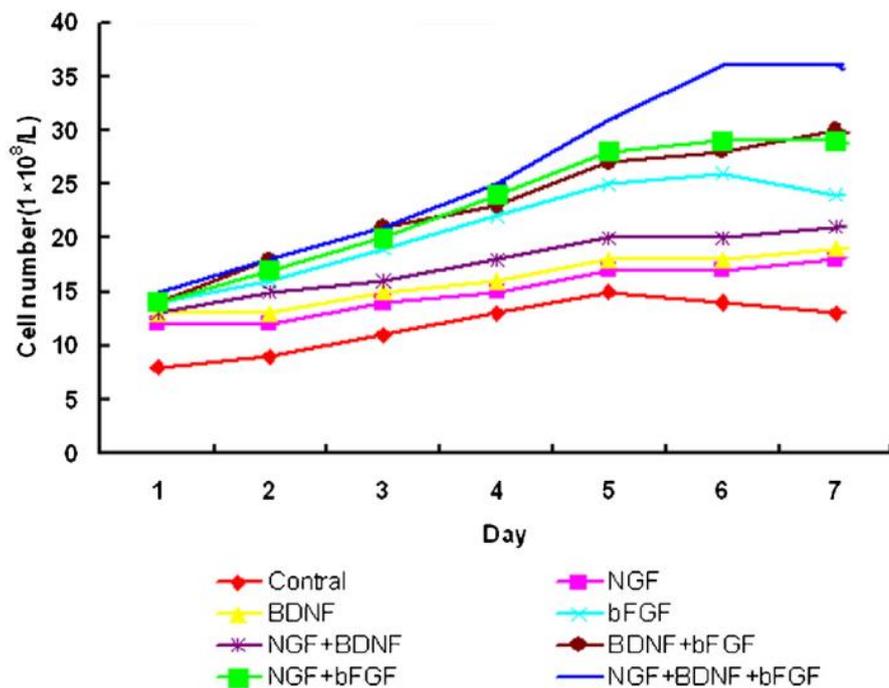


Figura 5. Número de NSC diferenciadas a través de 7 combinaciones de morfógenos. La combinación de distintas neurotrofinas con otros morfógenos como bFGF provoca un aumento en la proliferación y diferenciación celular (*Chen et al.*, 2014)

Los procesos moleculares subyacentes más conocidos son los que involucran NGF y BDNF. Estos activan los receptores TrkA y TrkB respectivamente, y mediante experimentos donde inhibieron dichos receptores, se descubrió que estos son parte de la vía de señalización ERK, la cual tendría un rol principal en la diferenciación por medio de neurotrofinas (Langhnoja *et al.*, 2021). ERK aumenta la concentración de cAMP, lo que llevaría a una liberación de Ca^{2+} intracelular, activando proteínas dependientes de

Ca²⁺ relacionadas con los factores de transcripción encargados de la diferenciación. Además, la activación de TrkA por NGF también sería responsable del inicio de cascadas de señalización como MAPK o PLC- γ , las cuales tienen también un efecto de liberación de Ca²⁺ intracelular (*Shieh & Ghosh, 1999; Tarasenko et al., 2004*).

Respecto a qué tipo de células neurales es dirigida la diferenciación de NSC mediante neurotrofinas, se han obtenido tanto neuronas como astrocitos y oligodendrocitos en experimentos con células *in vitro*. Sin embargo, en conjunto con otros factores de crecimiento (una situación más parecida a la que ocurre *in vivo*) las células más abundantes tras la diferenciación son los oligodendrocitos. La hipótesis que subyace tras esto, es que las neurotrofinas pueden tener un efecto de amplificación sobre la vía de Notch, cuyo incremento provoca una preferencia hacia la diferenciación en células gliales (*Langhnoja et al., 2021*).

Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)

Los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) se tratan de una extensa familia con gran facultad mitótica en la mayoría de las células troncales, siendo conocida por su rol en el establecimiento del patrón corporal. Se conocen al menos 18 FGFs distintos cuyo grupo de receptores conocidos como FGFR tienen en común pertenecer a la familia de receptores de tirosina-kinasa (*Beenken & Mohammadi, 2009*). Entre este grupo, surge FGF8 como regulador central en las etapas de formación del encéfalo. Se encarga de formar la parte anterior de la corteza mediante un mecanismo de gradiente de concentración espacial (*Toyoda et al., 2010*). Además, FGF8 en conjunto con FGF15 y FGF17 son capaces de formar neuronas de Cajal-Retzius, las cuales secretan reelina durante el desarrollo embrionario, otro importante morfógeno (*Tiberi et al., 2012*).

Otro integrante destacado de la familia de FGFs se trata de FGF10. Aparece en una temprana fase del desarrollo, y dirige la conversión de las células neuroepiteliales (NC) hacia células de la glía radial (RG). Cuando esta primera diferenciación se completa, el FGF10 es regulado negativamente hasta su desaparición del microambiente celular (*Sahara & O'Leary, 2009*).

Uno de los miembros más estudiados de los FGF es FGF2, también llamado bFGF. Se conoce principalmente por ser un agente con efecto mitótico especialmente en células vasculares y neuronales (*Beenken & Mohammadi, 2009*). También se ha observado que su combinación con otros morfógenos como neurotrofinas incrementa la población de

NSC diferenciadas, aunque se piensa que su participación en este proceso consiste en la proliferación de NSC, y que son los otros morfógenos los que desencadenarían la diferenciación (*Chen et al., 2014*). En experimentos con ratones knockout para receptores FGFR1/2/3 en la fase de proliferación de células neuroepiteliales (NE) se observó una reducción de tamaño de la corteza posterior. Esto se relacionó con una neurogénesis temprana donde el tamaño inicial de la población NSC era muy reducido, reforzando la hipótesis de que el rol de FGF2 es la proliferación de las NSC (*Rash et al., 2011*).

A lo largo de la bibliografía, puede encontrarse un patrón común respecto a los roles que presentan estas sustancias: Un morfógeno se encarga de la proliferación de la población de NSC mientras que un segundo (o tercer) morfógeno es el desencadenante de la diferenciación. Hemos visto este caso con FGF2 y neurotrofinas, donde FGF2 es el factor proliferante y las neurotrofinas el agente diferenciador (*Chen et al., 2014*). Otros ejemplos de estos sería la acción combinada de EGF y TGF α , con EGF siendo el encargado de la proliferación y TGF α el encargado de la diferenciación (*Christie & Turnley, 2013*). Esto nos da una idea de lo variado que sería el microambiente que existe durante el desarrollo del sistema nervioso y nos ofrece guía para la creación de futuros cultivos in vitro, donde el medio de crecimiento no debe limitarse a un solo factor de crecimiento, si no a la combinación selectiva de varios de ellos.

Reelina

La reelina se trata de una glicoproteína presente en la matriz extracelular, conocida por tener importantes roles en el proceso de migración y posicionamiento celular en etapas tempranas del desarrollo de la corteza cerebral. Es sintetizada por las células de Cajal-Retzius y actúa sobre los receptores ApoER2 y Vldlr, los cuales inducen la fosforilación de Dab1, iniciando una cascada de señalización tirosina kinasa (*Cooper, 2008*). Además, el rol de la reelina como agente inductor de la migración neuronal no se limita a las etapas del desarrollo, sino que también tiene un papel en la migración de neuroblastos desde la SVZ hacia el bulbo olfatorio en adultos, como se ha comprobado usando ratones “reeler”, el fenotipo que no presenta esta proteína (*Hack et al., 2002*).

Sin embargo, la reelina también tiene funciones en la diferenciación de NSC, relacionándose con la vía de señalización Notch. La vía de Notch (pág. 15) es bien conocida por actuar como ente regulador entre proliferación y diferenciación, así como

dirigir la célula hacia la gliogénesis, esto último mediante la activación de la brain lipid binding protein o BLPB (también conocido como FABP7) (Patten *et al.*, 2006). Keilani & Sugaya, 2008 demostraron que la adición de reelina en cultivos de NSC humanas también inducían la expresión de BLPB mediante un aumento de los dominios intracelulares de Notch-1 que serán translocados al núcleo (NICD) (Figura 6). Además, las NSC diferenciadas mediante reelina y mediante la vía de Notch presentan el mismo fenotipo, el cual forma células gliales (Keilani & Sugaya, 2008). Existen otros indicios que relacionan la reelina con Notch, como que este puede unirse directamente a Dab1, por lo que ambos tendrían como función la activación del mismo dominio (Lakomá *et al.*, 2011).

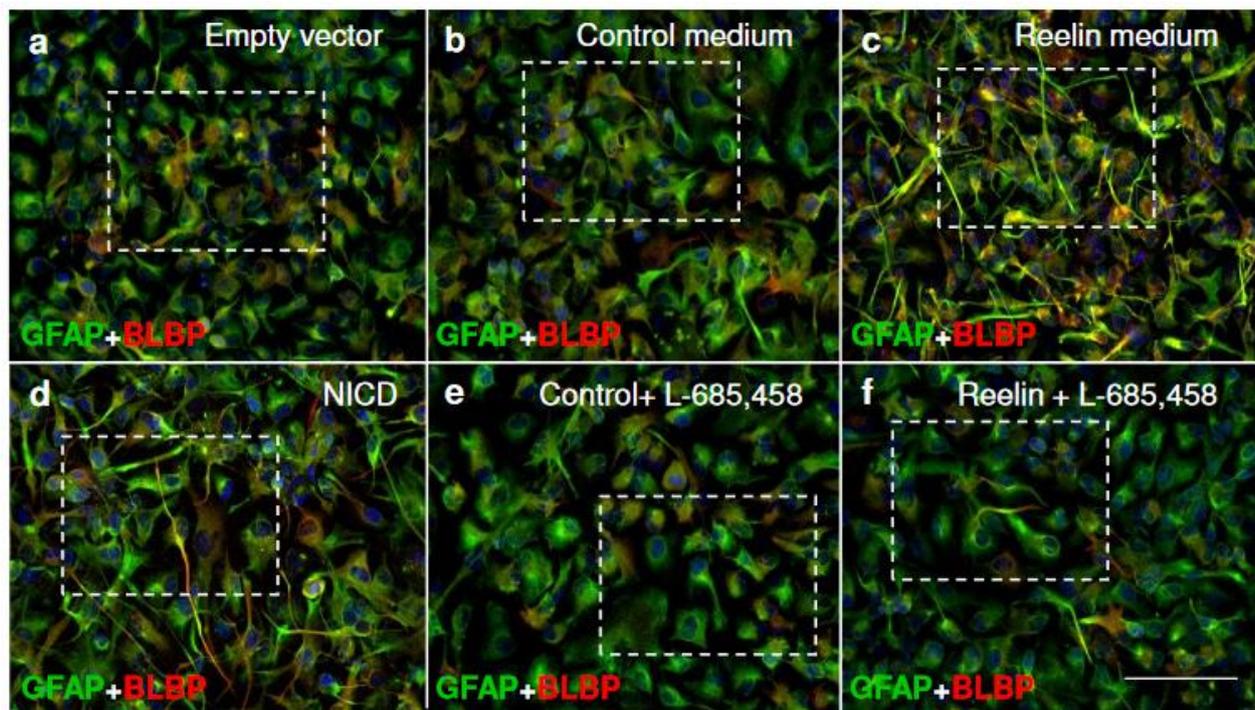


Figura 6. Las células diferenciadas presentan el mismo fenotipo en un medio con reelina (C) que en un medio donde la diferenciación es por Notch (D). Para comprobar que la reelina activa la vía de Notch, se añade un inhibidor de Notch (inhibidor de γ -secretasa) al cultivo crecido con reelina (F) y se observa como ya no es capaz de producir diferenciación, confirmando así su relación (Keilani & Sugaya, 2008).

En cuanto al mecanismo molecular que hay tras este proceso, se conoce que en primera instancia la reelina activa Dab1, que hace de intermediario con la familia de kinasas Src, las cuales se encargarán de inhibir los proteasomas que degradan NICD. Además, la reelina también aumenta la interacción entre NICD y Dab1, así como la translocación de NICD al núcleo. Todo esto lleva a una potente activación en la vía de Notch, que induce

la expresión de BLBP y por tanto la diferenciación de glía radial hacia nuevas células gliales (Keilani et al., 2012).

Vías de señalización

Llamamos vía de señalización a una serie de reacciones químicas bien conservadas que trabajan juntas para un mismo fin. Comienza cuando una célula recibe una molécula de su entorno y esta es reconocida por un receptor proteico. La unión al receptor provoca un cambio en él, activando a la siguiente molécula en la cadena, y así sucesivamente hasta llevar a cabo la función celular. En el caso de la neurogénesis, esta función sería la regulación de los factores de transcripción implicados en la diferenciación celular, y la molécula señal sería el morfógeno (Pfaff & Volkow, 2016).

Hasta el momento, hemos visto varios morfógenos activando vías como ERK en el caso de las neurotrofinas, o Notch en el caso de la reelina. Otros morfógenos como el FGF, EGF o el ácido retinoico también activan sus respectivas rutas de señalización. En este apartado, nos centraremos en la cadena de reacciones que tiene lugar una vez se activa el mecanismo, así como el papel de las vías de señalización más conocidas en el proceso del desarrollo embrionario, como es Notch o Wnt.

Vía de Notch

Esta es una de las vías de señalización más conocidas, no solo por su importancia en múltiples procesos celulares, sino también por ser una vía altamente conservada en el desarrollo embrionario, siendo ésta documentada por primera vez en *Drosophila* (Pfaff & Volkow, 2016). Tiene algunas características únicas que la diferencian de otras vías como Shh o Wnt. Y es que, a diferencia de las nombradas anteriormente, la señalización de Notch ocurre de forma yuxtacrina, es decir, mediante el contacto célula con célula, aunque también se han descrito activaciones de Notch de forma paracrina (por medio de un ligando). Otra diferencia caracterizadora de Notch es su falta de segundos mensajeros en la cascada de señalización, ya que la activación del receptor tiene como consecuencia directa la liberación del dominio intramembrana NICD y su seguida translocación al núcleo (Yamamoto et al., 2014).

El receptor de Notch se compone de un dominio extramembrana, compuesto de 36 repeticiones similares a las de epidermal growth factor o EGF, las cuales se encargan del reconocimiento del ligando. Hasta el momento se han descrito 4 receptores distintos

en mamíferos (Notch 1-4) y 5 ligandos. El dominio intramembrana es el implicado en la señalización celular, se compone de una serie de proteínas altamente conservadas donde destaca el dominio NICD, que será translocado al núcleo (*Borggreffe & Oswald, 2009*).

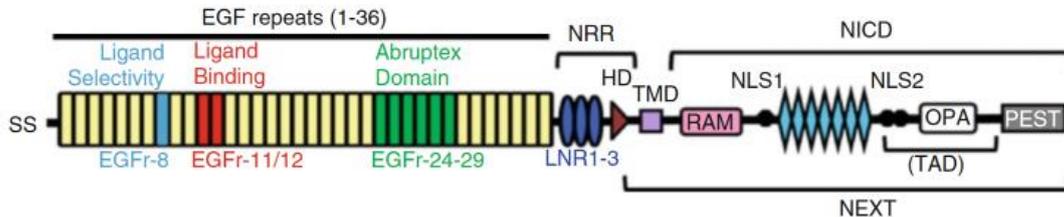


Figura 7. Representación del receptor Notch en *Drosophila*. Las repeticiones EGF constituyen el dominio extramembranario, mientras que NEXT es el dominio intramembranario, del cual se escindirá NICD, la parte que será translocada al núcleo (*Yamamoto et al., 2014*).

La vía canónica de Notch empieza con un contacto célula-célula, donde interactúan ligando y receptor. Esto activa unas proteínas proteolíticas, ADAM y γ -secretasa, que cortan el dominio extramembranario y el intramembranario (NICD) respectivamente. Esto permite que NICD se transloque al núcleo y actúe de cofactor transcripcional, formando un complejo que permitirá el inicio de la transcripción. Un elemento clave de este complejo es la proteína CSL (también llamada RBP-J), la cual se encuentra unida al DNA reprimiendo la transcripción. Mediante la unión de CSL con NICD, su rol se invierte y pasa a formar parte del complejo de activación de los genes que antes reprimía (*Kopan & Ilagan, 2009*).

Las fuentes de las señales que llegan a Notch son muy variadas, pero los genes cuya transcripción activan están más limitados. La mayoría de ellos tienen un papel en la inhibición lateral, un proceso de formación de patrones durante el desarrollo. Otro grupo relevante de genes son los encargados de la regulación de la población celular, así como la de diferenciación de esta (*Yamamoto et al., 2014*). En este ámbito destaca la familia de genes Hes, los cuales son activados por medio de la vía Notch-1, y en mamíferos actúan como represores de la transcripción, por lo que se ha propuesto que es mediante la activación de estos genes que Notch establece un equilibrio entre diferenciación y proliferación celular (*Borggreffe & Oswald, 2009*). Esta teoría se refuerza sabiendo que la expresión de esta familia, en concreto Hes5 y Hes1, se da en las NSC del desarrollo temprano, pero no en sus células hijas más posteriores (IP) (*Engler et al., 2018*). También se han documentado otros genes como BLBP o erB2 que son activados mediante Notch y tienen un papel en el desarrollo de las primeras etapas de la corteza cerebral (*Patten et al., 2006*).

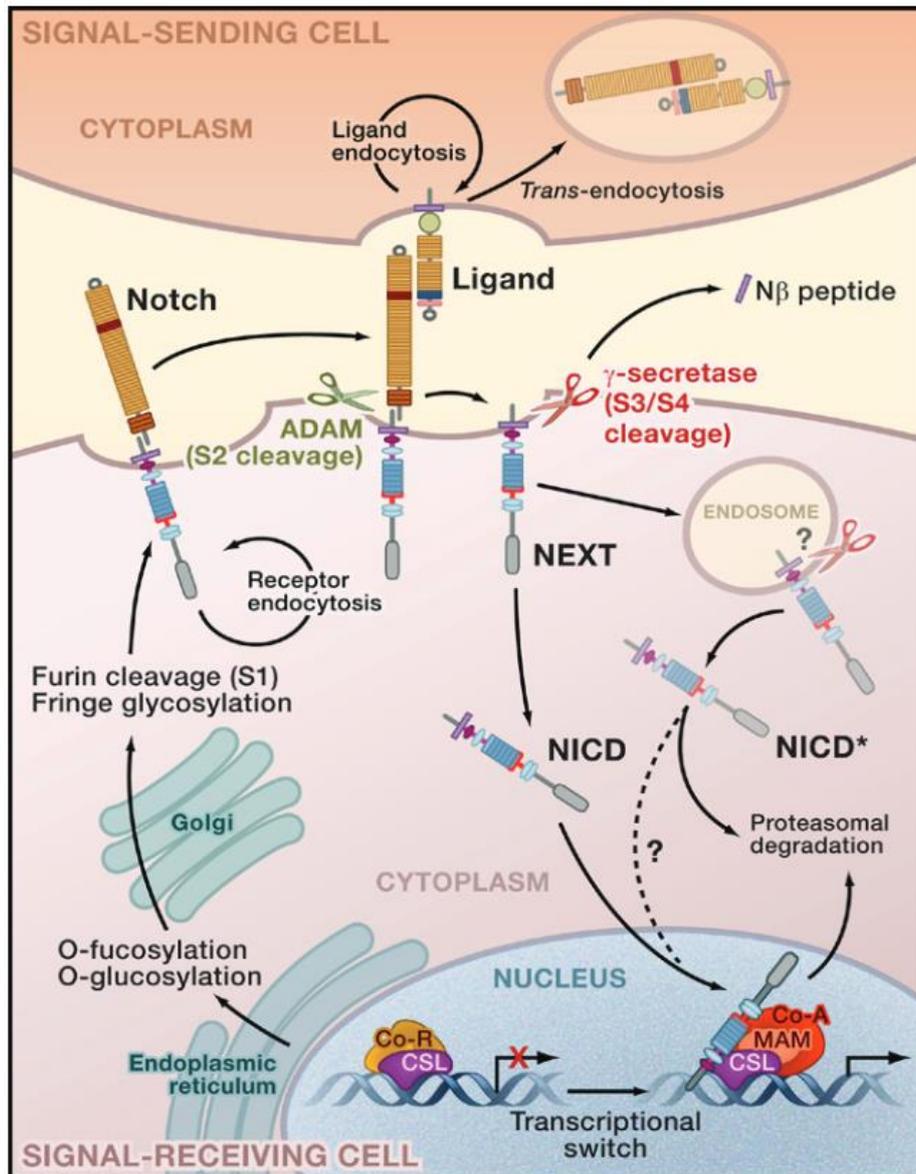


Figura 8. Funcionamiento de la vía canónica de Notch. Cuando el receptor de Notch reconoce un ligando, se activa 2 cortes catalíticos mediados por ADAM y γ -secretasa, y se libera el dominio intracelular NICD. Este viaja al núcleo y formará un heterodímero con CSL, cambiando de su forma de represor a su forma de promotor de la transcripción (Kopan & Ilagan, 2009).

En cuanto al papel de Notch en la neurogénesis, existe un gran consenso en que el rol principal de esta vía consiste en crear un equilibrio entre el mantenimiento de la población de NSC y la diferenciación en nuevas neuronas (Alunni & Bally-Cuif, 2016). La deficiencia de Notch-1 produce fenotipos donde hay una gran neurogénesis, pero a expensas de una pobre gliogénesis, por lo que Notch tendría también un papel en la decisión del destino celular de las NSC (Lütolf et al., 2002).

El mecanismo con el que Notch regula este equilibrio es con un bucle transcripcional entre genes promotores de la diferenciación (como *Ascl1* o *Ngn2*) y genes represores de esta como la familia *Hes*, de tal forma que el resultado final es una división celular asimétrica, obteniendo una NSC con la misma potencialidad que la célula madre, y otra célula hija que ha iniciado el proceso de diferenciación (*Engler et al., 2018*).

Tras una primera diferenciación celular, se activan los genes de la familia de las neurogeninas (como *Ascl1* o *Ngn2*) en una de las células hijas. Estos hacen de factor de transcripción proneurales, pero también codifican proteínas ligando de Notch (como *Delta-like*). Cuando las células vecinas con el receptor Notch reciban este ligando, expresaran los genes *Hes*, que reprimen la transcripción de genes proneurales, inhibiendo la diferenciación. Sin embargo, las proteínas *Hes* tienen un sistema de autorregulación negativa, y compiten con el factor de transcripción NICD-CSL para reprimirse a sí misma. Esto resulta en un bucle oscilatorio entre genes *Hes* y genes proneurales que tiene un papel crítico en la coordinación del desarrollo del sistema nervioso central (*Zhang et al., 2018*).

Vía de Wnt

Esta vía es reconocida por su importancia en la diferenciación de tejido cardíaco en el desarrollo, sin embargo, también se ha documentado su importancia en el desarrollo del hipocampo, así como su papel en la neurogénesis adulta (*Tiberi et al., 2012*).

La vía canónica de Wnt empieza cuando el ligando Wnt se une al receptor de membrana Frizzled junto al co-receptor LRP. En ausencia de Wnt, la B-catenina se encuentra fosforilada y ubiquitinada por GSK3B, haciéndola objetivo de los proteasomas. Cuando se une Wnt a Frizzled, hace que GSK3B y LRP interaccionen, por lo que la B-catenina queda libre y sin fosforilar, pudiendo translocarse al núcleo, donde formará un complejo de transcripción y podrán expresarse los genes diana de Wnt (*Rao & Kühl, 2010*).

Existen receptores de Wnt tanto en NSC tempranas de la zona apical como en las IP. También se ha documentado que una deficiencia de Wnt provoca el fenotipo de una corteza prematura, por lo que se piensa que tiene un papel en la proliferación celular. Así mismo, también se ha descubierto que algunos de los genes diana de Wnt tienen efectos neurogénicos, por lo que tendría un rol en la determinación del destino celular (*Bielen & Houart, 2014*).

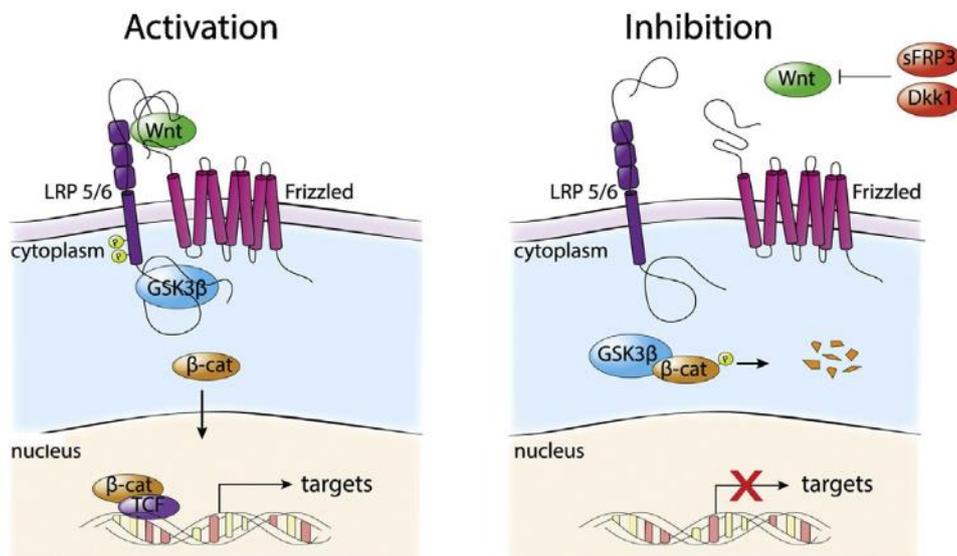


Figura 9. Vía canónica de Wnt. Cuando Wnt se une a Frizzled provoca que LRP interactúe con GSK3B, dejando vía libre a B-cat para que se transloque al núcleo y forme el complejo de transcripción con TCF. Ante inhibidores de Wnt, GSK3B estará libre, y fosforila a B-cat, haciéndola objetivo de proteasomas (Hussaini et al., 2014)

Se conoce que la vía de Wnt tiene como diana genes proneurales de la familia de las neurogeninas como Ngn1 y Ngn2. Además de la activación de estos, existe otra familia de genes promotores de la transcripción que son diana de Wnt y tienen gran relevancia no solo en la determinación del destino celular, sino también en la proliferación de NSC: los genes myc. Por un lado, N-myc aumenta la expresión de Ngn1, cosa que se ha observado en organismos knock-out de N-myc, los cuales tienen una menor cantidad de mRNA de Ngn1 (Kuwahara et al., 2010). Por otro lado, la eliminación de N-myc, así como de C-myc disminuye la cantidad de RG y de IP. Siguiendo el patrón de expresión de estos genes, se llega a la conclusión de que el papel de Wnt en la neurogénesis es contextual. Provocaría proliferación en NSC tempranas, pero diferenciación en IP (Bielen & Houart, 2014).

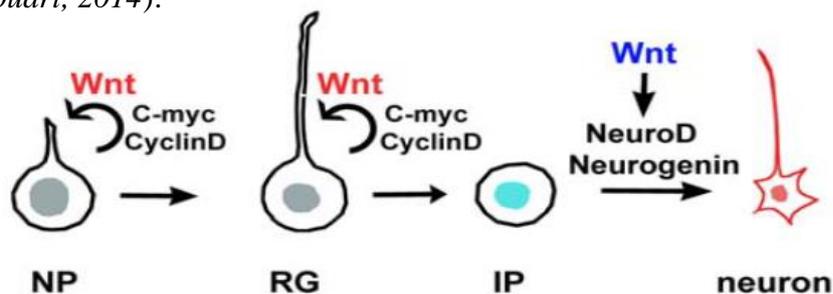


Figura 10. Papel contextual de Wnt. Induce proliferación en células del neuroepitelio (NP) y glía radial (RG), pero provoca la diferenciación en progenitores intermedios (IP). Adaptado de Bielen & Houart, 2014.

Micro RNA y Epigenética

Los micro RNA (miRNA) son una herramienta genética que actúa a nivel postranscripcional. Se tratan de unas moléculas pequeñas de RNA monocatenario no codificante que tienen como diana cadenas mRNA, regulando procesos como la escisión o la represión traduccional. La unión de miRNA con mRNA provoca en última instancia una represión en la expresión de la proteína que codificara el mRNA (*Cai et al., 2009*). Se han detectado varios miRNA específicos en puntos neurogénicos durante el desarrollo del sistema nervioso, como pueden ser miR-124, miR-9 o miR-153 (*Ji et al., 2013; Qiao et al., 2020*), lo cual indica que este mecanismo molecular es relevante durante la neurogénesis.

En el caso de miR-124, se ha relacionado este miRNA con un aumento en los niveles de neurogénesis durante la etapa embrionaria. Esto ocurriría debido al papel represor de miR-124 sobre SCP1. Esta molécula se trata de un dominio del factor de represión REST, un elemento central de una compleja red de mecanismos de transcripción, el cual se encarga de silenciar genes promotores de la neurogénesis. Además, también se han encontrado sitios de unión con miR-124 en otros componentes de factores de represión como BAF53, indicándonos que este también podría ejercer una función de inhibición de la neurogénesis (*Yoo et al., 2011*).

Otro caso de interés es miR-9. Este miRNA se encuentra durante el desarrollo, y su sobreexpresión induce la diferenciación neural y migración, teniendo como objetivo el receptor nuclear TLX, el cual es un importante regulador que afecta a genes relacionados con la proliferación y autorrenovación celular (*Ji et al., 2013*). TLX y miR-9 forman un bucle de retroalimentación negativa que se encarga de regular entre diferenciación y proliferación, ya que TLX también regula negativamente a miR-9. Durante el ciclo celular, la expresión de TLX disminuye en el momento de la diferenciación, cosa que coincide con el aumento de miR-9. Esta relación presenta la hipótesis de que el miRNA reprime los factores de transcripción relacionados con la proliferación, permitiendo una rápida transición entre NSC e IP (*Shi et al., 2010*).

Los miRNA pueden afectar varios mRNA distintos, y los ejemplos mostrados anteriormente no son una excepción. En el caso de miR-124, este tiene como diana a Jagged, un ligando de Notch, y miR-9 suprime Hes1, un efector de Notch (*Zhang*

et al., 2018). El bucle entre miRNA y factores de transcripción es un elemento común muy descrito a lo largo de la bibliografía, proponiéndose este como un mecanismo regulador que marca el momento oportuno para la determinación del destino celular.

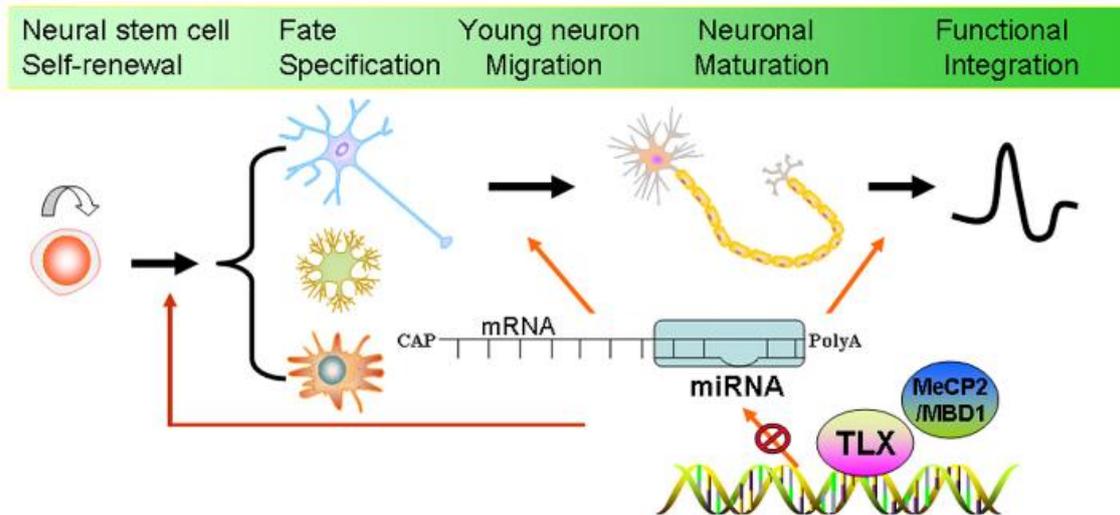


Figura 11. La regulación mediante miRNA está presente en varias etapas de la neurogénesis como la determinación del destino celular o la migración y maduración de neuronas recién formadas. Los propios miRNA a su vez están regulados por otros mecanismos como el factor de transcripción TLX o los factores epigenéticos meCP2 o MBD1 (Shi *et al.*, 2010).

Otra herramienta genética que ha demostrado estar muy relacionada con los miRNA es la epigenética. La epigenética hace referencia a los cambios en la expresión del genoma sin una alteración en la secuencia de DNA. Sus componentes principales consisten en moléculas que alteran la accesibilidad del complejo transcripcional a la cromatina, produciendo cambios como modificaciones de histonas o metilación del DNA (Delcuve *et al.*, 2009). Con relación a la neurogénesis, se ha encontrado que estos mecanismos son necesarios durante el desarrollo embrionario, como es el caso de las DNA metiltransferasa de la familia DNMT, que tiene como objetivo varios genes de la etapa de neurulación y en el caso de que dicha proteína sea silenciada produce letalidad embrionaria (Mohn *et al.*, 2008). Si bien los cambios epigenéticos están presentes en todas las etapas del organismo, en la neurogénesis tienen una mayor actividad en las etapas postnatales y adultas (Swaminathan *et al.*, 2014).

Otro caso es el de la familia de proteínas MBP, la cual forma parte de una entramada red de regulación donde están implicados una buena parte de los mecanismos que hemos visto hasta ahora, como son los miRNA o los morfógenos. Dentro de esta familia, destacamos MeCP2 y MBD1 las cuales se unen a partes del genoma metiladas, encargándose de silenciar esos genes. Se expresan en gran cantidad en el cerebro

durante las etapas embrionarias y adultas (Cheng & Qiu, 2014). La actividad neuronal conduce a la fosforilación de MeCP2, lo cual libera esta proteína del promotor al que estaba unido, disminuyendo su capacidad de silenciar genes dianas como el gen BDNF, una neurotrofina que promueve la neurogénesis (pág. 9). Paralelamente, la actividad neuronal activa el factor de transcripción CREB, el cual codificará miR-132, un microRNA que tiene como objetivo el mRNA de MeCP2, reprimiendo aún más su actividad (Jobe et al., 2012). Pero MeCP2 no solo es objetivo de los microRNA, sino que también los regula. Esta proteína bloquea la traducción de miR-137, un microRNA que tienen un papel reprimiendo varias etapas de la neurogénesis (Shi et al., 2010).

Respecto al otro miembro destacado de esta familia, MBD1 se une directamente a FGF2, un morfógeno que promueve la proliferación, reprimiendo así su actividad. Además, también forma parte de una cadena de regulación más larga involucrada con la vía de Notch. MBD1 regula negativamente la actividad de miR-184, un microRNA que tiene como diana Numbl. Esta proteína es clave en la regulación de la diferenciación en adultos, ya que es capaz de inhibir Notch, lo que provoca un desplazamiento en el equilibrio proliferación-diferenciación que mantiene esta vía, promoviendo así la diferenciación de nuevas neuronas (Jobe et al., 2012).

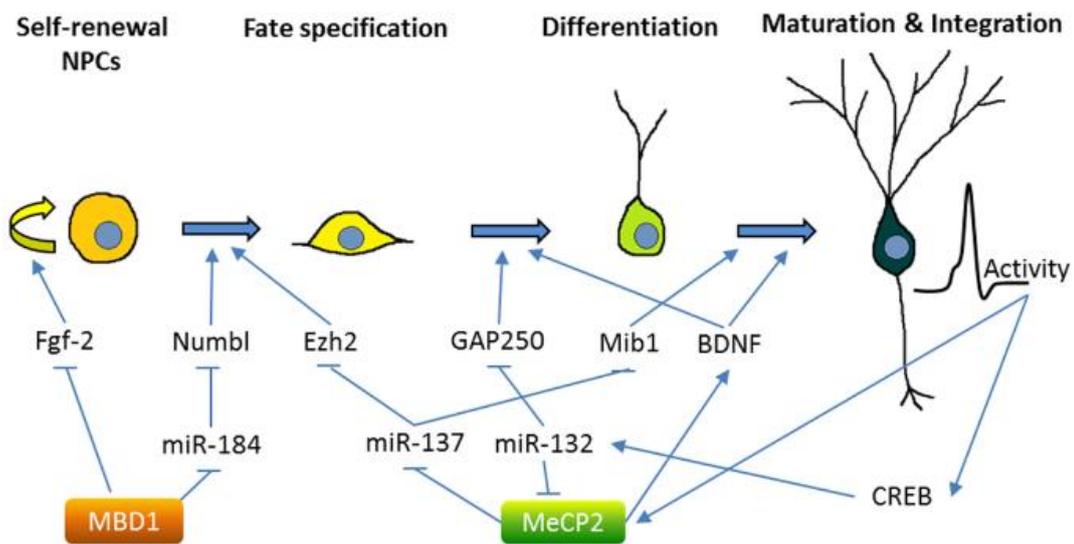


Figura 12. Papel de la familia MBP en distintas etapas de la neurogénesis. MBD1 inhibe la proliferación afectando a miRNA y morfógenos. MeCP2 regula varias etapas a través de una red donde están implicados varios miRNA, así como genes codificadores de neurotrofinas (Jobe et al., 2012).

Neurogénesis en adultos

Durante la formación del sistema nervioso central, determinadas poblaciones de NSC se aíslan y conservan durante toda la vida adulta en nichos germinales, poseyendo muchas

de las características de sus homólogas embrionarias (Howard *et al.*, 2008). Las zonas del cerebro adulto donde se han encontrado estas NSC, y por tanto las únicas regiones con capacidad de neurogénesis, son la zona subventricular (SVZ) y la zona subgranular (SGZ). La zona subventricular (SVZ) se haya recubriendo los ventrículos laterales, y las nuevas neuronas que se diferencian aquí migran hacia el bulbo olfatorio. La zona subgranular (SGZ) forma parte del giro dentado del hipocampo, el cual tiene un papel fundamental en la memoria, y hay evidencias de que la neurogénesis en esta zona está relacionada con procesos de aprendizaje (Niklison-Chirou *et al.*, 2020).

Estas células neurales adultas se conocen como B1 y si bien su origen embrionario permanece sin conocerse, tienen muchas similitudes citológicas y morfológicas con las células de la glía radial, por lo que se ha propuesto un origen común para ambas. El tipo de neurona a la que da lugar una célula B1 es determinado durante el periodo embrionario, momento en el que ocurre la diferenciación de células pre-B1. Estas poblaciones se mantienen quiescentes hasta el fin del periodo de desarrollo embrionario, y se diferencian durante la adultez (Fuentealba *et al.*, 2015). Algo que diferencia a las células B1 de la RG es que las primeras tienen una forma reticular que las pone en contacto con un gran número de elementos en su nicho (como el sistema vascular) permitiéndole recibir numerosas fuentes de señales vecinas. Además, una vez que las células B1 empiezan a dividirse, pueden dar lugar a células B2 las cuales son IP de astrocitos, o bien dar lugar a células C las cuales formarán un neuroblasto (Obernier & Alvarez-Buylla, 2019).

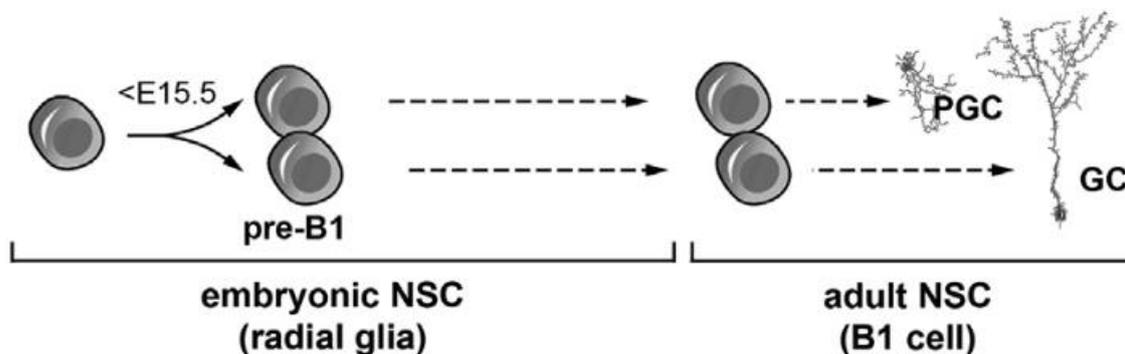


Figura 13. Las NSC adultas (B1) tendrían su origen en la glía radial, que produciría los precursores pre-B1 los cuales se mantienen quiescentes hasta la adultez, momento en el que se diferencian en distintos tipos neuronales como PGC o GC (Fuentealba *et al.*, 2015).

La regulación de la neurogénesis embrionaria está sometida a multitud de factores presentes en esta etapa, pero en la adultez, muchos de estos factores siguen presentes y

se le suman otros nuevos, resultando en un proceso altamente complejo (Kempermann *et al.*, 2015). El control epigenético se incrementa durante la adultez, actuando sobre vías de señalización y factores de transcripción. Aparecen nuevas fuentes de morfógenos que antes estaban poco desarrolladas, como es el sistema vascular, las meninges, sustancias y neurotransmisores del entorno neural e incluso hormonas. Además, factores como p53, un gen supresor de tumores, tiene más expresión en la adultez, por lo que se añadirían otras formas de regular el proceso (Vilar & Mira, 2016). Sin embargo, hay que tener en cuenta que en esta etapa la función de la neurogénesis está relacionada con la plasticidad necesaria para interactuar con el ambiente, por lo que depende en última instancia de los estímulos externos que reciba el organismo (Kempermann, 2011).

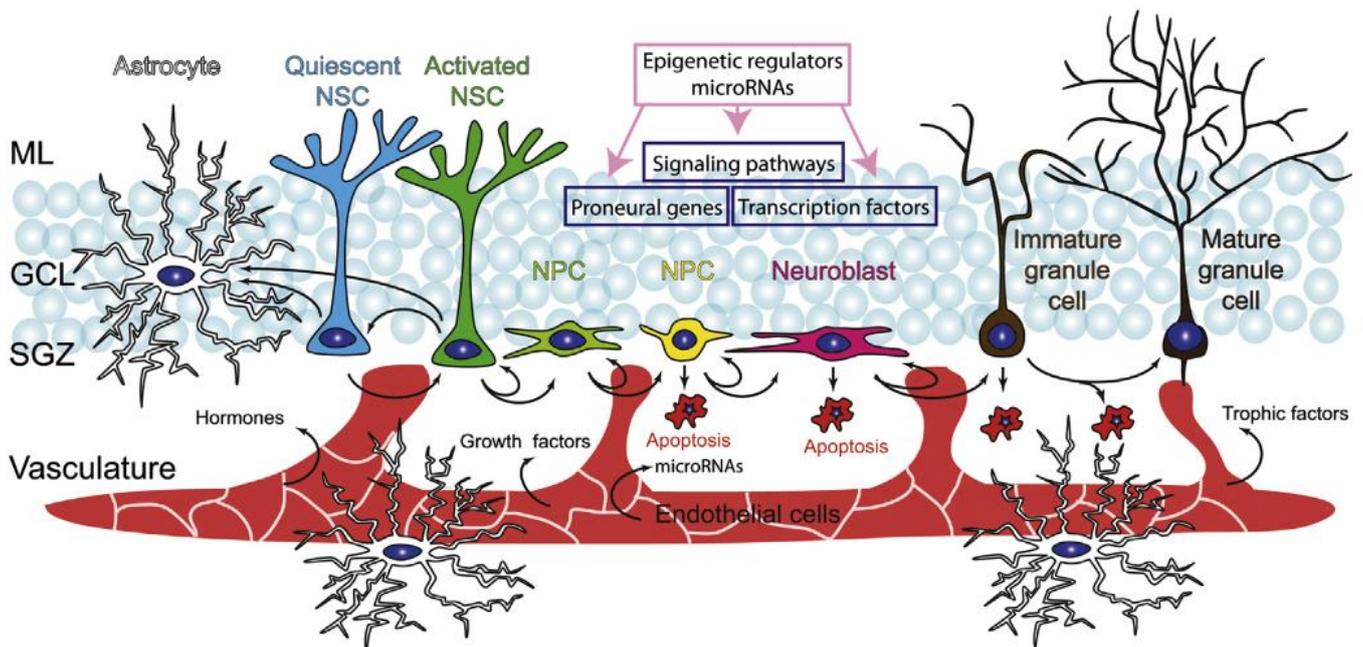


Figura 14. Esquema de la neurogénesis en el hipocampo adulto. Numerosas fuentes regulan la activación de las NSC quiescentes y dirigen su destino celular hacia la formación de nuevas neuronas (Vilar & Mira, 2016).

Conclusiones

La neurogénesis es un proceso altamente complejo que tiene lugar a lo largo de toda la vida del organismo, desde sus etapas embrionarias hasta la adultez. Consecuentemente, su regulación está mediada por un gran número de factores que van variando con el tiempo y estado de desarrollo. En las etapas iniciales, abundan mecanismos moleculares encargados de las tareas de proliferación y diferenciación de NSC, todo dirigido hacia la formación del sistema nervioso central. En este momento se aíslan poblaciones indiferenciadas de NSC las cuales formarán un nicho neurogénico durante la adultez. En la etapa adulta, la neurogénesis está destinada a tareas de plasticidad cerebral que permiten al organismo adaptarse a su entorno y responder a estímulos externos.

Los mecanismos moleculares que controlan estos cambios actúan a distintos niveles en la célula, controlando la expresión de genes que deciden el destino celular. No trabajan aisladamente, si no en conjunto. Forman una red donde interaccionan unos con otros, reforzando o inhibiendo sus efectos. Debido a la gran cantidad de factores implicados y a lo interconectadas que están sus funciones, la neurogénesis es un proceso muy susceptible de sufrir alteraciones que desemboquen en enfermedades. Si estas alteraciones ocurren en las etapas adultas, el funcionamiento general del giro dentado del hipocampo no se ve afectado, pero sí lo hace su conectividad y plasticidad. En cambio, las alteraciones en la etapa embrionaria suelen ser letales o producir severas malformaciones.

Por ello, una visión más amplia de esta red de reguladores moleculares no solo proporcionaría más conocimiento sobre la neurogénesis, sino que también ayudaría al diagnóstico de patologías actuales cuyo origen sigue desconocido. Del mismo modo, nos proporcionaría también más herramientas para continuar con el estudio in vitro de este proceso.

Bibliografía

- Alunni, A., & Bally-Cuif, L. (2016). A comparative view of regenerative neurogenesis in vertebrates. *Development*, *143*(5), 741-753. <https://doi.org/10.1242/dev.122796>
- Anello, M., Arnal, N., Barbisan, G., Catanesi, C. I., & Villegas Castagnasso, E. E. (2021). *Regulación de la expresión génica*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/131493>
- Beenken, A., & Mohammadi, M. (2009). The FGF family: Biology, pathophysiology and therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, *8*(3), Article 3. <https://doi.org/10.1038/nrd2792>
- Bielen, H., & Houart, C. (2014). The Wnt cries many: Wnt regulation of neurogenesis through tissue patterning, proliferation, and asymmetric cell division: Wnts and Neurogenesis. *Developmental Neurobiology*, *74*(8), 772-780. <https://doi.org/10.1002/dneu.22168>
- Borggreffe, T., & Oswald, F. (2009). The Notch signaling pathway: Transcriptional regulation at Notch target genes. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *66*(10), 1631-1646. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-8668-7>
- Cai, Y., Yu, X., Hu, S., & Yu, J. (2009). A Brief Review on the Mechanisms of miRNA Regulation. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, *7*(4), 147-154. [https://doi.org/10.1016/S1672-0229\(08\)60044-3](https://doi.org/10.1016/S1672-0229(08)60044-3)
- Cañestro, C., Yokoi, H., & Postlethwait, J. H. (2007). Evolutionary developmental biology and genomics. *Nature Reviews Genetics*, *8*(12), Article 12. <https://doi.org/10.1038/nrg2226>
- Chen, S., Cai, Q., Shen, Y., Cai, X., & Lei, H. (2014). Combined use of NGF/BDNF/bFGF promotes proliferation and differentiation of neural stem cells in vitro. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *38*(1), 74-78. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2014.08.002>
- Cheng, T.-L., & Qiu, Z. (2014). MeCP2: Multifaceted roles in gene regulation and neural development. *Neuroscience Bulletin*, *30*(4), 601-609. <https://doi.org/10.1007/s12264-014-1452-6>
- Chiodoni, C., Di Martino, M. T., Zazzeroni, F., Caraglia, M., Donadelli, M., Meschini, S., Leonetti, C., & Scotlandi, K. (2019). Cell communication and signaling: How to turn

bad language into positive one. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 38(1), 128. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1122-2>

Christie, K., & Turnley, A. (2013). Regulation of endogenous neural stem/progenitor cells for neural repair—Factors that promote neurogenesis and gliogenesis in the normal and damaged brain. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 6. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2012.00070>

Cooper, J. A. (2008). A mechanism for inside-out lamination in the neocortex. *Trends in Neurosciences*, 31(3), 113-119. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.12.003>

Delcuve, G. P., Rastegar, M., & Davie, J. R. (2009). Epigenetic control. *Journal of Cellular Physiology*, 219(2), 243-250. <https://doi.org/10.1002/jcp.21678>

Dhara, S. K., & Stice, S. L. (2008). Neural differentiation of human embryonic stem cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 105(3), 633-640. <https://doi.org/10.1002/jcb.21891>

Engler, A., Zhang, R., & Taylor, V. (2018). Notch and Neurogenesis. En T. Borggrefe & B. D. Giaimo (Eds.), *Molecular Mechanisms of Notch Signaling* (pp. 223-234). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89512-3_11

Fuentealba, L. C., Rompani, S. B., Parraguez, J. I., Obernier, K., Romero, R., Cepko, C. L., & Alvarez-Buylla, A. (2015). Embryonic Origin of Postnatal Neural Stem Cells. *Cell*, 161(7), 1644-1655. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.041>

Galderisi, U., Jori, F. P., & Giordano, A. (2003). Cell cycle regulation and neural differentiation. *Oncogene*, 22(33), Article 33. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206558>

Greig, L. C., Woodworth, M. B., Galazo, M. J., Padmanabhan, H., & Macklis, J. D. (2013). Molecular logic of neocortical projection neuron specification, development and diversity. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(11), Article 11. <https://doi.org/10.1038/nrn3586>

Guillemot, F. (2007). Spatial and temporal specification of neural fates by transcription factor codes. *Development*, 134(21), 3771-3780. <https://doi.org/10.1242/dev.006379>

Hack, I., Bancila, M., Loulier, K., Carroll, P., & Cremer, H. (2002). Reelin is a detachment signal in tangential chain-migration during postnatal neurogenesis. *Nature Neuroscience*, 5(10), Article 10. <https://doi.org/10.1038/nn923>

- Howard, B. M., Mo, Z., Filipovic, R., Moore, A. R., Antic, S. D., & Zecevic, N. (2008). Radial Glia Cells in the Developing Human Brain. *The Neuroscientist*, *14*(5), 459-473. <https://doi.org/10.1177/1073858407313512>
- Ji, F., Lv, X., & Jiao, J. (2013). The Role of MicroRNAs in Neural Stem Cells and Neurogenesis. *Journal of Genetics and Genomics*, *40*(2), 61-66. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2012.12.008>
- Jobe, E., McQuate, A., & Zhao, X. (2012). Crosstalk among Epigenetic Pathways Regulates Neurogenesis. *Frontiers in Neuroscience*, *6*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2012.00059>
- Keefe, K. M., Sheikh, I. S., & Smith, G. M. (2017). Targeting Neurotrophins to Specific Populations of Neurons: NGF, BDNF, and NT-3 and Their Relevance for Treatment of Spinal Cord Injury. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/ijms18030548>
- Keilani, S., Healey, D., & Sugaya, K. (2012). Reelin regulates differentiation of neural stem cells by activation of notch signaling through Disabled-1 tyrosine phosphorylation. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, *90*(3), 361-369. <https://doi.org/10.1139/y2012-001>
- Keilani, S., & Sugaya, K. (2008). Reelin induces a radial glial phenotype in human neural progenitor cells by activation of Notch-1. *BMC Developmental Biology*, *8*, 69. <https://doi.org/10.1186/1471-213X-8-69>
- Kempermann, G. (2011). Seven principles in the regulation of adult neurogenesis. *European Journal of Neuroscience*, *33*(6), 1018-1024. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07599.x>
- Kempermann, G., Song, H., & Gage, F. H. (2015). Neurogenesis in the Adult Hippocampus. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *7*(9), a018812. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018812>
- Kopan, R., & Ilagan, Ma. X. G. (2009). The Canonical Notch Signaling Pathway: Unfolding the Activation Mechanism. *Cell*, *137*(2), 216-233. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.03.045>

- Kriegstein, A., & Alvarez-Buylla, A. (2009). The Glial Nature of Embryonic and Adult Neural Stem Cells. *Annual Review of Neuroscience*, 32(1), 149-184. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135600>
- Kuwahara, A., Hirabayashi, Y., Knoepfler, P. S., Taketo, M. M., Sakai, J., Kodama, T., & Gotoh, Y. (2010). Wnt signaling and its downstream target N-myc regulate basal progenitors in the developing neocortex. *Development*, 137(7), 1035-1044. <https://doi.org/10.1242/dev.046417>
- Lakomá, J., Garcia-Alonso, L., & Luque, J. M. (2011). Reelin sets the pace of neocortical neurogenesis. *Development*, 138(23), 5223-5234. <https://doi.org/10.1242/dev.063776>
- Langhnoja, J., Buch, L., & Pillai, P. (2021). Potential role of NGF, BDNF, and their receptors in oligodendrocytes differentiation from neural stem cell: An in vitro study. *Cell Biology International*, 45(2), 432-446. <https://doi.org/10.1002/cbin.11500>
- Lu, B., Pang, P. T., & Woo, N. H. (2005). The yin and yang of neurotrophin action. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(8), Article 8. <https://doi.org/10.1038/nrn1726>
- Lütolf, S., Radtke, F., Aguet, M., Suter, U., & Taylor, V. (2002). Notch1 is required for neuronal and glial differentiation in the cerebellum. *Development*, 129(2), 373-385. <https://doi.org/10.1242/dev.129.2.373>
- Mohn, F., Weber, M., Rebhan, M., Roloff, T. C., Richter, J., Stadler, M. B., Bibel, M., & Schübeler, D. (2008). Lineage-Specific Polycomb Targets and De Novo DNA Methylation Define Restriction and Potential of Neuronal Progenitors. *Molecular Cell*, 30(6), 755-766. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.05.007>
- Niklison-Chirou, M. V., Agostini, M., Amelio, I., & Melino, G. (2020). Regulation of adult neurogenesis in mammalian brain. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), 1-21. Scopus. <https://doi.org/10.3390/ijms21144869>
- Obernier, K., & Alvarez-Buylla, A. (2019). Neural stem cells: Origin, heterogeneity and regulation in the adult mammalian brain. *Development*, 146(4), dev156059. <https://doi.org/10.1242/dev.156059>
- Patten, B. A., Sardi, S. P., Koirala, S., Nakafuku, M., & Corfas, G. (2006). Notch1 Signaling Regulates Radial Glia Differentiation through Multiple Transcriptional Mechanisms.

Journal of Neuroscience, 26(12), 3102-3108.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4829-05.2006>

Pfaff, D. W., & Volkow, N. D. (Eds.). (2016). *Neuroscience in the 21st Century*. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3474-4>

Qiao, J., Zhao, J., Chang, S., Sun, Q., Liu, N., Dong, J., Chen, Y., Yang, D., Ye, D., Liu, X., Yu, Y., Chen, W., Zhu, S., Wang, G., Jia, W., Xi, J., & Kang, J. (2020). MicroRNA-153 improves the neurogenesis of neural stem cells and enhances the cognitive ability of aged mice through the notch signaling pathway. *Cell Death & Differentiation*, 27(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/s41418-019-0388-4>

Rao, T. P., & Kühl, M. (2010). An Updated Overview on Wnt Signaling Pathways. *Circulation Research*, 106(12), 1798-1806. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.219840>

Rash, B. G., Lim, H. D., Breunig, J. J., & Vaccarino, F. M. (2011). FGF Signaling Expands Embryonic Cortical Surface Area by Regulating Notch-Dependent Neurogenesis. *Journal of Neuroscience*, 31(43), 15604-15617. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4439-11.2011>

Sahara, S., & O'Leary, D. D. M. (2009). Fgf10 Regulates Transition Period of Cortical Stem Cell Differentiation to Radial Glia Controlling Generation of Neurons and Basal Progenitors. *Neuron*, 63(1), 48-62. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.06.006>

Shi, Y., Zhao, X., Hsieh, J., Wichterle, H., Impey, S., Banerjee, S., Neveu, P., & Kosik, K. S. (2010). MicroRNA Regulation of Neural Stem Cells and Neurogenesis. *Journal of Neuroscience*, 30(45), 14931-14936. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4280-10.2010>

Shieh, P. B., & Ghosh, A. (1999). Molecular mechanisms underlying activity-dependent regulation of BDNF expression. *Journal of Neurobiology*, 41(1), 127-134. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4695\(199910\)41:1<127::AID-NEU16>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4695(199910)41:1<127::AID-NEU16>3.0.CO;2-J)

Swaminathan, A., Kumar, M., Halder Sinha, S., Schneider-Anthony, A., Boutillier, A.-L., & Kundu, T. K. (2014). Modulation of Neurogenesis by Targeting Epigenetic Enzymes Using Small Molecules: An Overview. *ACS Chemical Neuroscience*, 5(12), 1164-1177. <https://doi.org/10.1021/cn500117a>

- Tabata, T., & Takei, Y. (2004). Morphogens, their identification and regulation. *Development*, 131(4), 703-712. <https://doi.org/10.1242/dev.01043>
- Tarasenko, Y. I., Yu, Y., Jordan, P. M., Bottenstein, J., & Wu, P. (2004). Effect of growth factors on proliferation and phenotypic differentiation of human fetal neural stem cells. *Journal of Neuroscience Research*, 78(5), 625-636. <https://doi.org/10.1002/jnr.20316>
- Teng, Y. D., Santos, F. N. C., Black, P. M., Konya, D., Park, K. I., Sidman, R. L., & Snyder, E. Y. (2008). 18—Neural Stem Cells. En A. Atala, R. Lanza, J. A. Thomson, & R. M. Nerem (Eds.), *Principles of Regenerative Medicine* (pp. 300-317). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012369410-2.50020-6>
- Tiberi, L., Vanderhaeghen, P., & van den Aemele, J. (2012). Cortical neurogenesis and morphogens: Diversity of cues, sources and functions. *Current Opinion in Cell Biology*, 24(2), 269-276. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2012.01.010>
- Toyoda, R., Assimacopoulos, S., Wilcoxon, J., Taylor, A., Feldman, P., Suzuki-Hirano, A., Shimogori, T., & Grove, E. A. (2010). FGF8 acts as a classic diffusible morphogen to pattern the neocortex. *Development*, 137(20), 3439-3448. <https://doi.org/10.1242/dev.055392>
- Vilar, M., & Mira, H. (2016). Regulation of Neurogenesis by Neurotrophins during Adulthood: Expected and Unexpected Roles. *Frontiers in Neuroscience*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2016.00026>
- Yamamoto, S., Schulze, K. L., & Bellen, H. J. (2014). Introduction to Notch Signaling. En H. J. Bellen & S. Yamamoto (Eds.), *Notch Signaling: Methods and Protocols* (pp. 1-14). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1139-4_1
- Yoo, A. S., Sun, A. X., Li, L., Shcheglovitov, A., Portmann, T., Li, Y., Lee-Messer, C., Dolmetsch, R. E., Tsien, R. W., & Crabtree, G. R. (2011). MicroRNA-mediated conversion of human fibroblasts to neurons. *Nature*, 476(7359), Article 7359. <https://doi.org/10.1038/nature10323>
- Zhang, R., Engler, A., & Taylor, V. (2018). Notch: An interactive player in neurogenesis and disease. *Cell and Tissue Research*, 371(1), 73-89. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2641-9>