CAROLINA BELTRAME DEL DEBBIO

**GTPASES RHO E O POTENCIAL REGENERATIVO DA
RETINA DE MAMÍFEROS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração:
Biologia Celular e Tecidual.

Orientadora:
Profa. Dra. Dânia Emi Hamassaki.

São Paulo
2009

RESUMO

DEL DEBBIO, C.B. **GTPases Rho e o Potencial Regenerativo da Retina de Mamíferos**. 94 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Tecidual) – Instituto de Ciências Bimédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Recentemente as células do Corpo Ciliar (CC) foram identificadas nos olhos de mamíferos como fonte de progenitores/ células tronco para a retina de animais adultos, mas os mecanismos que controlam a proliferação e a quiescência destas células permanecem desconhecidos. As GTPases Rho são proteínas conhecidas por seu papel na reorganização do citoesqueleto de actina, regulação de múltiplas vias de sinalização que controlam a transcrição gênica, sobrevivência celular e proliferação. Neste trabalho, investigamos a expressão protéica das GTPases Rho nas células do CC e seu efeito na regulação do ciclo celular. Todas as GTPases estudadas (RhoA, RhoB e Rac1) foram expressas nas células do CC. Sua ativação pelo ácido lisofosfatídico (LPA) aumentou a expressão de genes progenitores retinianos, como Pax6 e Chx10, mas não a proliferação celular. Em contrapartida, a inibição das GTPases Rho por Toxina A de *Clostridium difficile* aumentou a proliferação das células do CC e potencializou o efeito proliferativo induzido por fatores de crescimento. A inibição específica das proteínas Rho e Rac1 também demonstraram efeito proliferativo no CC, principalmente Rac1, que se assemelhou ao efeito da Toxina A. No ciclo celular, a inibição destas proteínas diminuíram a expressão dos transcritos de p21^{cip}, p27^{kip}, p16^{INK4a} e p19^{INK4d} e aumentaram a expressão de Ki67, CiclinaA e D1. O estudo da via de Wnt indicou que Rac1 foi capaz de regular os genes de componentes da degradação de β -catenina e também Lef1. Concluimos que a inativação das GTPases Rho foi capaz de induzir a proliferação das células progenitoras retinianas localizadas no CC de camundongos adultos, além de regular a via de Wnt., e sua ativação induziu o perfil de célula progenitora. Estes dados sugerem uma nova ferramenta para o mecanismo de reparo retiniano.

Descritores: Corpo Ciliar. Progenitores retinianos. Proliferação. GTPases Rho.

ABSTRACT

DEL DEBBIO, C.B. **Rho GTPases and the regenerative potential of the mammalian retina**. 94 p. Ph. D. Thesis (Cell and Tissue Biology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Recently, the cells from Ciliary Body (CB) were identified in mammal eyes and are considered as a potential source of progenitor/stem cells in the adult retina, however, the mechanisms that control the proliferation and quiescence of these cells are poorly understood. Rho GTPases are known to play a role in actin-based cytoskeleton reorganization, and to regulate multiple signaling pathways that control gene transcription, cell survival and cell proliferation. In the present study we investigated the expression of Rho GTPases in CB cells and their role on cell cycle regulation. All GTPases investigated (RhoA, RhoB and Rac1) were present in CB cells. Rho GTPases activation by lysophosphatidic acid (LPA) increased the expression of the progenitor genes Pax6 and Chx10, but not cell proliferation. On the other hand, Rho proteins inhibition by *Clostridium difficile* Toxin A increased the proliferation of CB cells and potentiated the proliferative effect of growth factors. The specific inhibition of Rho and Rac1 also demonstrated proliferative effect on CB cells, specially Rac1, which had an effect similar to the effect of Toxin A. In the cell cycle, the inhibition of these proteins decreased the expression of p21^{cip}, p27^{kip}, p16^{INK4a} and p19^{INK4d} as well as increased Ki67 cyclinA and D1. The Wnt pathway study indicated that Rac1 was capable to regulate β -catenin degradation genes components as well as Lef1. Taken together, these results suggest that the inactivation of Rho GTPases was capable of stimulating the proliferation of quiescent progenitor cells located in CB cells of adult mice as well as regulate the Wnt signaling pathway, and that the activation of these proteins was correlated to progenitor profile induction. These different mechanisms may provide a potential new approach on retinal repair.

Keywords: Ciliary Body. Retinal progenitor cells. Proliferation. RhoGTPases.

1 INTRODUÇÃO

Os olhos são órgãos sensoriais importantes que nos permitem apreciar o mundo em que vivemos, ler e obtermos conhecimento, e nos comunicar uns com os outros através de expressões e artes visuais. A visão é o nosso sentido mais fundamental e o comprometimento deste sentido acarreta em importantes perdas secundárias ao indivíduo afetado, como por exemplo, dificuldade em focar textos escritos, diminuição da capacidade do indivíduo de viver de forma independente acarretando em depressão e ansiedade e diminuição da qualidade de vida. Sabe-se que qualquer grau de perda visual progressiva está associado a um risco aumentado de depressão, contratação de um cuidador e de internação em uma casa de repouso. Pacientes com perda de visão apresentam gastos médicos muito maiores do que pacientes sem prejuízos visuais, e 90% desses gastos não são relacionados à doença, mas à adaptação à doença.

Embora todos os componentes do olho sejam importantes para a percepção visual, o tecido vital para que a visão ocorra é a retina. A retina é essencialmente uma parte do sistema nervoso central que capta diretamente o estímulo externo, em forma de luz e imagens.

1.1 RETINA

A retina madura de todos os vertebrados é composta por sete tipos celulares, incluindo seis tipos neuronais e um tipo glial, todos originados de um mesmo progenitor. Estas células estão distribuídas entre três camadas nucleares intercaladas por duas camadas sinápticas. A camada nuclear externa ou “outer nuclear layer” (ONL) contém os corpos celulares dos fotorreceptores (cones e bastonetes), que são os neurônios sensoriais. A camada nuclear interna ou “inner nuclear layer” (INL) contém os corpos celulares das células bipolares, horizontais e amácrinas, denominadas interneurônios, além dos corpos celulares das células gliais de Müller. A camada de células ganglionares ou “ganglion cell layer” (GCL) contém os corpos celulares das células ganglionares, além das células amácrinas deslocadas. Entre estas três camadas nucleares se encontram duas camadas de contatos sinápticos, denominadas camadas plexiforme externa e interna (Figura 1).

Figura 1– A retina: **(A)** Desenho esquemático das estruturas do olho e localização retiniana. **(B)** Fotomicrografia mostrando os núcleos celulares da retina de camundongo marcados por DAPI, indicando sua divisão laminar. **(C)** Desenho esquemático dos diferentes tipos neuronais retinianos: cones e bastonetes (azul); horizontais (vermelho), bipolares (laranja) e amácrinas (verde); células ganglionares (amarelo). Adaptado de Ventura e Hamassaki-Britto.

1.2 DEGENERAÇÃO RETINIANA

Devido à sua função altamente diferenciada e sua posição anatômica, a retina é susceptível a uma variedade de insultos degenerativos ambientais e genéticos que resultam em perda visual ou cegueira completa, como por exemplo, a *retinitis pigmentosa* (RP). A RP é um grupo heterogêneo de degenerações retinianas caracterizadas por uma perda inicial predominante de bastonetes, resultando em cegueira noturna, campos visuais restritos e alterações do fundo do olho. A genética da RP é complexa e pelo menos 40 genes foram implicados, a maioria que codifica proteínas específicas de fotorreceptores, principalmente bastonetes, componentes

da cascata de fototransdução ou componentes estruturais dessas células (Retinal Information Network – <http://www.sph.uth.tmc.edu/RetNet/>). Disfunção e morte dos cones ocorre após a degeneração dos bastonetes, assim como anormalidades funcionais posteriores a partir de alterações morfológicas de neurônios de segunda-ordem (células bipolares e horizontais) (HUMAYUN et al., 1999; FARISS et al., 2000; MARC e JONES, 2003).

A falta de um tratamento efetivo se deve primariamente à ignorância sobre a etiologia desta doença. Nesse contexto, modelos biológicos com degeneração hereditária ou induzida têm possibilitado abordagens bem sucedidas. No primeiro caso podemos citar o camundongo *rd*, que apresenta uma mutação no gene que codifica para a subunidade β da fosfodiesterase, levando a uma extensa degeneração dos bastonetes nas primeiras semanas de vida pós-natal (BOWES et al., 1990; WRIGHT, 1992) e, posteriormente, a alterações morfológicas de outros tipos celulares e sistemas de neurotransmissão (DUVOISIN et al., 1995; STRETTOI et al., 2002; JONES et al., 2003). Outros modelos incluem o rato Royal College of Surgeons (RCS), que tem uma mutação que leva à falha na fagocitose do segmento externo dos fotorreceptores pelo epitélio pigmentado (LAVAIL, 2004) e o rato S334, que apresenta falha nos aminoácidos C-terminais da proteína rodopsina, gerando segmentos anormais e consequente degeneração dos fotorreceptores (GREEN et al., 2000).

A degeneração induzida, por sua vez, pode ser observada em roedores expostos a níveis excessivos de iluminação constante, resultando em apoptose de fotorreceptores (REMÉ et al., 1998). Tem sido sugerido que os mecanismos que levam à degeneração possam ser similares nos dois casos, visto que alguns dos defeitos moleculares observados na degeneração hereditária podem produzir sinais que equivalem à estimulação luminosa (FAIN e LISMAN, 1993).

Apesar da diversidade etiológica que envolve as patologias da RP em humanos e em modelos animais hereditários (CHANG et al., 1993; PORTERA-CAILLIAU et al., 1994) ou induzidos (HAFEZI et al., 1997a, 1997b; REMÉ et al., 1998), a morte celular dos fotorreceptores por apoptose é uma característica comum.

Várias abordagens têm sido utilizadas para impedir a degeneração e/ou promover a regeneração da retina, incluindo terapia gênica, administração de fatores de crescimento e transplantes. Infelizmente ainda não existem tratamentos efetivos

para conter a degeneração dos fotorreceptores, e as abordagens que visam estimular as potenciais células tronco retinianas têm se mostrado as mais promissoras.

1.3 CAPACIDADE REGENERATIVA: CORPO CILIAR

Em peixes e anfíbios, a capacidade de regeneração retiniana é conhecida já há bastante tempo e ocorre, em parte, através de uma população de células-tronco encontradas na margem periférica da retina, denominada Zona Marginal Ciliar (ZMC) (HOLLYFIELD, 1968; JOHNS, 1977). As observações desta região em peixes levaram à busca por uma região similar em aves e mamíferos.

A neurogênese retiniana normal do olho de pintos se completa por volta dos 12 dias do estágio embrionário, porém foi observado que a retina de pintos pós-eclosão apresenta uma região análoga à ZMC (Figura 2), preservando a capacidade de proliferação celular após estímulo com fatores de crescimento (FGF e EGF) e conseqüente geração de novos neurônios retinianos (FISCHER e REH, 2000). Esta habilidade se perde após as primeiras semanas de vida do animal.

Figura 2– Diagrama esquemático de um corte sagital da região periférica da retina de pintos pós-eclosão mostrando a presença da Zona Marginal Ciliar (ZMC) e o Corpo Ciliar. Adaptado de Fischer e Reh (2003) e Tropepe et al., 2000.

Em mamíferos, a capacidade proliferativa retiniana é bastante reduzida e não há indícios da existência de ZMC nestes animais, de modo que os estudos atuais focalizam principalmente as células do epitélio ciliar (Figura 3), também conhecido como corpo ciliar (CC).

O corpo ciliar é revestido por um epitélio com 2 camadas de células cuboidais: a mais externa pigmentada e contínua ao epitélio pigmentado retiniano, e a mais interna não pigmentada e contínua à retina neural.

Esta estrutura é responsável pela secreção do humor aquoso, que preenche a parte interior do olho, e sustenta o cristalino em seu lugar, alterando sua forma quando necessário (acomodação).

Estudos têm mostrado que células obtidas da região pigmentada do corpo ciliar de mamíferos, também chamada de margem ciliar pigmentada, são capazes de proliferar e expressar marcadores de neurônios e glia retinianos *in vitro* (AHMAD et al., 2000; TROPEPE et al., 2000). Quando cultivadas, estas células evoluem para uma formação em forma de esfera (neuroesferas), comportamento preservado através das espécies e não observado em cultura de células do epitélio pigmentado retiniano (TROPEPE et al., 2000).

Figura 3– Desenho esquemático feito sobre um corte transversal da retina de camundongo adulto corado pelo método de Nissil, evidenciando a margem periférica da retina e o Corpo Ciliar, assim como suas divisões (pars plana e pars plicata) (DEL DEBBIO et al.) (em fase de preparação).

As células-tronco/progenitoras do epitélio ciliar possuem mais genes em comum com os progenitores retinianos precoces do que com os progenitores tardios, sugerindo uma relação mais próxima com estes progenitores precoces (AHMAD et al., 2004). Além disso, estudos apontam que a região do epitélio ciliar, incluindo a *pars plana* e a porção posterior da *pars plicata*, são capazes de produzir neurônios *in vitro*, em resposta aos fatores de crescimento (FISCHER e REH, 2003; DAS et al., 2005).

Essas células têm propriedades de células-tronco neurais, ou seja, células que podem gerar tecido neural com capacidade de diferenciação (GAGE, 2000).

Estudos recentes *in vivo* demonstraram que a injeção de fatores de crescimento foi capaz de ativar as células quiescentes do corpo ciliar, resultando na recapitulação de características embrionárias (expressão das proteínas Nestina, Pax6 e Chx10) e ainda na expressão de proteínas marcadoras da entrada no ciclo celular (ciclina D1 e Ki67) (ABDOUH e BERNIER, 2006).

Até o momento não foram relatados processos migratórios destas células após sua ativação nem diferenciação neuronal *in vivo*, indicando que estas células tronco/ progenitoras se encontram em um ambiente não-propício a estes processos. Por este motivo, a compreensão dos fatores que permeiam este microambiente é fundamental para o controle da ativação destas células e para sua futura migração para o local da lesão retiniana.

1.4 FATORES IMPORTANTES ENVOLVIDOS NO DESENVOLVIMENTO DO OLHO

Vários fatores de transcrição têm sido descritos pela sua importante participação na especificação e desenvolvimento da vesícula óptica (CHOW e LANG, 2001). Mutações desses genes em camundongos ou em humanos freqüentemente geram alterações oftálmicas (GRAW, 2003). Dois fatores de transcrição muito importantes, Chx10 e MITF, são expressos no desenvolvimento da vesícula óptica e são ambos mutuamente exclusivos, temporal e espacialmente (BORA et al., 1998; LIU et al., 1994; NGUYEN e ARNHEITER, 2000). Mutações nesses genes são responsáveis por afetar o desenvolvimento da retina e do epitélio pigmentar retiniano.

Outro fator de transcrição fundamental para a formação retiniana é Pax6, bastante expresso durante o desenvolvimento do cristalino, epitélio da córnea, íris, corpo ciliar, durante o desenvolvimento de todas as camadas da retina neural e no epitélio pigmentar retiniano (WALTHER e GRUSS, 1991; GRINDLEY et al., 1995; HITCHCOCK et al., 1996; KOROMA et al., 1997). Em camundongos knockout para Pax6 os olhos têm seu desenvolvimento interrompido em estágios precoces, apresentando falhas na formação do cristalino (HOGAN et al., 1986; HILL et al., 1991; GRINDLEY et al., 1995). Isso cria problemas para analisar o papel de Pax6 na córnea e retina, onde esse gene normalmente é expresso, porque nunca se formam nesses mutantes, não permitindo a análise de papéis tardios durante a diferenciação dos tecidos. Esses dois fatores (Pax6 e Chx10), quando expressos simultaneamente na mesma célula, caracterizam um estágio de célula progenitora retiniana.

A proteína nestina é um filamento intermediário expresso essencialmente por células neuroepiteliais, glia radial durante o desenvolvimento e células tronco neurais de mamíferos adultos. Esta proteína é expressa por diferentes tipos celulares durante o desenvolvimento, mas sua expressão é transiente e não persiste na idade adulta (a não ser nas células tronco). Durante a diferenciação, a proteína nestina é substituída por filamentos intermediário tecido-específicos, como por exemplo, neurofilamentos durante a neurogênese, e GFAP (glial fibrillary acidic protein) durante a gliogênese. De forma interessante, a nestina tem sua expressão re-induzida em animais adultos em situações patológicas ou durante a regeneração de tecido lesado (LEND AHL et al., 1990).

Musashi é uma família de proteínas ligantes de RNA, conservada entre as espécies e preferencialmente expressa no sistema nervoso. O primeiro membro desta família foi identificado em *Drosophila* e sabe-se que esta proteína desempenha um importante papel na regulação da divisão assimétrica das células precursoras do ectoderma, que originarão os órgãos sensoriais. No sistema nervoso central de larva de *Drosophila*, esta proteína se encontra expressa em neuroblastos proliferantes. Seu análogo detectado em mamíferos denomina-se Musashi-1 e é uma proteína neural ligante de RNA altamente expressa em células tronco neurais fetais e adultas (OKANO et al., 2005).

Outra proteína importante durante o desenvolvimento, principalmente para a diferenciação neuronal no sistema nervoso, é Mash1. Mash1 (ASCL1) é expressa de forma temporal e espacialmente limitada durante o desenvolvimento do sistema

nervoso e determina a regionalização do cérebro e medula (MA et al., 1997; PARRAS et al., 2002). Esta proteína tem importante função na distribuição dos progenitores durante o desenvolvimento cortical (BRITZ et al., 2006) e células progenitoras que expressam Mash1 preferencialmente se diferenciam em neurônios GABAérgicos (KIM et al., 2008; LETINIC et al., 2002). Estudos recentes sugerem que esta proteína é importante no desenvolvimento de neurônios motores após lesão da medula espinhal (HAMADA et al., 2006).

1.5 REGULAÇÃO DO CICLO CELULAR

Vários estudos apontam o aumento de proliferação das células do corpo ciliar após injeções de fatores de crescimento, porém pouco se sabe sobre a regulação do ciclo celular destas células. Sabe-se que o avanço pelo ciclo celular é controlado por proteínas estágio-específicas compostas por ciclinas e quinases dependentes de ciclinas (CDKs) (SHERR e ROBERTS, 1999). A saída do ciclo celular é facilitada através da inibição da formação dos complexos ciclinas-CDKs através dos inibidores das CDKs (CKIs) (SHERR e ROBERTS, 1999). Dados da literatura apontam que a indução da produção de ciclina D1 na fase G1 pode ser regulada por fatores de crescimento e pela adesão celular à matriz extracelular (MEC). A expressão de ciclina D1 tem sido relacionada à sinalização de ERK (da subfamília de MAPKinases), e tanto os fatores de crescimento quanto a MEC podem regular a atividade de ERK na fase G1 (ROOVERS e ASSOIAN, 2000). Já foi descrito que a indução da produção de ciclina D1 requer a ativação de ERK na fase G1 e que a sinalização induzida por fatores de crescimento e MEC é capaz de sustentar a resposta de ERK nesta fase (WEBER et al., 1997; ROOVERS et al., 1999). A desorganização do citoesqueleto de actina por citocalasina D inibe a expressão do mRNA para ciclina D1 na fase G1, sugerindo que a organização do citoesqueleto dependente de integrinas (receptores de MEC) desempenha papel importante no controle da expressão de ciclina D1.

Dentro do microambiente retiniano, além dos fatores que podem estimular a proliferação celular, também existem fatores extrínsecos que inibem a proliferação que ocorre durante a retinogênese tardia (ANCHAN et al., 1991; ANCHAN e REH, 1995). Apesar dos mecanismos moleculares ainda não serem compreendidos, a literatura sugere a presença destes fatores inibitórios da proliferação. Estudos de co-

cultura indicam que neurônios podem inibir proliferação glial (GOMES et al., 1999); por exemplo, a proliferação de células gliais de cerebelo pós-natal pode ser inibida durante co-cultivo com neurônios cerebelares. Uma família de fatores com potencial inibidor de proliferação retiniana é TGF β (Transforming Growth Factor), reconhecida como inibidora de proliferação celular no sistema nervoso (CONSTAM et al., 1994).

O TGF β 1 inibe a proliferação de células não neurais durante o desenvolvimento e no animal adulto através da supressão da transcrição de ciclinas, incluindo ciclina D1 (KO et al., 1994; DATTO et al., 1995; LI et al., 1995; WOLFRAM et al., 2004) e p27 (POLYAC et al., 1994; BOUCHARD et al., 1997; KAMESAKI et al., 1998). Em neurônios, o declínio pós-natal da proliferação de precursores cerebelares é acompanhado do aumento da expressão de TGF β 2 (CONSTAM et al., 1994). Outro membro da família de TGF β , o GDF11, foi descrito como inibidor da proliferação de precursores neuronais em explante de epitélio olfatório de ratos (WU et al., 2003).

Figura 4— Desenho esquemático de algumas proteínas reguladoras do ciclo celular. Adaptado de Kong et al., 2003.

1.6 GTPASES RHO: PAPEL NA RETINA E NO CICLO CELULAR

A família Rho de GTPases é composta por diversas proteínas de baixo peso molecular (21-25 kDa), reguladoras da polimerização de actina para formação de processos associados à motilidade. Estas GTPases também participam da regulação da transcrição gênica, dinâmica dos microtúbulos, apoptose, vias de transporte vesicular e de uma variedade de atividades enzimáticas, inclusive do complexo NADPH oxidase (TAKAI et al., 2001; ETIENNE-MANNEVILLE e HALL, 2002).

As GTPases ciclam entre as formas ativa (ligadas a um GTP) e inativa (ligadas a um GDP). O ciclo entre estas duas formas é regulado por três grupos de proteínas, os fatores de troca de guaninas (GEFs – guanine nucleotide exchange factors), proteínas ativadoras de GTPases (GAPs – GTPase-activating proteins) e os inibidores de dissociação de guaninas (GDIs – guanine nucleotide-dissociation inhibitors) (ROSSMAN et al., 2005; ETIENNE-MANNEVILLE e HALL, 2002) (Figura 5). Os GEFs ativam as GTPases promovendo a liberação do GDP e a ligação ao GTP, e mais de 70 GEFs já foram descritos em seres humanos (GARCIA-MATA e BURRIDGE, 2007). Alguns GEFs podem ativar diferentes GTPases, como por exemplo TIAM1 (T-cell-lymphoma invasion and metastasis-1) que pode ativar Rac1, Rac2 e Rac3. VAV1 pode ativar RhoA, Rac1, RhoG e CDC42 (ROSSMAN et al., 2005). Os GAPs inativam as GTPases aumentando a atividade GTPásica intrínseca destas proteínas, e já foram descritas mais de 80 GAPs em mamíferos. Sua função é preferencialmente sobre uma das GTPases, porém algumas podem agir sobre mais de uma proteína ao mesmo tempo (TCHERKEZIAN e LAMARCHE-VANE, 2007).

Os GDIs se ligam às GTPases Rho mantendo-as no citoplasma, evitando sua interação com os reguladores e alvos (DOVAS e COUCHMAN, 2005).

Figura 5— Desenho esquemático do ciclo de ativação/inativação das GTPases Rho.
Fonte: Etienne-Mannville e Hall, 2002.

Uma vez ligadas ao GTP (ativadas), estas proteínas interagem com seus respectivos efetores e estimulam diversos processos como morfogênese, migração, desenvolvimento neuronal, adesão e transporte de vesículas, além de progressão do ciclo celular, divisão celular e expressão gênica (JAFJE e HALL, 2005). Por exemplo, Rho interage com o efector mDia1, induzindo a nucleação e polimerização de actina, além de promover o alinhamento e a estabilização dos microtúbulos (PALAZZO et al., 2001). Rho age também em ROCK (Rho-kinase) ativando a miosina e filamentos de actina (KIMURA et al., 1996). ROCK é uma serina/treonina kinase que desempenha papel importante na regulação da contração de tecidos musculares e, na retina, foi descrita desenvolvendo um papel essencial no controle da pressão ocular e tratamento de glaucoma (RAO e EPSTEIN, 2007). Rac1 também regula a polimerização de actina durante a extensão de lamelipódios através da interação com o complexo ARP2/3 e também mDia (TAKENAWA e SUETSUGU, 2007). Além disso, Rac1 também tem como efector a proteína PAK (p21-activated kinase) com 6 isoformas já descritas em mamíferos. As proteínas PAK podem regular a cascata de sinalização de MAPK (mitogen-activated protein kinase) através da fosforilação de Raf1 e MEK (KING et al., 1998; SUN et al., 2000) e exercer funções anti e pró-apoptóticas (JAFJE e CHERNOFF, 2002). Na retina, PAK foi descrita por regular a morfogênese de fotorreceptores de drosófilas (SCHNEEBERGER e RAABE, 2003) e na retina de camundongos foi demonstrado o envolvimento de Rac1 e PAK em modelos de degeneração dos fotorreceptores (BELMONTE et al., 2006).

As proteínas Rho mais amplamente distribuídas e estudadas são RhoA, RhoB, Rac1 e Cdc42, essenciais para o desenvolvimento neuronal (LUO, 2002). Diferentes trabalhos, incluindo do nosso laboratório, demonstraram a distribuição de RhoA, RhoB, Rac1 e Cdc42 durante o desenvolvimento da retina de pintos (SANTOS-BREDARIOL et al., 2002) e de camundongos (MITCHELL et al., 2007).

Estas proteínas desempenham papel essencial na regulação da neurogênese, diferenciação e migração celular das células da retina, e suas funções se encontram preservadas entre as espécies (drosófila, aves e mamíferos) (SANTOS-BREDARIOL et al., 2002; YUAN et al., 2003; RUCHHOEFT et al., 1999; MITCHELL et al., 2007). Estes estudos demonstraram que as GTPases RhoA, Rac1 e Cdc42 são expressas na retina durante o estágio embrionário e os níveis de expressão atingem seu máximo no período pós natal (principalmente nos fotorreceptores, células amácrinas, ganglionares e células gliais de Müller), quando os progenitores retinianos estão se diferenciando. Após este período, durante a maturação retiniana, as proteínas apresentam diminuição de expressão. Na retina de pintos RhoB apresentou expressão transiente nas células amácrinas e ganglionares no estágio embrionário, tornando-se restrita às células gliais de Müller após maturação.

Em diferentes espécies algumas proteínas Rho podem ser recrutadas em momentos distintos do desenvolvimento retiniano, desempenhando papéis específicos nos processos de diferenciação celular, migração neuronal, elaboração e plasticidade dendrítica e na formação de sinapses (RUCHHOEFT et al., 1999; LEHMANN et al., 1999; WONG et al., 2000; WONG e WONG, 2000).

Embora tenham sido inicialmente identificadas como agentes reguladores da polimerização de actina, a atividade de RhoA, Rac1 e Cdc42 também é requerida para a entrada no ciclo celular, inclusive após estímulo pelo FGF (OLSON et al., 1995; WELSH et al., 2001). Embora este mecanismo de ação não tenha sido ainda esclarecido, sabe-se que quinases efetoras de RhoA (ROCK, por exemplo) estão envolvidas.

As GTPases Rho afetam componentes-chave da maquinaria do ciclo celular através de múltiplos mecanismos. Vários estudos indicam a ativação da sinalização de MAPK como elemento chave na indução da produção da ciclina D (SASAKI et al., 2001; COLEMAN e MARSHALL, 2001). Sabe-se que a sinalização das GTPases Rho é necessária para a ativação sustentada de ERK em resposta ao estímulo

simultâneo do FGF e de integrinas, e a entrada no ciclo celular requer esta ativação sustentada de ERK, pois induz a expressão de ciclinaD1 de forma fase-específica (G1) (COLEMAN e MARSHALL, 2001). Assoian e Schwartz mostraram em 2001 que, embora a inibição de RhoA bloqueasse a ativação sustentada de ERK, existia uma indução da ciclina D1 vista na fase G0 até a G1. Os autores sugeriram que essa indução não específica à fase G1 seria mediada por Rac1 (e talvez por Cdc42), através da produção de ciclinaD1 de forma independente de ERK, e propuseram que a sinalização de Rho agiria como supressor desta atividade endógena de Rac1 na indução da ciclina D1, prevenindo assim a entrada no ciclo celular em fases não-específicas.

Além da influência na expressão de ciclinaD1, as GTPases também exercem papel importante na regulação dos inibidores de CDK (p21 e p27). Estudos com mutante de RhoA (constitutivamente ativa) mostraram supressão da transcrição de p21 em diferentes linhagens celulares, permitindo assim a progressão para a fase G1 do ciclo celular (AUER et al., 1998; ADNANE et al., 1998). Em linhagens celulares tireoidianas (FRTL-5), a inativação de Rho pode promover a elevação nos níveis de p27, além de inibição da atividade de CDK2 (HIRAI et al., 1997). Em fibroblastos, Rho controla a atividade de ciclinaE/CDK2, facilitando a degradação de p27 através da interação com o efetor ROCK (HU et al., 1999; SAHAI et al., 1999).

1.7 VIAS DE SINALIZAÇÃO IMPORTANTES DURANTE O DESENVOLVIMENTO E GTPASES RHO

Uma via de sinalização dependente de Rho e envolvida na proliferação celular durante o desenvolvimento é a via de sonic hedgehog (Shh), um morfógeno importante para a proliferação e diferenciação de progenitores neurais. Na retina, o Shh promove a proliferação de células precursoras (JENSEN e WALLACE, 1997) e suprime o crescimento axonal de células ganglionares (TROUSSE et al., 2001). Após ligar-se ao receptor Patched (Ptc), a via de sinalização de Shh envolve a ativação de Smoothed (Smo), que atua como um típico receptor acoplado a proteínas G. RhoA e seu efetor ROCK estão envolvidas em diversas respostas celulares mediadas por Shh/Smo, inclusive regulação gênica, inibição do crescimento de neuritos em células de neuroblastoma e proliferação celular (KASAI et al., 2004).

Outra via de sinalização importante para o desenvolvimento que envolve a participação das GTPases Rho é a via de Wnt. A sinalização canônica de Wnt controla a estabilidade de β -catenina. Sob condições normais, o nível de β -catenina é controlado por um complexo que degrada esta proteína, composto por duas kinases GSK-3 (glycogen synthase kinase 3) e CK1 (casein kinase 1), e duas proteínas “scaffold”, Axina (também conhecida por conductina) e APC (adenomatous polyposis coli). Quando esta via é ativada por seus ligantes, este complexo é inativado, levando a um acúmulo de β -catenina no citoplasma, promovendo sua translocação para o núcleo onde, em conjunto com o complexo TCF/LEF, ativa o programa transcricional (GRIGORYAN et al. 2008, HUANG e HE 2008). Toda β -catenina não ligada a uma caderina é ubiquitinada e degradada pelo complexo proteossomo 26S (ABERLE et al., 1997). A degradação de β -catenina é mediada pelo complexo protéico F-box, composto por SCF β -TrCP, que é uma ubiquitina ligase E3 (HART et al., 1998; WU et al., 2003a).

Trabalhos da literatura demonstram a participação de Rho na via canônica de Wnt, indicando que Rac1 esteja relacionada com o transporte de β -catenina entre o núcleo e o citoplasma (HENDERSON e FAGOTTO, 2002). Em culturas de células de câncer de cólon onde a via de Wnt se encontra constitutivamente ativada, o uso de dominante negativo de Rac1 foi capaz de inibir a transcrição de β -catenina/TCF (ESUFALI e BAPAT, 2004) e a inibição de um regulador negativo de Rac1, RacGAP50C, promoveu a sinalização canônica de Wnt em embriões de *Drosophila* (JONES e BEJSOVEC, 2005). Além disso, sabe-se que a ativação de JNK mediada por Rac1 leva a fosforilação de β -catenina e sua translocação para o núcleo (WU et al., 2008). Wnt3a (ligante da via de Wnt) foi descrito por promover a ligação de Rac1 ao GTP e, após ativação da via pelo ligante, Tiam1 (GEF de Rac) foi encontrada co-precipitada com β -catenina (BUONGIORNO et al., 2008). DOCK4, outro GEF específico de Rac, foi observado como um dos integrantes do complexo degradador de β -catenina (UPADHYAY et al., 2008).

Sabe-se que a via canônica de Wnt requer a fosforilação do co-receptor LRP5/6 e trabalhos recentes indicaram que a síntese do lipídeo PIP_2 está envolvida neste processo (PAN et al., 2008, SCHLESSINGER et al., 2009). A síntese de PIP_2 requer a atividade de duas kinases, PIP4K e PIP5K e estas duas enzimas fazem parte da via canônica de Wnt de embriões de *Xenopus* através de sua interação com a proteína Dishevelled.

6 CONCLUSÕES

- 1- As GTPases RhoA, RhoB e Rac1 são expressas de forma diferencial ao longo do corpo ciliar.
- 2- A injeção de LPA, um ativador de GTPases Rho, não altera a distribuição das GTPases estudadas no CC, não aumenta a proliferação celular nem altera a apoptose; no entanto, parece ativar programas internos capazes de induzir a expressão de genes progenitores retinianos.
- 3- A inativação de GTPases Rho pela injeção intraocular de toxina A aumenta a proliferação celular sem alterar a expressão de genes progenitores. Dentre os mecanismos envolvidos neste efeito estão a diminuição da expressão dos transcritos de p21^{cip}, p27^{kip}, p16^{INK4a} e p19^{INK4d} e aumento da expressão de Ki67, CiclinaA e D1.
- 4- O estímulo proliferativo de agentes mitogênicos como FGF2 e insulina em células do CC é potencializado pelo tratamento com toxina A, num efeito somatório.
- 5- O efeito anti-proliferativo do TGF β sobre as células do corpo ciliar pode envolver a ativação de GTPases Rho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

ABDOUH, M.; BERNIER, G. In vivo reactivation of a quiescent cell population located in the ocular ciliary body of adult mammals. **Exp. Eye Res.**, v. 83, n. 1, p. 153-164, 2006.

ABERLE, H.; BAUER, A.; STAPPERT, J.; KISPERS, A.; KEMLER, R. beta-catenin is a target for the ubiquitin-proteasome pathway. **EMBO J.**, v. 16, n. 13, p. 3797-3804, 1997.

ADNANE, J.; BIZOUARN, F.A.; QIAN, Y.; HAMILTON, A.D.; SEBTI, S.M. p21(WAF1/CIP1) is upregulated by the geranylgeranyltransferase I inhibitor GGTI-298 through a transforming growth factor beta- and Sp1-responsive element: involvement of the small GTPase rhoA. **Mol. Cell Biol.**, v. 18, n. 12, p. 6962-6970, 1998.

AHMAD, I.; DAS, A.V.; JAMES, J.; BHATTACHARYA, S.; ZHAO, X. Neural stem cells in the mammalian eye: types and regulation. **Semin. Cell Dev. Biol.**, v. 15, n. 1, p. 53-62, 2004.

AHMAD, I.; TANG, L.; PHAM, H. Identification of neural progenitors in the adult mammalian eye. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 270, n. 2, p. 517-521, 2000.

AKTORIES, K.; JUST, I. Monoglucosylation of low-molecular-mass GTP-binding Rho proteins by clostridial cytotoxins. **Trends Cell Biol.**, v. 5, n. 12, p. 441-443, 1995.

AKTORIES, K.; JUST, I. Monoglucosylation of low-molecular-mass GTP-binding Rho proteins by clostridial cytotoxins. **Trends Cell Biol.**, v. 5, n. 12, p. 441-443, 1995.

ANCHAN, R.M.; REH, T.A. Transforming growth factor-beta-3 is mitogenic for rat retinal progenitor cells in vitro. **J. Neurobiol.**, v. 28, n. 3, p. 133-145, 1995.

ANCHAN, R.M.; REH, T.A.; ANGELLO, J.; BALLIET, A.; WALKER, M. EGF and TGF- α stimulate retinal neuroepithelial cell proliferation in vitro. **Neuron**, v. 6, p. 923-936, 1991.

ASSOIAN, R.K.; SCHWARTZ, M.A. Coordinate signaling by integrins and receptor tyrosine kinases in the regulation of G1 phase cell-cycle progression. **Curr. Opin. Genet. Dev.**, v. 11, n. 1, p. 48-53, 2001

AUER, K.L.; CONTESSA, J.; BRENN-VERCA, S.; PIROLA, L.; RUSCONI, S.; COOPER, G.; ABO, A.; WYMAN, M.P.; DAVIS, R.J.; BIRNER, M.; DENT, P. The Ras/Rac1/Cdc42/SEK/JNK/c-Jun cascade is a key pathway by which agonists stimulate DNA synthesis in primary cultures of rat hepatocytes. **Mol. Biol. Cell**, v. 9, n. 3, p. 561-573, 1998.

¹ De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BAUDHUIM, L.M.; CRISTINA, K.L.; LU, J.; XU, Y. Akt activation induced by lysophosphatidic acid and sphingosine-1-phosphate requires both mitogen-activated protein kinase kinase and p38 mitogen-activated protein kinase and is cell-line specific. **Mol. Pharmacol.**, v. 62, n. 3, p. 660-671, 2002.

BELECKY-ADAMS, T.; TOMAREV, S.; LI H.S.; PLODER, L.; MCINNES, R.R.; SUNDIN, O.; ADLER, R. Pax-6, Prox 1, and Chx10 homeobox gene expression correlates with phenotypic fate of retinal precursor cells. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 38, n. 7, p. 1293-1303, 1997.

BELMONTE, M.A.; SANTOS, M.F.; KIHARA, A.H.; YAN, C.Y.; HAMASSAKI, D.E. Light-Induced photoreceptor degeneration in the mouse involves activation of the small GTPase Rac1. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 47, n. 3, p. 1193-1200, 2006.

BERNARDS, A.; SETTLEMAN, J. GAPs in growth factor signalling. **Growth Factors**, v. 23, n. 2, p. 143-149, 2005.

BHOWMICK, N. A.; GHIASSI, M.; AAKRE, M.; BROWN, K.; SINGH, V.; MOSES, H.L. TGF-beta-induced RhoA and p160ROCK activation is involved in the inhibition of Cdc25A with resultant cell-cycle arrest. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 23, n. 26, p. 15548-15453, 2003.

BIKKAVILLI, R.K.; FEIGIN, M.E.; MALBON, C.C. p38 mitogen-activated protein kinase regulates canonical Wnt-beta-catenin signaling by inactivation of GSK3beta. **J. Cell Sci.**, v. 1, n. 21, p. 3598-3607, 2008.

BIRUKOVA, A.A.; SMUROVA, K.; BIRUKOV, K.G.; USATYUK, P.; LIU, F.; KAIBUCHI, K.; RICKS-CORD, A.; NATARAJAN, V.; ALIEVA, I.; GARCIA, J.G.; VERIN, A.D. Microtubule disassembly induces cytoskeletal remodeling and lung vascular barrier dysfunction: role of Rho-dependent mechanisms. **J. Cell Physiol.**, v. 201, n. 1, p. 55-70, 2004.

BORA, N.; CONWAY, S.J.; LIANG, H.; SMITH, S.B. Transient overexpression of the Microphthalmia gene in the eyes of Microphthalmia vitiligo mutant mice. **Dev. Dyn.**, v. 213, n. 3, p. 283-292, 1998.

BOUCHARD, C.; FRIDMAN, W.H.; SAUTES, C. Effect of TGF-beta1 on cell cycle regulatory proteins in LPS-stimulated normal mouse B lymphocytes. **J. Immunol.**, v. 159, n. 9, p. 4155-4164, 1997.

BOWES, C.; LI, T.; DANCIGER, M.; BAXTER, L.C.; APPLEBURY, M.L.; FARBER, D.B. Retinal degeneration in the rd mouse is caused by a defect in the beta subunit of rod cGMP-phosphodiesterase. **Nature**, v. 347, p. 677-680, 1990.

BRITZ, O.; MATTAR, P.; NGUYEN, L.; LANGEVIN, L.M.; ZIMMER, C.; ALAM, S.; GUILLEMOT, F.; SCHUURMANS, C. A role for proneural genes in the maturation of cortical progenitor cells. **Cereb. Cortex**, v. 16, n. 1, p. 138-151, 2006.

BUONGIORNO, P.; PETHE, V. V.; CHARAMES, G.S.; ESUFALI, S.; BAPAT, B. Rac1GTPase and the Rac1 exchange factor Tiam1 associate with Wnt-responsive promoters to enhance beta-catenin/TCF-dependent transcription in colorectal cancer cells. **Mol. Cancer**, v. 30, n. 7, p. 68-73, 2008.

BURMEISTER, M.; NOVAK, J.; LIANG, M.Y.; BASU, S.; PLODER, L.; HAWES, N. L.; VIDGEN, D.; HOOVER, F.; GOLDMAN, D.; KALNINS, V. I.; RODERIK, T.H.; TAYLOR, B.A.; HANKIN, M.H.; MCINNES, R.R. Ocular retardation mouse caused by Chx10 homeobox null allele: impaired retinal progenitor proliferation and bipolar cell differentiation. **Nat. Genet.**, v. 12, n. 4, p. 376-384, 1996.

CAVERZASIO, J.; MANEN, D. Essential role of Wnt3a-mediated activation of mitogen-activated protein kinase p38 for the stimulation of alkaline phosphatase activity and matrix mineralization in C3H10T1/2 mesenchymal cells. **Endocrinology**, v. 48, n. 11, p. 5323-5330, 2007.

CHANG, G.; HAO, Y.; WONG, F. Apoptosis: final common pathway of photoreceptor death in rd, rds, and rhodopsin mutant mice. **Neuron**, v. 11, p. 595-605, 1993.

CHANG, J.; SONOYAMA, W.; WANG, Z.; JIN, Q.; ZHANG, C.; KREBSBACH, P. H.; GIANNOBILE, W.; SHI, S.; WANG, C.Y. Noncanonical Wnt-4 signaling enhances bone regeneration of mesenchymal stem cells in craniofacial defects through activation of p38 MAPK. **J. Biol. Chem.**, v. 19, n. 42, p. 30938-30948, 2007.

CHO, H.J.; YOO, J. Rho activation is required for transforming growth factor-beta-induced epithelial-mesenchymal transition in lens epithelial cells. **Cell Biol. Int.**, v. 31, n. 10, p. 1225-1230, 2007.

CHOW, R.L.; LANG, R.A. Early eye development in vertebrates. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 17, p. 255-296, 2001.

CICERO, S.A.; JOHNSON, D.; REYNTJENS, S.; FRASE, S.; CONNELL, S.; CHOW, L.M.; BAKER, S.J.; SORRENTINO, B.P.; DYER, M.A. Cells previously identified as retinal stem cells are pigmented ciliary epithelial cells. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 21, n. 16, p. 6685-6690, 2009.

CLOSE, J.L.; GUMUSCU, B.; REH, T.A. Retinal neurons regulate proliferation of postnatal progenitors and Müller glia in the rat retina via TGF β signaling. **Development**, v. 132, n. 13, p. 3015-3026, 2005.

CLOSE, J.L.; LIU, J.; GUMUSCU, B.; REH, T.A. Epidermal growth factor receptor expression regulates proliferation in the postnatal rat retina. **Glia**, v. 1, n. 2, p. 94-104, 2006.

COLEMAN, M.L.; MARSHALL, C.J. A family outing: small GTPases cyclin' through G1. **Nat. Cell Biol.**, v. 3, n. 11, p. 250-251, 2001.

CONSTAN, D.B.; SCHIMID, P.; AGUZZI, A.; SCHACHNER, M.; FONTANA, A. Transient production of TGF-beta-2 by postnatal cerebellar neurons and its effect on neuroblast proliferation. **Eur. J. Neurosci.**, v. 6, p. 766-778, 1994.

DAS, A.V.; JAMES, J.; RAHNENFÜHRER, J.; THORESON, W.B.; BHATTCHARYA, S.; ZHAO, X.; AHMAD, I. Retinal properties and potencial of the adult mammalian ciliary epithelium stem cell. **Vision Res.**, v. 45, p. 1653-1666, 2005.

DAS, A.V.; MALLYA, K.B.; ZHAO, X.; AHMAD, F.; BHATTACHARYA, S.; THORESON, W.B.; HEGDE, G.V.; AHMAD, I. Neural stem cell properties of Müller glia in the mammalian retina: regulation by Notch and Wnt signaling. **Dev. Biol.**, v. 1, n. 1, p. 283-302, 2006.

DATTO, M.B.; LI, Y.; PANUS, J.F.; HOWE, D.J.; XIONG, Y.; WANG, X.F. Transforming growth factor beta induces the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 through a p53-independent mechanism. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 92, n. 12, p. 5545-5549, 1995.

DE VRIES, B.; MATTHIJSEN, R.A.; VAN BIJNEN, A.A.; WOLF, T.G.; BUURMAN, W.A. Lysophosphatidic acid prevents renal ischemia-reperfusion injury by inhibition of apoptosis and complement activation. **Am. J. Pathol.**, v. 163, n. 1, p. 47-56, 2003.

DENG, W.; BALAZS, L.; WANG, D.A.; VAN MIDDLESWORTH, L.; TIGYI, G.; JOHNSON, L.R. Lysophosphatidic acid protects and rescues intestinal epithelial cells from radiation- and chemotherapy-induced apoptosis. **Gastroenterology**, v. 123, n. 1, p. 206-216, 2002.

DOVAS, A.; COUCHMAN, J.R. RhoGDI : multiple functions in the regulation of Rho family GTPase activities. **Biochem. J.**, v. 15, n. 390, p. 1-9, 2005.

DUVOISIN, R.M.; ZHANG, C.; HAMASSAKI-BRITTO, D.E.; BRITTO, L.R. Changes in expression of glutamate receptor subunits following photoreceptor degeneration in the rd mouse retina. **Neurosci. Lett.**, v. 183, n. 2, p. 83-86, 1995.

DYER, M.A.; CEPKO, C.L. Control of Müller glial cell proliferation and activation following retinal injury. **Nat. Neurosci.**, v. 3, n. 9, p. 873-880, 2000.

E, S.; LAI, Y.J.; TSUKAHARA, R.; CHEN, C.S.; FUJIWARA, Y.; YUE, J.; YU, J.H.; GUO, H.; KIHARA, A.; TIGYI, G.; LIN, F.T. Lysophosphatidic acid 2 receptor-mediated supramolecular complex formation regulates its antiapoptotic effect. **J. Biol. Chem.**, v. 22, n. 21, p. 14558-145571, 2009.

EDLUND, S.; LANDSTRÖM, M.; HELDIN, C.H.; ASPENSTRÖM, P. Transforming growth factor-beta-induced mobilization of actin cytoskeleton requires signaling by small GTPases Cdc42 and RhoA. **Mol. Biol. Cell.**, v. 13, n. 3, p. 902-914, 2002.

EICHHOLTZ, T.; JALINK, K.; FAHRENFORT, I.; MOOLENAAR, W.H. The bioactive phospholipid lysophosphatidic acid is released from activated platelets. **Biochem. J.**, v. 291, p. 677- 680, 1993.

ESUFALI, S.; BAPAT, B. Cross-talk between Rac1 GTPase and dysregulated Wnt signaling pathway leads to cellular redistribution of beta-catenin and TCF/LEF-mediated transcriptional activation. **Oncogene**, v. 28, n. 50, p. 8260-8271, 2004.

ETIENNE-MANNEVILLE, S.; HALL, A. Rho GTPases in cell biology. **Nature**, v. 420, p. 629-635, 2002.

FAIN, G.L.; LISMAN, J.E. Photoreceptor degeneration in vitamin A deprivation and retinitis pigmentosa: the equivalent light hypothesis. **Exp. Eye Res.**, v. 57, n. 3, p. 335-340, 1993.

FARISS, R.N.; LI, Z.Y.; MILAM, A.H. Abnormalities in rod photoreceptors, amacrine cells, and horizontal cells in human retinas with retinitis pigmentosa. **Am. J. Ophthalmol.**, v. 129, n. 2, p. 215-23, 2000.

FISHER, A.J.; REH, T.A. Growth factors induce neurogenesis in the ciliary body. **Dev. Biol.**, v. 259, p. 225-240, 2003.

FISHER, A.J.; REH, T.A. Identification of a proliferating marginal zone of retinal progenitors in postnatal chickens. **Dev. Biol.**, v. 220, n. 2, p. 197-210, 2000.

GAGE, F.H. Mammalian neural stem cells. **Science**, v. 287, n. 5457, p. 1433-1438, 2000.

GAO, Y.; DICKERSON, J.B.; GUO, F.; ZHENG, J.; ZHENG, Y. Rational design and characterization of a Rac GTPase-specific small molecule inhibitor. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 101, n. 20, p. 7618-7623, 2004.

GARCÍA-MATA, R.; BURRIDGE, K. Catching a GEF by its tail. **Trends Cell Biol.**, v. 7, n. 1, p. 36-43, 2006.

GHIAUR, G.; LEE, A.; BAILEY, J.; CANCELAS, J.A.; ZHENG, Y.; WILLIAMS, D.A. Inhibition of RhoA GTPase activity enhances hematopoietic stem and progenitor cell proliferation and engraftment. **Blood**, v. 15, n. 6, p. 2087-2094, 2006.

GOETZL, E.J.; DOLEZALOVA, H.; KONG, Y.; ZENG, L. Dual mechanisms for lysophospholipid induction of proliferation of human breast carcinoma cells. **Cancer Res.**, v. 15, n. 18, p. 4732-4737, 1999.

GOMES, F.C.; GARCIA-ABREU, J.; GALOU, M.; PAULIN, D.; MOURA NETO, V. Neurons induce GFAP gene promoter of culture astrocytes from transgenic mice. **Glia**, v. 26, p. 97-108, 1999.

GONZÁLEZ-SCARANO, F.; BALTUCH, G. Microglia as mediators of inflammatory and degenerative diseases. **Annu. Rev. Neurosci.**, v. 22, p. 219-240, 1999.

GRAW, J. The genetic and molecular basis of congenital eye defects. **Nat. Rev. Genet.**, v. 4, n. 11, p. 876-888, 2003.

GREEN, E.S.; MENZ, M.D.; LAVAIL, M.M.; FLANNERY, J.G. Characterization of rhodopsin mis-sorting and constitutive activation in a transgenic rat model of retinitis pigmentosa. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 41, n. 6, p. 1546-1553, 2000.

GRIGORYAN, T.; WEND, P.; KLAUS, A.; BIRCHMEIER, W. Deciphering the function of canonical Wnt signals in development and disease: conditional loss- and gain-of-function mutations of beta-catenin in mice. **Genes Dev.**, v. 22, n. 17, p. 2308-2341, 2008.

GRINDLEY, J.C.; DAVIDSON, D.R.; HILL, R.E. The role of Pax-6 in eye and nasal development. **Development**, v. 121, n. 5, p. 1433-1442, 1995.

HAFEZI, F.; MARTI, A.; MUNZ, K.; REME, C.E. Light-induced apoptosis: differential timing in the retina and pigment epithelium. **Exp. Eye Res.**, v. 64, p. 963-970, 1997.

HAMADA, M.; YOSHIKAWA, H.; UEDA, Y.; KUROKAWA, M.S.; WATANABE, K.; SAKAKIBARA, M.; TADOKORO, M.; AKASHI, K.; AOKI, H.; SUZUKI, N. Introduction of the MASH1 gene into mouse embryonic stem cells leads to differentiation of motoneuron precursors lacking Nogo receptor expression that can be applicable for transplantation to spinal cord injury. **Neurobiol. Dis.**, v. 22, n. 3, p. 509-522, 2006.

HART, M.J.; DE LOS SANTOS, R.; ALBERT, I.N.; RUBINFELD, B.; POLAKIS, P. Downregulation of beta-catenin by human Axin and its association with the APC tumor suppressor, beta-catenin and GSK3 beta. **Curr. Biol.**, v. 8, n. 10, p. 573-581, 1998.

HENDERSON, B.R.; FAGOTTO, F. The ins and outs of APC and beta-catenin nuclear transport. **EMBO Rep.**, v. 3, n. 9, p. 834-839, 2002

HENDERSON, B.R.; FAGOTTO, F. The ins and outs of APC and beta-catenin nuclear transport. **EMBO Rep.**, v. 3, n. 9, p. 834-839, 2002.

HILAL-DANDAN, R.; MEANS, C.K.; GUSTAFSSON, A.B.; MORISSETTE, M.R.; ADAMS, J.W.; BRUNTON, L.L.; HELLER BROWN, J. Lysophosphatidic acid induces hypertrophy of neonatal cardiac myocytes via activation of Gi and Rho. **J. Mol. Cell Cardiol.**, v. 36, n. 4, p. 481-493, 2004.

HILL, M.E.; ASA, S.L.; DRUCKER, D.J. Essential requirement for Pax6 in control of enteroendocrine proglucagon gene transcription. **Mol. Endocrinol.**, v. 13, n. 9, p. 1474-1486, 1999.

HILL, R.E.; FAVOR, J.; HOGAN, B.L.; TON, C.C.; SAUDERS, G.F.; HANSON, I.M.; PROSSER, J.; JORDAN, T.; HASTIE, N. D.; VAN HEYNINGEN, V. Small eye results from mutation in a paired-like homeobox-containing gene. **Nature**, v. 354, p. 522-525, 1991.

HIRAI, A.; NAKAMURA, S.; NOGUCHI, Y.; YASUDA, T.; KITAGAWA, M.; TATSUNO, I.; OEDA, T.; TAHARA, K.; TERANO, T.; NARUMIYA, S.; KOHN, L.D.; SAITO, Y. Geranylgeranylated rho small GTPase(s) are essential for the degradation of p27Kip1 and facilitate the progression from G1 to S phase in growth-stimulated rat FRTL-5 cells. **J. Biol. Chem.**, v. 272, n. 1, p. 13-16, 1997.

HIROSE, K.; KAWASHIMA, T.; IWAMOTO, I.; NOSAKA, T.; KITAMURA, T. MgcRacGAP is involved in cytokinesis through associating with mitotic spindle and midbody. **J. Biol. Chem.**, v. 276, n. 8, p. 5821-5828, 2001.

HITCHCOCK, P. F.; MACDONALD, R.E.; VANDERYT, J.T.; WILSON, S.W. Antibodies against Pax6 immunostain amacrine and ganglion cells and neuronal progenitors, but not rod precursors, in the normal and regenerating retina of the goldfish. **J. Neurobiol.**, v. 29, n. 3, p. 399-413, 1996.

HOGAN, B.L.; HORSBURGH, G.; COHEN, J.; HETHERINGTON, C.M.; FISHER, G.; LYON, M.F. Small eyes (Sey): a homozygous lethal mutation on chromosome 2 which affects the differentiation of both lens and nasal placodes in the mouse. **J. Embryol. Exp. Morphol.**, v. 97, p. 95-110, 1986.

HOLLYFIELD, J.G. Differential addition of cells to the retina in *Rana pipiens* tadpoles. **Dev. Biol.**, v. 18, n. 2, p. 163-79, 1968.

HU, W.; BELLONE, C.J.; BALDASSARE, J.J. RhoA stimulates p27(Kip) degradation through its regulation of cyclin E/CDK2 activity. **J. Biol. Chem.**, v. 5, n. 6, p. 3396-3401, 1999.

HUANG, H.; HE, X. Wnt/beta-catenin signaling: new (and old) players and new insights. **Curr. Opin. Cell Biol.**, v. 20, n. 2, p. 119-125, 2008.

HUMAYUN, M.S.; PRINCE, M.; DE JUAN, E.; BARRON, Y.; MOSKOWITZ, M.; KLOCK, I.B.; MILAM, A.H. Morphometric analysis of the extramacular retina from postmortem eyes with retinitis pigmentosa. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 40, n. 1, p. 143-148, 1999.

ISHITANI, T.; NINOMIYA-TSUJI, J.; NAGAI, S.; NISHITA, M.; MENEGHINI, M.; BARKER, N.; WATERMAN, M.; BOWERMAN, B.; CLEVERS, H.; SHIBUYA, H.; MATSUMOTO, K. The TAK1-NLK-MAPK-related pathway antagonizes signalling between beta-catenin and transcription factor TCF. **Nature**, v. 24, p. 798-802, 1999.

JADHAV, A.P.; ROESCH, K.; CEPKO, C.L. Development and neurogenic potential of Müller glial cells in the vertebrate retina. **Prog. Retin. Eye Res.**, v. 28, n. 4, p. 249-262, 2009.

JAFFE, A.B.; HALL, A. Rho GTPases: biochemistry and biology. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 21, p. 247-269, 2005.

JAMES, J.; DAS, A.; RAHNENFUHER, J.; AHMAD, I. Cellular and molecular characterization of early and late retinal stem cell/progenitors: Differential regulation of proliferation and context dependent role of notch signaling. **J. Neurobiol.**, v. 6, n. 3, p. 359-376, 2004.

JENSEN, A.M.; WALLACE, V. A. Expression of Sonic hedgehog and its putative role as a precursor cell mitogen in the developing mouse retina. **Development**, v. 124, n. 2, p. 363-371, 1997.

JOHNS, P. R. Growth of the adult goldfish eye. III. Source of the new retinal cells. **J. Comp. Neurol.**, v. 176, n. 3, p. 343-357, 1977.

JONES, B.W.; WATT, C.B.; FREDERICK, J.M.; BAEHR, W.; CHEN, C.K.; LEVINE, E.M.; MILAM, A.H.; LAVAIL, M.M.; MARC, R.E. Retinal remodeling triggered by photoreceptor degenerations. **J. Comp. Neurol.**, v. 464, n. 1, p. 1-16, 2003.

JONES, W.M.; BEJSOVEC, A. RacGap50C negatively regulates wingless pathway activity during *Drosophila* embryonic development. **Genetics**, v. 169, n. 4, p. 2075-2086, 2005.

KAMESAKI, H.; NISHIZAWA, K.; MICHAUD, G.Y.; COSSMAN, J.; KIYONO, T. TGF-beta 1 induces the cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 mRNA and protein in murine B cells. **J. Immunol.**, v. 15, n. 2, p. 770-777, 1998.

KARDASSIS, D.; MURPHY, C.; FOTSIS, T.; MOUSTAKAS, A.; STOURNARAS, C. Control of transforming growth factor beta signal transduction by small GTPases. **FEBS J.**, v. 276, n. 11, p. 2947-2965, 2009.

KASAI, K.; TAKAHASHI, M.; OSUMI, N.; SINNARAJAH, S.; TAKEO, T.; IKEDA, H.; KEHRL, J.H.; ITOH, G.; ARNHEITER, H. The G12 family of heterotrimeric G proteins and Rho GTPase mediate Sonic hedgehog signalling. **Genes Cells**, v. 9, n. 1, p. 49-58, 2004.

KAWASHIMA, T.; HIROSE, K.; SATOH, T.; KANEKO, A.; IKEDA, Y.; KAZIRO, Y.; NOSAKA, T.; KITAMURA, T. MgcRacGAP is involved in the control of growth and differentiation of hematopoietic cells. **Blood**, v. 15, n. 6, p. 2116-2124, 2000.

KIKUCHI, A. Tumor formation by genetic mutations in the components of the Wnt signaling pathway. **Cancer Sci.**, v. 94, n. 3, p. 225-229, 2003.

KIM, E.J.; BATTISTE, J.; NAKAGAWA, Y.; JOHNSON, J.E. Asc11 (Mash1) lineage cells contribute to discrete cell populations in CNS architecture. **Mol. Cell Neurosci.**, v. 38, n. 4, p. 595-606, 2008.

KIM, H.P.; KIM, T.Y.; LEE, M.S.; JONG, H.S.; KIM, T.Y.; LEE, J.W.; BANG, Y.J. TGF-beta1-mediated activations of c-Src and Rac1 modulate levels of cyclins and p27(Kip1) CDK inhibitor in hepatoma cells replated on fibronectin. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 22, n. 1-2, p. 151-161, 2005.

KIMURA, K.; ITO, M.; AMANO, M.; CHIHARA, K.; FUKATA, Y.; NAKAFUKU, M.; YAMAMORI, B.; FENG, J.; NAKANO, T.; OKAWA, K.; IWAMATSU, A.; KAIBUCHI, K. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). **Science**, v. 12, n. 273, p. 245-248, 1996.

KING, A.J.; SUN, H.; DIAZ, B.; BARNARD, D.; MIAO, W.; BAGRODIA, S.; MARSHALL, M.S. The protein kinase Pak3 positively regulates Raf-1 activity through phosphorylation of serine 338. **Nature**, v. 12, n. 396, p. 180-183, 1998.

KINGSBURY, M.A.; REHEN, S.K.; CONTOS, J.J.; HIGGINS, C.M.; CHUN, J. Non-proliferative effects of lysophosphatidic acid enhance cortical growth and folding. **Nat. Neurosci.**, v. 6, n. 12, p. 1292-1299, 2003.

KO, T.C.; BEAUCHAMP, R.D.; TOWNSEND, C.M.; THOMPSON, E.A.; THOMPSON, J.C. Transforming growth factor-beta inhibits rat intestinal cell growth by regulating cell cycle specific gene expression. **Am. J. Surg.**, v. 14, p. 19-20, 1994.

KONG, H.J.; YU, H.J.; HONG, S.; PARK, M.J.; CHOI, Y.H.; AN, W.G.; LEE, J.W.; CHEONG, J. Interaction and functional cooperation of the cancer-amplified transcriptional coactivator activating signal cointegrator-2 and E2F-1 in cell proliferation. **Mol. Cancer Res.**, v. 1, n. 13, p. 948-958, 2003.

KOROMA, B.M.; YANG, J.M.; SUNDIN, O.H. The Pax-6 homeobox gene is expressed throughout the corneal and conjunctival epithelia. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 38, n. 1, p. 108-120, 1997.

KREUTZBERG, G.W. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. **Trends Neurosci.**, v. 19, p. 312-318, 1996.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 15, p. 680-685, 1970.

LAVAIL, M.M. Legacy of RCS rat: impact of a seminal study on retinal cell biology and retinal degeneration diseases. **Prog. Brain Res.**, v. 131, p. 617-627, 2004.

LEE, M.; CHOI, S.; HALLDÉN, G.; YO, S.J.; SCHICHNES, D.; APONTE, G.W. P2Y₅ is a G α_i , G $\alpha_{12/13}$ G Protein Coupled Receptor Activated by Lysophosphatidic Acid that Reduces Intestinal Cell Adhesion. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 5, p. 34-37, 2009.

LEHMANN, M.; FOURNIER, A.; SELLES-NAVARRO, I.; DERGHAM, P.; SEBOK, A.; LECLERC, N.; TIGYI, G.; MCKERRACHER, L. Inactivation of Rho signaling pathway promotes CNS axon regeneration. **J. Neurosci.**, v. 1, n. 19, p. 7537-7547, 1999.

LEND AHL, U.; ZIMMERMAN, L.B.; MCKAY, R.D. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. **Cell**, v. 60, n. 4, p. 585-595, 1990.

LETINIC, K.; ZONCU, R.; RAKIC, P. Origin of GABAergic neurons in the human neocortex. **Nature**, v. 6, n. 417, p. 645-649, 2002.

LI, J.M.; NICHOLS, M.A.; CHANDRASEKHARAN, S.; XIONG, Y.; WANG, X.F. Transforming growth factor beta activates the promoter of cyclin-dependent kinase inhibitor p15^{INK4B} through an Sp1 consensus site. **J. Biol. Chem.**, v. 10, n. 45, p. 26750-26753, 1995.

LIU, I.S.; CHEN, J.D.; PLODER, L.; VIDGEN, D.; VAN DER KOOY, D.; KALNINS, V. I.; MCINNES, R.R. Developmental expression of a novel murine homeobox gene (Chx10): evidence for roles in determination of the neuroretina and inner nuclear layer. **Neuron**, v. 13, n. 2, p. 377-393, 1994.

LIU, X.; HOU, J.; SHI, L.; CHEN, J.; SANG, J.; HU, S.; CONG, X.; CHEN, X. Lysophosphatidic acid protects mesenchymal stem cells against ischemia-induced apoptosis in vivo. **Stem Cells Dev.**, v. 18, n. 7, p. 947-954, 2009.

LUO, L. Actin cytoskeleton regulation in neuronal morphogenesis and structural plasticity. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 18, p. 601-35, 2002.

MA, Q.; SOMMER, L.; CSERJESI, P.; ANDERSON, D.J. Mash1 and neurogenin1 expression patterns define complementary domains of neuroepithelium in the developing CNS and are correlated with regions expressing notch ligands. **J. Neurosci.**, v. 17, n. 10, p. 3644-3652, 1997.

MARC, R.E.; JONES, B.W. Retinal remodeling in inherited photoreceptor degenerations. **Mol. Neurobiol.**, v. 28, n. 2, p. 139-147, 2003.

MICHAELSON, D.; ABIDI, W.; GUARDAVACCARO, D.; ZHOU, M.; AHEARN, I.; PAGANO, M.; PHILIPS, M.R. Rac1 accumulates in the nucleus during the G2 phase of the cell cycle and promotes cell division. **J. Cell. Biol.**, v. 5, n. 3, p. 485-496, 2008.

MINAMOTO, T.; OUGOLKOV, A.V.; MAI, M. Detection of oncogenes in the diagnosis of cancers with active oncogenic signaling. **Expert. Rev. Mol. Diagn.**, v. 2, n. 6, p565-575, 2002.

MITCHELL, D.C.; BRYAN, B.A.; LIU, J.P.; LIU, W.B.; ZHANG, L.; QU, J.; ZHOU, X.; LIU, M.; LI, D.W. Developmental expression of three small GTPases in the mouse eye. **Mol. Vis.**, v. 13, n. 13, p. 1144-1153, 2007.

MOLLER, T.; CONTOS, J.J.; MUSANTE, D.B.; CHUN, J.; RANSOM, B.R. Expression and function of lysophosphatidic acid receptors in cultured rodent microglial cells. **J. Biol. Chem.**, v. 13, n. 28, p. 25946-25952, 2001.

NGUYEN, M.; ARNHEITER, H. Signaling and transcriptional regulation in early mammalian eye development: a link between FGF and MITF. **Development**, v. 127, n. 16, p. 3581-3591, 2000.

OKANO, H.; KAWAHARA, H.; TORIYA, M.; NAKAO, K.; SHIBATA, S.; IMAI, T. Function of RNA-binding protein Musashi-1 in stem cells. **Exp. Cell Res.**, v. 306, n. 2, p. 349-356, 2005.

OLSON, M.F.; ASHWORTH, A.; HALL, A. An essential role for Rho, Rac, and Cdc42 GTPases in cell cycle progression through G1. **Science**, v. 269, n. 5228, p. 1270-1272, 1995.

OLSON, M.F.; PATERSON, H.F.; MARSHALL, C.J. Signals from Ras and Rho GTPases interact to regulate expression of p21Waf1/Cip1. **Nature**, v. 16, p. 295-299, 1998.

OUCHI, Y.; TABATA, Y.; ARAI, K.; WATANABE, S. Negative regulation of retinal-neurite extension by beta-catenin signaling pathway. **J. Cell Sci.**, v. 1, n. 118, p. 4473-4483, 2005.

PALAZZO, A.F.; JOSEPH, H.L.; CHEN, Y.J.; DUJARDIN, D.L.; ALBERTS, A.S.; PFISTER, K.K.; VALLEE, R.B.; GUNDERSEN, G.G. Cdc42, dynein, and dynactin regulate MTOC reorientation independent of Rho-regulated microtubule stabilization. **Curr. Biol.**, v. 2, n. 11, p. 1536-1541, 2001.

PAN, W.; CHOI, S.C.; WANG, H.; QIN, Y.; VOLPICELLI-DALEY, L.; SWAN, L.; LUCAST, L.; KHOO, C.; ZHANG, X.; LI, L.; ABRAMS, C.S.; SOKOL, S.Y.; WU, D. Wnt3a-mediated formation of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate regulates LRP6 phosphorylation. **Science**, v. 5, n. 321, p. 1350-1353, 2008.

PARRAS, C.M.; HUNT, C.; SUGIMORI, M.; NAKAFUKU, M.; ROWITCH, D.; GUILLEMOT, F. The proneural gene Mash1 specifies an early population of telencephalic oligodendrocytes. **J. Neurosci.**, v. 27, n. 16, p. 4233-4242, 2007.

POLYAK, K.; KATO, J.Y.; SOLOMON, M.J.; SHERR, C.J.; MASAGUE, J.; ROBERTS, J.M.; KOFF, A. p27Kip1, a cyclin-Cdk inhibitor, links transforming growth factor-beta and contact inhibition to cell cycle arrest. **Genes Dev.**, v. 8, n. 1, p. 9-22, 1994.

PORTERA-CAILLIAU, C.; SUNG, C.H.; NATHANS, J.; ADLER, R. Apoptotic photoreceptor cell death in mouse models of retinitis pigmentosa. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 91, p. 974-978, 1994.

RADEFF-HUANG, J.; SEASHOLTZ, T.M.; MATTEO, R.G.; BROWN, J.H. G protein mediated signaling pathways in lysophospholipid induced cell proliferation and survival. **J. Cell Biochem.**, v. 1, n. 5, p949-966, 2004.

RAO, V. P.; EPSTEIN, D.L. Rho GTPase/Rho kinase inhibition as a novel target for the treatment of glaucoma. **BioDrugs**, v. 21, n. 3, p. 167-177, 2007.

REH, T.A.; FISCHER, A.J. Stem cells in the vertebrate retina. **Brain Behav. Evol.**, v. 58, n. 5, p. 296-305, 2001.

REMÉ, C.E.; GRIMM, C.; HAFEZI, F.; MARTI, A.; WENZEL, A. Apoptotic cell death in retinal degenerations. **Prog. Retin. Eye Res.**, v. 17, n. 4, p. 443-464, 1998.

RHEE, K. D.; YANG, X. J. Expression of cytokine signal transduction components in the postnatal mouse retina. **Mol. Vis.**, v. 9, p. 715-722, 2003.

ROOVERS, K.; ASSOIAN, R.K. Integrating the MAP kinase signal into the G1 phase cell cycle machinery. **Bioessays**, v. 22, n. 9, p. 818-826, 2000.

ROOVERS, K.; DAVEY, G.; ZHU, X.; BOTTAZZI, M.E.; ASSOIAN, R.K. Alpha5beta1 integrin controls cyclin D1 expression by sustaining mitogen-activated protein kinase activity in growth factor-treated cells. **Mol. Biol. Cell.**, v. 10, n. 10, p. 3197-3204, 1999.

ROOVERS, K.; DAVEY, G.; ZHU, X.; BOTTAZZI, M.E.; ASSOIAN, R.K. Alpha5beta1 integrin controls cyclin D1 expression by sustaining mitogen-activated protein kinase activity in growth factor-treated cells. **Mol. Biol. Cell.**, v. 10, n. 10, p. 3197-3204, 1999.

ROSSMAN, K.L.; DER, C.J.; SONDEK, J. GEF means go: turning on RHO GTPases with guanine nucleotide-exchange factors. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, v. 6, n. 2, p. 167-180, 2005.

RUCHHOEFT, M.L.; OHNUMA, S.; MCNEILL, L.; HOLT, C.E.; HARRIS, W.A. The neuronal architecture of *Xenopus* retinal ganglion cells is sculpted by rho-family GTPases in vivo. **J. Neurosci.**, v. 1, n. 19, p. 8454-8463, 1999.

SAHAI, E.; ISHIZAKI, T.; NARUMIYA, S.; TREISMAN, R. Transformation mediated by RhoA requires activity of ROCK kinases. **Curr. Biol.**, v. 11, n. 9, p. 136-145, 1999.

SANTOS-BREDARIOL, A.S.; SANTOS, M.F.; HAMASSAKI-BRITTO, D.E. Distribution of the small molecular weight GTP-binding proteins Rac1, Cdc42, RhoA and RhoB in the developing chick retina. **J. Neurocytol.**, v. 31, n. 2, p. 149-159, 2002.

SASAKI, T.; WADA, T.; KISHIMOTO, H.; IRIE-SASAKI, J.; MATSUMOTO, G.; GOTO, T.; YAO, Z.; WAKEHAM, A.; MAK, T.W.; SUZUKI, A.; CHO, S.K.; ZUNIGA-PFLUCKER, J.C.; OLIVEIRA-DOS-SANTOS, A.J.; KATADA, T.; NISHINA, H.;

PENNINGER, J.M. The stress kinase mitogen-activated protein kinase kinase (MKK)7 is a negative regulator of antigen receptor and growth factor receptor-induced proliferation in hematopoietic cells. **J. Exp. Med.**, v. 17, n. 6, p. 757-768, 2001.

SCHLESSINGER, K.; HALL, A.; TOLWINSKI, N. Wnt signaling pathways meet Rho GTPases. **Genes Dev.**, v. 1, n. 23, p. 265-277, 2009.

SCHMIDT, A.; HALL, A. Guanine nucleotide exchange factor for Rho GTPases: turning on the switch. **Genes Dev.**, v. 16, p. 1587-1609, 2002.

SCHNEEBERGER, D.; RAABE, T. Mbt, a Drosophila PAK protein, combines with Cdc42 to regulate photoreceptor cell morphogenesis. **Development**, v. 130, n. 3, p. 427-437, 2003.

SHERR, C.J.; ROBERTS, J.M. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. **Genes Dev.**, v. 13, p. 1501-1512, 1999.

STRETTOL, E.; PIGNATELLI, V. Modifications of retinal neurons in a mouse model of retinitis pigmentosa. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 97, n. 20, p. 11020-11025, 2000.

SUN, H.; KING, A.J.; DIAZ, H.B.; MARSHALL, M.S. Regulation of the protein kinase Raf-1 by oncogenic Ras through phosphatidylinositol 3-kinase, Cdc42/Rac and Pak. **Curr. Biol.**, v. 9, n. 5, p. 281-284, 2000.

SUN, H.; REN, J.; ZHU, Q.; KONG, F.Z.; WU, L.; PAN, B.R. Effects of lysophosphatidic acid on human colon cancer cells and its mechanisms of action. **World J. Gastroenterol.**, v. 15, n. 36, p. 4547-4555, 2009.

SVOBODA, K.K.; MOESSNER, P.; FIELD, T.; ACEVEDO, J. ROCK inhibitor (Y27632) increases apoptosis and disrupts the actin cortical mat in embryonic avian corneal epithelium. **Dev. Dyn.**, v. 229, n. 3, p. 579-590, 2004.

TAKAI, Y.; SASAKI, T.; MATOZAKI, T. Small GTP-binding proteins. **Physiol. Rev.**, v. 81, p. 153-208, 2001.

TAKENAWA, T.; SUETSUGU, S. The WASP-WAVE protein network: connecting the membrane to the cytoskeleton. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, v. 8, n. 1, p. 37-48, 2007.

TCHERKEZIAN, J.; LAMARCHE-VANE, N. Current knowledge of the large RhoGAP family of proteins. **Biol. Cell**, v. 99, n. 2, p. 67-86, 2007.

THORNTON, T.M.; PEDRAZA-ALVA, G.; DENG, B.; WOOD, C.D.; ARONSHTAM, A.; CLEMENTS, J.L.; SABIO, G.; DAVIS, R.J.; MATTHEWS, D.E.; DOBLE, B.; RINCON, M. Phosphorylation by p38 MAPK as an alternative pathway for GSK3beta inactivation. **Science**, v. 2, p. 667-670, 2008.

TIGYI, G.; MILEDI, R. Lysophosphatidates bound to serum albumin activate membrane currents in *Xenopus* oocytes and neurite retraction in PC12 pheochromocytoma cells. **J. Biol. Chem.**, v. 25, n. 30, p. 21360-21367, 1992.

TROPEPE, V.; COLES, B.L.; CHIASSEON, B.J.; HORSFORD, D.J.; ELIA, A.J.; MCINNES, R.R.; VAN DER KOOY, D. Retinal stem cells in the adult mammalian eye. **Science**, v. 287, n. 5460, p. 2032-2036, 2000.

TROUSSE, F.; MARTÍ, E.; GRUSS, P.; TORRES, M.; BOVOLENTA, P. Control of retinal ganglion cell axon growth: a new role for Sonic hedgehog. **Development**, v. 128, n. 20, p. 3927-3936, 2001.

UPADHYAY, G.; GOESSLING, W.; NORTH, T.E.; XAVIER, R.; ZON, L.I.; YAJNIK, V. Molecular association between beta-catenin degradation complex and Rac guanine exchange factor DOCK4 is essential for Wnt/beta-catenin signaling. **Oncogene**, v. 2, n. 27, p. 5845-5855, 2008.

VAN CORVEN, E.J.; GROENINK, A.; JALINK, K.; EICHHOLTZ, T.; MOOLENAAR, W.H. Lysophosphatidate-induced cell proliferation: identification and dissection of signaling pathways mediated by G proteins. **Cell**, v. 6, n. 1, p. 45-54, 1989.

WALTHER, C.; GRUSS, P. Pax-6, a murine paired box gene, is expressed in the developing CNS. **Development**, v. 113, n. 4, p. 1435-1449, 1991.

WEBER, J.D.; RABEN, D.M.; PHILLIPS, P. J.; BALDASSARE, J.J. Sustained activation of extracellular-signal-regulated kinase 1 (ERK1) is required for the continued expression of cyclin D1 in G1 phase. **Biochem. J.**, v. 326, p. 61-68, 1997.

WEERNINK, P. A.; MELETIADIS, K.; HOMMELTENBERG, S.; HINZ, M.; ISHIHARA, H.; SCHMIDT, M.; JAKOBS, K.H. Activation of type I phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase isoforms by the Rho GTPases, RhoA, Rac1, and Cdc42. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 7840-7849, 2004.

WEHRWEIN, E.A.; NORTHCOTT, C.A.; LOBERG, R.D.; WATTS, S.W. Rho/Rho kinase and phosphoinositide 3-kinase are parallel pathways in the development of spontaneous arterial tone in deoxycorticosterone acetate-salt hypertension. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 309, n. 3, p. 1011-1019, 2004.

WEI, Y.J.; SUN, H.Q.; YAMAMOTO, M.; WLODARSKI, P.; KUNII, K.; MARTINEZ, M.; BARYLKO, B.; ALBANESI, J.P.; YIN, H.L. Type II phosphatidylinositol 4-kinase b is a cytosolic and peripheral membrane protein that is recruited to the plasma membrane and activated by Rac-GTP. **J. Biol. Chem.**, v. 277, p. 46586-46593, 2002.

WELSH, C.F.; ROOVERS, K.; VILLANUEVA, J.; LIU, Y.; SCHWARTZ, M.A.; ASSOIAN, R.K. Timing of cyclin D1 expression within G1 phase is controlled by Rho. **Nat. Cell Biol.**, v. 3, n. 11, p. 950-957, 2001.

WESTWICK, J.K.; LAMBERT, Q.T.; CLARK, G.J.; SYMONS, M.; VAN AELST, L.; PESTELL, R.G.; DER, C.J. Rac regulation of transformation, gene expression, and actin organization by multiple, PAK-independent pathways. **Mol. Cell Biol.**, v. 17, n. 3, p. 1324-1335, 1997.

WESTWICK, J.K.; LAMBERT, Q.T.; CLARK, G.J.; SYMONS, M.; VAN AELST, L.; PESTELL, R.G.; DER, C.J. Rac regulation of transformation, gene expression, and

actin organization by multiple, PAK-independent pathways. **Mol. Cell Biol.**, v. 17, n. 3, p. 1324-1335, 1997.

WILLIAMS, L.M.; LALI, F.; WILLETTS, K.; BALAGUE, C.; GODESSART, N.; BRENNAN, F.; FELDMANN, M.; FOXWELL, B.M. Rac mediates TNF-induced cytokine production via modulation of NF-kappaB. **Mol. Immunol.**, v. 45, n. 9, p. 2446-2454, 2008.

WOLFRAIM, L.A.; WALZ, T.M.; JAMES, Z.; FERNANDEZ, T.; LETTERIO, J.J. p21Cip1 and p27Kip1 act in synergy to alter the sensitivity of naive T cells to TGF-beta-mediated G1 arrest through modulation of IL-2 responsiveness. **J. Immunol.**, v. 173, n. 5, p. 3093-3102, 2004.

WONG, N. A.; PIGNATELLI, M. Beta-catenin--a linchpin in colorectal carcinogenesis?. **Am. J. Pathol.**, v. 160, n. 2, p. 389-401, 2002.

WONG, W.T.; FAULKNER-JONES, B.; SANES, J.R.; WONG, R.O.L. Rapid dendritic remodeling in the developing retina: dependence on neurotransmission and reciprocal regulation by Rac and Rho. **J. Neurosci.**, v. 20, p. 5024-5036, 2000.

WONG, W.T.; WONG, R.O.L. Rapid dendritic movements during synapse formation and rearrangement. **Curr. Opin. Neurobiol.**, v. 10, p. 118-124, 2000.

WRIGHT, A.F. New insights into genetic eye disease. **Trends Genet.**, v. 8, n. 3, p. 85-91, 1992.

WU, H.H.; IVKOVIC, S.; MURRAY, R.C.; JARAMILLO, S.; LYONS, K.M.; JOHNSON, J.E.; CALOF, A.L. Autoregulation of neurogenesis by GDF11. **Neuron**, v. 37, n. 2, p. 197-207, 2003.

WU, J.; SAINT-JEANNET, J.P.; KLEIN, P. S. Wnt-frizzled signaling in neural crest formation. **Trends Neurosci.**, v. 26, n. 1, p. 40-45, 2003.

XU, M.Y.; PORTE, A.J.; WEINREB, P. H.; MAHER, T.M.; VIOLETTE, S.M.; MCANULTY, R.J.; SHEPPARD, D.; JENKINS, G. Lysophosphatidic acid induces alphavbeta6 integrin-mediated TGF-beta activation via the LPA2 receptor and the small G protein G alpha(q). **Am. J. Pathol.**, v. 174, n. 4, p. 1264-1279, 2009.

YANG, S.A.; CARPENTER, C.L.; ABRAMS, C.S. Rho and Rho-kinase mediate thrombin-induced phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase trafficking in platelets. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 42331-42336, 2004.

YUAN, Y.; SHIMURA, M.; HUGHES, B.A. Regulation of inwardly rectifying K⁺ channels in retinal pigment epithelial cells by intracellular pH. **J. Physiol.**, v. 1, n. 549, p. 429-438, 2003.

ZHAO, B.; ZHONG, M.; JIN, K. Neurogenesis and neurodegenerative diseases in human. **Panminerva Med.**, v. 50, n. 1, p. 55-64, 2008.

ZHAO, X.; DAS, A.V.; SOTO-LEON, F.; AHMAD, I. Growth factor-responsive progenitors in the postnatal mammalian retina. **Dev. Dyn.**, v. 232, n. 2, p. 349-358, 2005.