



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Química-Instituto de Ciencias
Posgrado en Ciencias Químicas
Área Bioquímica y Biología Molecular

T E S I S

Efecto de la administración de taurina
sobre citoesqueleto, mielina, actividad
motriz y neurogénesis en la rata taiep

PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA:

M. C. VIRIDIANA VARGAS CASTRO

ASESOR DE TESIS:

DR. VÍCTOR MANUEL BLANCO ÁLVAREZ

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. BERTHA ALICIA LEÓN CHÁVEZ

Puebla, Pue. Noviembre 2021

Publicaciones

- Vargas-Castro, V., Gomez-Diaz, R., Blanco-Alvarez, V. M., Tomas-Sanchez, C., Gonzalez-Vazquez, A., Aguilar-Peralta, A. K., ... & Leon-Chavez, B. A. (2021). Long-term taurine administration improves motor skills in a tubulinopathy rat model by decreasing oxidative stress and promoting myelination. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 115, 103643.
- Vargas-Castro, V., Gomez-Diaz, R., Blanco-Alvarez, V. M., Tomas-Sanchez, C., Gonzalez-Vazquez, A., Aguilar-Peralta, A. K., ... & Leon-Chavez, B. A. (2021). Effects of chronic taurine administration on healthy pregnant rats and the consequences on the offspring: Datasets for Motor tests and Oxidative Stress. *Data in Brief* (Enviado para su publicación).
- Vargas-Castro, V., Leon-Chavez, B. A., Eguibar J. R. & Solano-Altamirano J. M. (2021). Taurine chloramine induces $\beta - \beta$ depolymerization in a tubulinopathy rat model: A molecular dynamics and molecular docking simulations. (En preparación).

Presentación en congresos

- Society for Neuroscience 2018 Annual Meeting, San Diego, CA. USA (2018)
- XVII Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, Monterrey, Mty. México (2018)
- XVIII Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, Toluca, EdoMex. México (2019)

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-México) por la beca número 573488 brindada para realizar estudios de Doctorado.

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del programa IV. Investigación y Posgrado. Apoyar a los programas de posgrado para lograr su incorporación al Padrón Nacional de Calidad. Indicador establecido en el plan de Desarrollo Institucional 2017-2021.

A la Comisión Revisora formada por el Dr. Eduardo M. Brambila Colombres, Dr. José Ramón Eguibar Cuenca, Dr. Daniel Martínez Fong, Dra. Lourdes Millán Pérez-Peña y Dra. Guadalupe Soto Rodríguez por el tiempo, la dedicación y el compromiso mostrados hacia este proyecto.

A los Directores de Tesis Dr. Víctor Manuel Blanco Álvarez y Dra. Bertha Alicia León Chávez por su guía y apoyo incondicional.

Al Laboratorio de Investigaciones Químico-Clínicas / Neuroimmunology Club y al Laboratorio de Modelado Matemático y Desarrollo de Software Científico en donde se realizó esta investigación.

A los vivarios del Instituto de Fisiología-BUAP y del CINVESTAV por el cuidado y mantenimiento de los animales de experimentación.

“The task of neural science is to explain behaviour in terms of the activities of the brain. How does the brain marshal its millions of individual nerve cells to produce behaviour, and how are these cells influenced by the environment...? The last frontier of the biological sciences -their ultimate challenge- is to understand the biological basis of consciousness and the mental processes by which we perceive, act, learn, and remember.”

-Eric Kandel

Índice general

Resumen	xix
1. Introducción	1
1.1. Desarrollo del sistema nervioso central durante la gestación	1
1.1.1. Neurogénesis	5
1.1.2. Gliogénesis	8
1.2. Mielinización del sistema nervioso central	11
1.2.1. Oligodendrogénesis	11
1.2.2. Formación de la vaina de mielina	16
1.3. Enfermedades desmielinizantes	25
1.4. Papel de la remielinización en la recuperación neural funcional	26

1.5. La rata taiep como un modelo de enfermedades hipomielinizantes-desmielinizantes	28
2. Antecedentes	33
3. Justificación	37
3.1. Hipótesis	38
3.2. Objetivo General	38
3.2.1. Objetivos particulares	39
4. Metodología	41
4.1. Evaluación in silico del efecto de la mutación Ala302Thr en la β -Tubulina 4a de la rata taiep	41
4.1.1. Modelado por homología de la β -Tubulina 4a de rata: nativa y mutada	41
4.1.2. Dinámica Molecular del dímero β -Tubulina/ β -Tubulina	44
4.1.3. Acoplamiento Molecular	45
4.2. Protocolo Experimental	47
4.2.1. Preparación de tejidos para procedimientos histoquímicos . . .	48
4.2.2. Ensayo de proliferación	48
4.2.3. Cuantificación de Mielina	49

4.2.4. Desarrollo Funcional	50
4.2.5. Análisis Estadístico	56
5. Resultados	57
5.1. Modelado por homología	57
5.2. Ajuste de los modelos tridimensionales de las β -Tubulinas 4a en la conformación espacial del microtúbulo	58
5.3. La taurina no muestra afinidad por los sitios de unión para fármacos en el dímero α/β -Tubulina	60
5.4. La mutación Ala302Thr podría inducir la hiperpolimerización de los microtúbulos de la rata taiep	61
5.5. La cloroamina de taurina podría inducir la despolimerización del microtúbulo en la rata taiep	69
5.6. La taurina regula la proliferación celular en el giro dentado y la protuberancia anular de ratas taiep de 1 mes de edad	71
5.7. La ingesta de taurina a largo plazo mejora la pérdida de mielina en la rata taiep	73
5.8. La administración de taurina mejora el desempeño motor en la rata taiep	76
6. Discusión	81
7. Conclusión	93

Índice de figuras

1.1. Evolución de las vesículas primarias hacia vesículas secundarias y la posterior diferenciación de las regiones cerebrales.	2
1.2. Comparación de eventos proliferativos entre humano y rata considerando la temporalidad propia de cada especie.	6
1.3. Generación de las OPCs a través de las distintas olas en el telencéfalo, el cerebelo y la médula espinal.	14
1.4. Maduración de las OPCs, cambios en la morfología y expresión de proteínas asociadas a cada etapa de maduración.	17
1.5. Formación de la vaina de mielina tanto en el SNC como en el SNP.	20
1.6. Dinámica Microtubular.	23
1.7. Esquema de la prolongación de la membrana de un oligodendrocito.	24
2.1. Estructura 2D y 3D de la molécula de taurina.	35

4.1. Ensamble del microtúbulo formado por los dímeros de α/β -Tubulinas.	43
4.2. Diagrama general de flujo para las simulaciones que componen una dinámica molecular.	45
4.3. Esquema de las pruebas motoras perinatales.	52
4.4. Esquema de los movimientos característicos afectados tras una lesión cortico-espinal y que son evaluados en la escala IBB.	54
4.5. Hoja de puntuación de la escala IBB.	55
5.1. Modelos 3D para las proteínas β -Tubulina 4a de rata.	58
5.2. Empalme de los modelos tridimensionales generados con las proteínas correspondientes dentro de la estructura del microtúbulo.	59
5.3. Minimización y equilibrio de los sistemas β/β -Tubulina por Dinámica Molecular.	62
5.4. Los dímeros de β -Tubulina mutada son estructuralmente más estables que los dímeros de β -Tubulina nativa.	64
5.5. La mutación Ala302Thr podría inducir la hiperpolimerización del microtúbulo en la rata taiep.	66
5.6. Los trímeros de β -Tubulina mutada son estructuralmente más estables que los trímeros de β -Tubulina nativa.	68
5.7. La cloroamina de taurina podría inducir la despolimerización de los microtúbulos de la rata taiep	70

5.8. La administración gestacional de taurina aumenta la proliferación celular en el giro dentado de las ratas macho taiep y regula la proliferación celular en la protuberancia anular y el cerebelo al mes de edad.	72
5.9. La administración de taurina a largo plazo previene parcialmente la pérdida de mielina en la protuberancia anular de la rata taiep.	75
5.10. La administración de taurina mejora el desarrollo de la conducta motora en ratas taiep jóvenes.	77
5.11. La administración de taurina mejora la respuesta motora fina en ratas taiep adultas.	79

Índice de tablas

1.1. Cronograma de puntos de referencia en el desarrollo del sistema nervioso central de roedores.	4
1.2. Resumen de los procesos clave del desarrollo cerebral en humanos y roedores.	10
5.1. La taurina se acopla con baja afinidad a los sitios activos del microtúbulo.	60
5.2. La cloroamina de taurina muestra mayor afinidad por la interfaz de dimerización β/β -Tubulina mutada.	69
5.3. La administración de taurina a largo plazo previene parcialmente la pérdida de mielina en la protuberancia anular de la rata taiep.	74

Resumen

La rata taiep se propone como un modelo animal de tubulinopatía con hipomielinización y desmielinización progresiva del sistema nervioso central. Esta hipodesmielinización se origina por la acumulación anormal de microtúbulos en los oligodendrocitos, debido a la mutación Ala302Thr en la β -Tubulina 4a, lo que provoca neuroinflamación y disfunción de la conducta motora. Basándose en las acciones antioxidantes y proliferativas reportadas para la taurina, este trabajo exploró si su administración sostenida, desde la edad embrionaria hasta la edad adulta, podría estimular la proliferación celular, promover la mielinización y aliviar el deterioro motor. Se administró taurina (50 mg/L de agua de beber) a ratas taiep preñadas en el día embrionario 15 y, posteriormente, a las crías macho hasta los ocho meses de edad. Se evaluó la proliferación celular (a través de la administración de BrdU (50 mg/Kg) cada 12 h durante 3 días) y el contenido de mielina (con la tinción de nitroazul de tetrazolio) a lo largo del tiempo. También se evaluó el comportamiento motor integral (a través de pruebas motoras perinatales y de evaluación de la recuperación funcional, a largo plazo) y, de manera paralela, se analizó el efecto de la mutación Ala302Thr en la dimerización de los microtúbulos con técnicas computacionales. Nuestros resultados mostraron que la administración de taurina aumentó la proliferación celular y promovió la mielinización, de forma dependiente de la edad y de la región cerebral, en comparación con las ratas taiep sin tratamiento. La taurina también mejoró los reflejos vestibulares y la fuerza muscular de las extremidades en ratas perinatales, así como las habilidades motoras

finas en ratas adultas. Los resultados in silico muestran que la mutación Ala302Thr podría estimular la polimerización de los microtúbulos e impedir su despolimerización. El acoplamiento molecular demostró que el metabolito cloroamina de taurina podría disminuir la hiper-polimerización y con ello contribuir en la mejora observada de la patología taiep.

Introducción

1.1. Desarrollo del sistema nervioso central durante la gestación

Los modelos animales para el estudio de distintas enfermedades neurológicas se basan en la similitud que existe entre el desarrollo embrionario humano y el desarrollo embrionario en roedores. Sin embargo, resulta imperativo sincronizar entre estas especies algunos eventos clave en la maduración del cerebro que permitan hacer comparaciones de vulnerabilidad y capacidades regenerativas de una manera más efectiva [Semple et al., 2013]. Se ha demostrado que el cerebro en desarrollo responde de manera diferente al daño en comparación con el cerebro adulto [Zhu et al., 2009], por lo tanto, resulta vital entender los mecanismos fisiológicos que rodean a la evolución del mismo.

Durante el progreso de esta investigación se consideró particularmente la temporalidad de la neurogénesis, la gliogénesis, la maduración de oligodendrocitos y el proceso de mielinización que coinciden durante el desarrollo de humanos y roedores.

En general, mientras que la escala de tiempo es considerablemente diferente entre dichas especies, la secuencia de eventos clave en la maduración del cerebro es, en gran medida, consistente.

A grandes rasgos, tanto en roedores como en humanos el desarrollo cerebral comienza con la formación de un pliegue especializado en el tejido ectodérmico, llamado tubo neural, a partir del cual se diferenciarán la médula espinal y el cerebro [DeSesso et al., 1999]. En roedores, la formación del tubo neural ocurre aproximadamente a la mitad de la gestación, en el día embrionario (E)10.5-11 en ratas y en E8-8.5 en ratones. En humanos, este evento ocurre alrededor de la semana de gestación (SDG) 3 a 4 [Rice and Barone Jr, 2000]. A partir del tubo neural surgirán las vesículas primarias (el prosencéfalo, el mesencéfalo y el rombencéfalo) que darán paso a las diversas estructuras cerebrales (Figura 1.1).

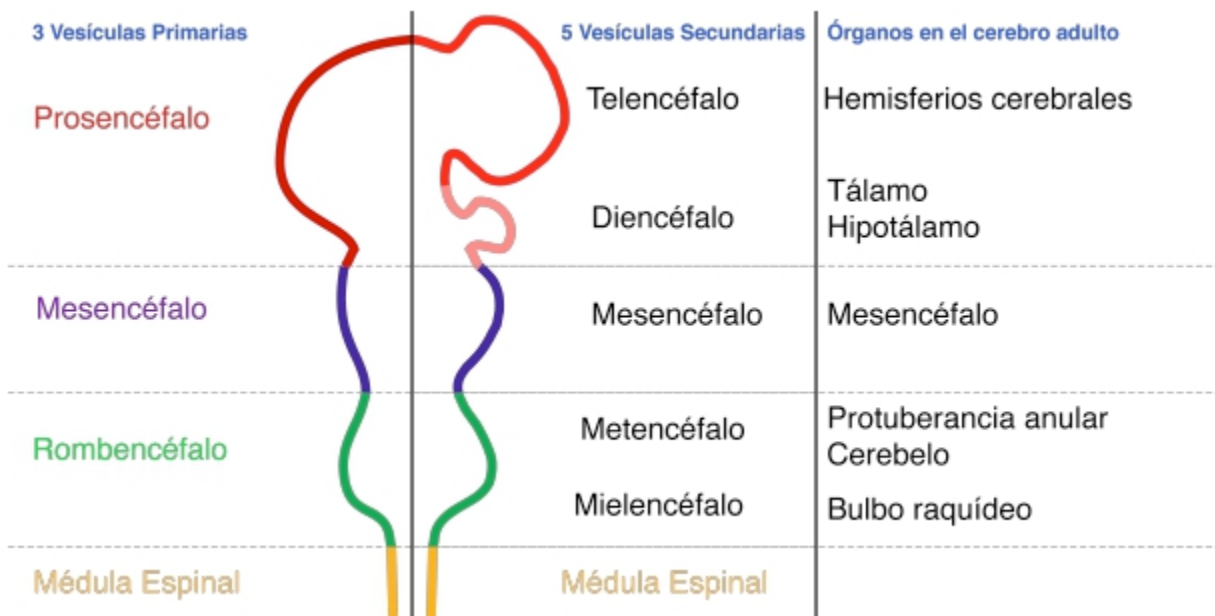


Figura 1.1: Evolución de las vesículas primarias hacia vesículas secundarias y la posterior diferenciación de las regiones cerebrales. Imagen de desarrollo propio.

Por otro lado, en la tabla 1.1 se muestran los acontecimientos fundamentales en el desarrollo del sistema nervioso central normal, ordenados cronológicamente.

Como se mencionó con anterioridad, los eventos relevantes para el desarrollo de esta investigación se centran en los procesos proliferativos de neurogénesis que circundan el día embrionario 15 (E15) así como el proceso de mielinización posnatal, teniendo su pico máximo en el día posnatal 15 (DPN15).

Parámetro	Edad gestacional (promedio en días)
Surgimiento de la placa neural	7
Formación del tubo neural	8.5
Diferenciación de la cresta neural	8.5
Formación de las 3 vesículas cerebrales primarias (prosencefalo, mesencefalo y rombencefalo)	9
Formación de la flexión pontina	10.5
Formación de bulbos olfatorios	10.5
Formación de las 5 vesículas cerebrales secundarias (telencefalo, diencefalo, mesencefalo, metencefalo y mielencefalo)	10.5 - 11
La Eminencia Ganglionar (precursora de los ganglios basales) se vuelve prominente	11
Se comienzan a formar las neuronas del hipocampo (CA1, CA3 y giro dentado)	11
Inicia la formación del primordio cerebeloso	12
Se forma la cápsula externa	13
Formación del cuerpo caloso	16-17
El giro dentado se vuelve visible en el hipocampo	17-17.5
Los tractos corticoespinales alcanzan los segmentos de la médula espinal cervical	DPN1
Inicio de la mielinización en el tracto óptico	DPN8
Inicio de la mielinización en el hipocampo	DPN13
Inicio de la mielinización en el cuerpo caloso	DPN15

Tabla 1.1: Cronograma de puntos de referencia en el desarrollo del sistema nervioso central de roedores. Traducido y modificado de [Chen et al., 2017]. DPN, día posnatal.

En el Sistema Nervioso Central (SNC) existen primordialmente dos tipos celulares, las neuronas y las células de la glía. Las neuronas son los elementos mediadores de la actividad eléctrica y son responsables de transmitir la información a través del sistema nervioso. Por otro lado, las células gliales eran consideradas, hasta hace algunos años, como células de soporte estructural para las neuronas, sin embargo, han tomado relevancia debido a las diversas funciones que desempeñan en el SNC.

1.1.1. Neurogénesis

Durante el desarrollo embrionario tanto en humanos como en roedores, la capacidad proliferativa varía dependiendo de la región cerebral y del tipo celular que se esté generando [Bayer et al., 1993]. En ratas, la neurogénesis (o generación de nuevas neuronas) empieza en la mayoría de las regiones corticales y subcorticales en el día E9.5 y termina alrededor del DPN15 [Rice and Barone Jr, 2000, Babikian et al., 2010]. En humanos, por otro lado, la neurogénesis ocurre predominantemente durante la gestación, sin embargo, ésta puede continuar hasta los 2.5 años de edad [Herschkowitz et al., 1997, Prins and Hovda, 1998] (ver neurogénesis en la Figura 1.2).

La zona subgranular del giro dentado del hipocampo (ZSG) es conocida por ser uno de los principales nichos neurogénicos durante la gestación. Este nicho alcanza el punto máximo de proliferación entre los días E14-E17 [Rice and Barone Jr, 2000] y su potencial proliferativo se mantiene hasta la etapa adulta [Lepousez et al., 2013]. Si bien la mayoría de las células piramidales propias del hipocampo se generan prenatalmente, sólo alrededor del 15 % de las células granulares están presentes en el giro dentado de la rata al momento del nacimiento [Diamond, 1990]. En comparación, la neurogénesis hipocampal en humanos alcanza su pico máximo al día E60 [Clancy et al., 2007] con un 80 % de las células granulares del giro dentado ya generadas antes del nacimiento [Rakic and Nowakowski, 1981] (Figura 1.2).

Junto con la ZSG se pensaba que la zona subventricular (ZSV) participaba en la limitada neurogénesis presente en el cerebro de mamíferos adultos [Eriksson et al., 1998], sin embargo, hallazgos recientes indican que la migración de neuronas inmaduras a lo largo de la ZSV alcanza su punto máximo durante la etapa temprana del desarrollo posnatal en humanos y se extingue en gran medida después de los 18 meses de edad [Sanai et al., 2011].

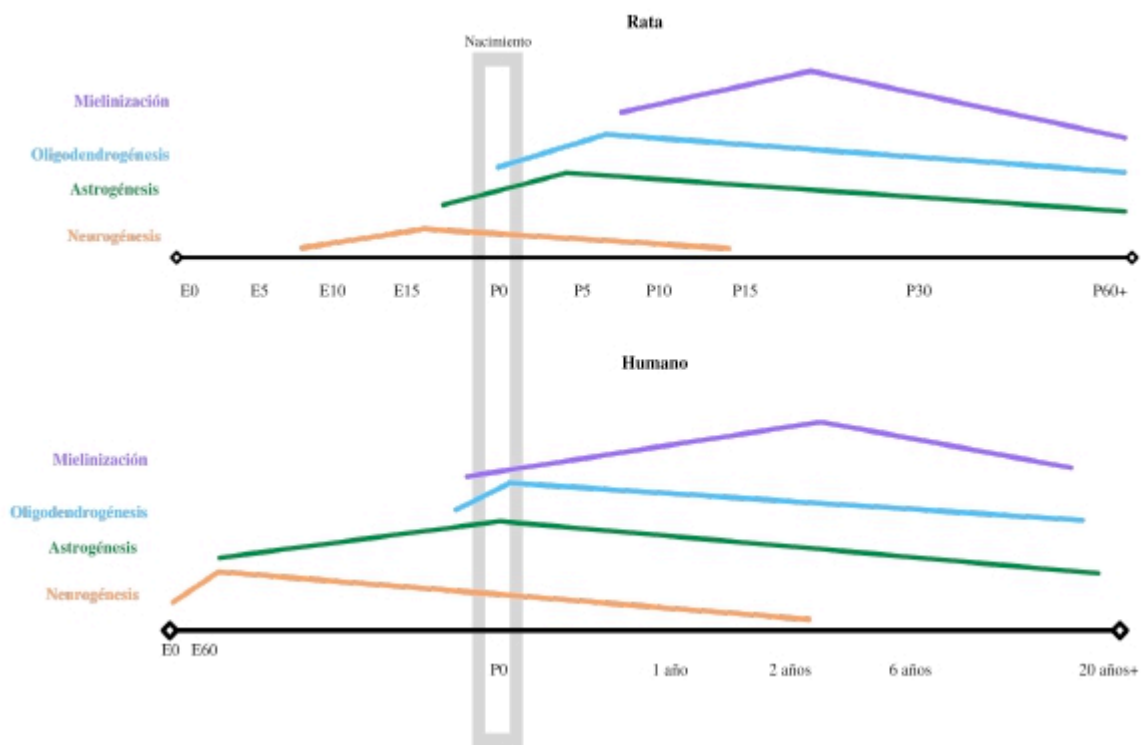


Figura 1.2: Comparación de eventos proliferativos entre humano y rata considerando la temporalidad propia de cada especie. Se observa un orden conservado de eventos entre ambas especies. Imagen de desarrollo propio con información de [Semple et al., 2013, Rice and Barone Jr, 2000].

Cuando se habla de neurogénesis en el cerebro adulto, después de una lesión experimental, los resultados son consistentes. Sin embargo, cuando se analiza la recuperación ante el daño de cerebros inmaduros, los resultados son contradictorios. Por ejemplo, en modelos animales adultos de daño cerebral por percusión de fluido

(modelo de traumatismo craneoencefálico) la neurogénesis incrementa principalmente en la ZSG con un porcentaje de neuronas recién nacidas que migran hacia el sitio de la lesión [Kleindienst et al., 2005, Sun et al., 2007]. Esta integración de neuronas recién generadas en el hipocampo se correlaciona con una recuperación temporal de la función cognitiva que se pierde cuando estas células se eliminan selectivamente [Blaiss et al., 2011].

Por otro lado, cuando se analiza la neurogénesis en el cerebro inmaduro, los resultados muestran un aumento o disminución de la misma dependiendo de la edad, los mecanismos de lesión, la ubicación del daño y la severidad. Por ejemplo, usando un modelo de criolesión en ratas, se encontró un aumento significativo de la proliferación y un mayor número de neuroblastos en la ZSV cuando la lesión se realizó al DPN6 y al DPN10 que cuando se realizó al DPN21. Esto sugiere que la edad a la cual ocurre el daño afecta considerablemente la capacidad regenerativa [Covey et al., 2010]. La neurogénesis también disminuye en ratones después de un traumatismo craneal que se genera en el DPN21. Después de 6 semanas del daño se observa proliferación disminuida de las células de la ZSG y supervivencia limitada de células precursoras [Potts et al., 2009]. Por otro lado, en una lesión por isquemia en el cerebro de ratón, al DPN9, se observa crecimiento interrumpido de la capa granular (CG) del giro dentado del hipocampo, mientras que si la lesión se realiza al DPN21, el volumen de la capa no se ve afectada [Qiu et al., 2007]. De manera normal, la incorporación hipocampal de BrdU y la neurogénesis son varias veces más altas en los cerebros más jóvenes (DPN9) que en los del DPN21. Sin embargo, tras un proceso isquémico, la neurogénesis disminuye considerablemente en el DPN9 y aumenta en el cerebro lesionado al DPN21 [Qiu et al., 2007], demostrando nuevamente la alta susceptibilidad al daño del cerebro en desarrollo.

Es probable que la incapacidad del cerebro aún en desarrollo para compensar las neuronas perdidas debido a una lesión, particularmente en el giro dentado del hipocampo, contribuya a los déficits en la formación de la memoria, a largo plazo,

que se observan comúnmente en roedores y pacientes con lesiones cerebrales [Semple et al., 2013].

1.1.2. Gliogénesis

Las células gliales se clasifican en tres categorías principales basándose en su morfología, su función y su ubicación en el sistema nervioso: los astrocitos, la microglía y los oligodendrocitos [Allen and Barres, 2009].

Se ha demostrado que las células gliales participan en el desarrollo neuronal orientando su migración y el crecimiento dendrítico, además de influenciar su actividad eléctrica [Barres, 2008]. La glía radial, por ejemplo, es un tipo de célula progenitora de los diferentes tipos de células gliales cuya función en el desarrollo neuronal es la de formar peldaños por los cuales escalarán las neuronas hasta llegar a sus posiciones finales [Barres, 2008]. Tanto la glía radial como la microglía se desarrollan al mismo tiempo que la neurogénesis en la mayor parte de las estructuras cerebrales [Rice and Barone Jr, 2000]. En los humanos, al nacer, la glía radial se diferencia en astrocitos que expresan la proteína ácida glial fibrilar (GFAP) [Kriegstein and Alvarez-Buylla, 2009], esta transición de la neurogénesis a la astrogénesis está mediada por varios factores incluyendo a la interleucina 6 (IL-6) y a las proteínas morfogénicas óseas (BMP) [Miller and Gauthier, 2007].

La ZSV es fuente importante de nuevos astrocitos y oligodendrocitos durante las primeras semanas posnatales, produciendo células que migran radialmente hacia estructuras suprayacentes incluida la neocorteza [Marshall et al., 2003]. En la rata, los astrocitos maduran rápidamente durante las primeras semanas posnatales, lo que implica cambios en la morfología, la conectividad con otras células y en sus propiedades electrofisiológicas [Zhou et al., 2006]. Se sabe que alrededor del DPN11 al DPN16 existe el mayor incremento en el número de células GFAP+ en el hipocampo. Hacia el mes de

edad se da un segundo incremento, más pequeño que el primero, en donde se alcanza el número de células GFAP+ que se tendrán en la adultez [Catalani et al., 2002].

Análogamente en humanos, la gliogénesis continúa a través de los periodos fetal y posnatal [Roessmann and Gambetti, 1986]. Este pico en la gliogénesis coincide con el rápido crecimiento de los vasos sanguíneos, la formación de dendritas y el establecimiento de las sinapsis, sugiriendo un alto nivel de coordinación entre el crecimiento glial, el vascular y el sináptico para asegurar que se instauren las interacciones Glia-Vasculatura y Glia-Neurona de manera adecuada [Bautch and James, 2009].

Las diferencias y similitudes observadas en cuanto a los procesos de neurogénesis y gliogénesis, así como las diferencias en la temporalidad de dichos eventos clave se muestran en la Figura 1.2 y en la tabla 1.2.

Humano	Roedor	Hitos del desarrollo	Referencias
23-32 SDG (infante pretérmino)	1-3 DPN	Cambios en el estado de maduración de los oligodendrocitos. Predominio de pre-OLs mitóticamente activos.	[Craig et al., 2003, Lodygensky et al., 2010, Dean et al., 2011]
36-40 SDG (recién nacido a término)	7-10 DPN	Pico de gliogénesis. El estado de maduración de los oligodendrocitos cambia a un predominio de OLs inmaduros.	[Catalani et al., 2002, Kriegstein and Alvarez-Buylla, 2009] [Craig et al., 2003, Dean et al., 2011]
2-3 años	20-21 DPN	Pico en la tasa de mielinización.	[Keshavan et al., 2002]
4-11 años	25-35 DPN	Fraccionamiento/especialización de las redes neurales de la corteza prefrontal (maduración estructural). Volumen máximo de materia gris y espesor cortical.	[Tsujiimoto, 2008] [Sowell et al., 1999, Bansal et al., 2008]
12-18 años	35-49 DPN	Refinamiento de los circuitos cognitivo-dependientes. Mielinización en curso; aumento del volumen de materia blanca.	[Giedd et al., 1999, Brouwer et al., 2012]
20+ años	60+ DPN	Mielinización en curso y materia gris en declive.	[Lebel and Beaulieu, 2011, Lebel et al., 2012]

Tabla 1.2: Resumen de los procesos clave del desarrollo cerebral en humanos y roedores. Traducido y modificado de [Semple et al., 2013]. SDG, semanas de gestación. DPN, día posnatal. OL, oligodendrocito.

1.2. Mielinización del sistema nervioso central

1.2.1. Oligodendrogénesis

Los oligodendrocitos (OLs) son las células encargadas de la formación de las vainas de mielina, membranas multicapa que envuelven a los axones y permiten la conductancia óptima de la señal saltatoria interneuronal [Baron and Hoekstra, 2010, Pfeiffer et al., 1993].

Los OLs son células ubicuas, tanto en la materia blanca como en la gris del cerebro y médula espinal, que se originan a partir de las células neuroepiteliales pluripotentes del tubo neural (NES, del inglés Neuroepithelial Stem cells). Posteriormente, las células madre neurales (NSC, del inglés Neural Stem Cell) proliferativas se comprometen con el linaje oligodendroglial bajo la influencia de factores de transcripción como Olig1, Olig2, Nkx2.2 y Sox10 [Emery, 2010], lo que da paso a las células precursoras de oligodendrocitos (OPCs) [Lu et al., 2002].

Las OPCs son células capaces de dividirse y migrar a lo largo del SNC. En roedores, las OPCs surgen de una primera ola proliferativa (E12.5) en las zonas ventriculares de la médula espinal. Aquí, se originan junto con las motoneuronas a partir de una clase común de células precursoras (Figura 1.3, panel derecho, células en azul). En esta etapa, las OPCs se caracterizan por expresar el factor de transcripción Olig2 [Takebayashi et al., 2002], su producción depende de la vía señalización Sonic Hedgehog (Shh) y es modulada negativamente por las proteínas morfogénicas óseas 4 y 7 (BMP4 y BMP7) [Mekki-Dauriac et al., 2002]. Aproximadamente al día E15 surge una ola secundaria de precursores que comienza en regiones más dorsales de la médula espinal, mediante la transdiferenciación de la glía radial [Lu et al., 2002], y esta segunda ola es independiente de la vía de Shh [Cai et al., 2005] (Figura 1.3, panel derecho, células

en rojo).

El origen de las OPCs en el cerebro es más complejo. En el telencéfalo embrionario existen tres olas diferentes para la generación de las OPCs, progresando temporalmente desde las regiones ventrales a las dorsales [Kessaris et al., 2006]. La primera ola comienza en el día E12.5 (superpuesta con la aparición de las OPCs en la médula espinal), esto ocurre en la eminencia ganglionar medial (EGM) y en el área entopedúncular anterior (AEP). La segunda ola surge en el día E15.5 y tiene lugar en la eminencia ganglionar lateral y caudal (EGL y EGC). La última ola surge en el día posnatal 0 (P0) directamente desde la corteza [Kessaris et al., 2006] (Figura 1.3, panel izquierdo).

Estas tres olas distintas de OPCs se originan a partir de tres tipos distintos de progenitores neuronales, que expresan diferentes factores de transcripción. Las OPCs de la primera ola expresan el receptor alfa del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR α), lo que refleja su dependencia de PDGF-AA para la supervivencia y la proliferación (probablemente la molécula más importante que controla el número de OL in vivo). Estas células migran a la corteza (en E16) y, finalmente, desaparecen completamente en P10 (Figura 1.3, panel izquierdo, células en verde). Las OPCs de la segunda ola surgen en el E15.5 y se generan a partir de los progenitores que expresan Gsh2. Finalmente, alrededor del nacimiento (P0), surgen las OPCs de la tercera ola que se derivan de los progenitores que expresan Emx1. Esta fina regulación embrionaria del origen de las OPCs ha devenido en la idea de que existen distintos subconjuntos de OPCs, dedicadas a diferentes funciones. Sin embargo, hasta ahora ningún estudio ha correlacionado un origen distinto con una especificidad en el comportamiento de las OPCs en el SNC postnatal y en el adulto [Kessaris et al., 2006].

Por otro lado, se ha demostrado que las OPCs cerebelosas se originan principalmente en regiones cerebrales extracerebelosas [Grimaldi et al., 2009]. En el E11.5, las OPC comienzan a surgir de la región 1 del rombómero ventral metencefálico y migran hacia el cerebelo donde las primeras OPC llegan al E16.5 (Figura 1.3, panel

central, células azules). En E18.5, una gran población de OPCs ha llegado al cerebelo, donde es probable que estas células proliferen para expandir aún más la población cerebelosa de OPCs [Hashimoto et al., 2016]. Una segunda corriente de OPCs se genera localmente a partir de la zona ventricular cerebelosa (Figura 1.3, panel central, células en rojo), pero estas células comprenden solo el 6 % de la población de OPCs en el cerebelo hacia el E18.5 [Hashimoto et al., 2016]. Después del nacimiento, las regiones neuroepiteliales que rodean el cuarto ventrículo probablemente continúen produciendo OPCs que migran hacia el cerebelo [Reynolds and Wilkin, 1988] (Figura 1.3, panel central, células verdes en P0).

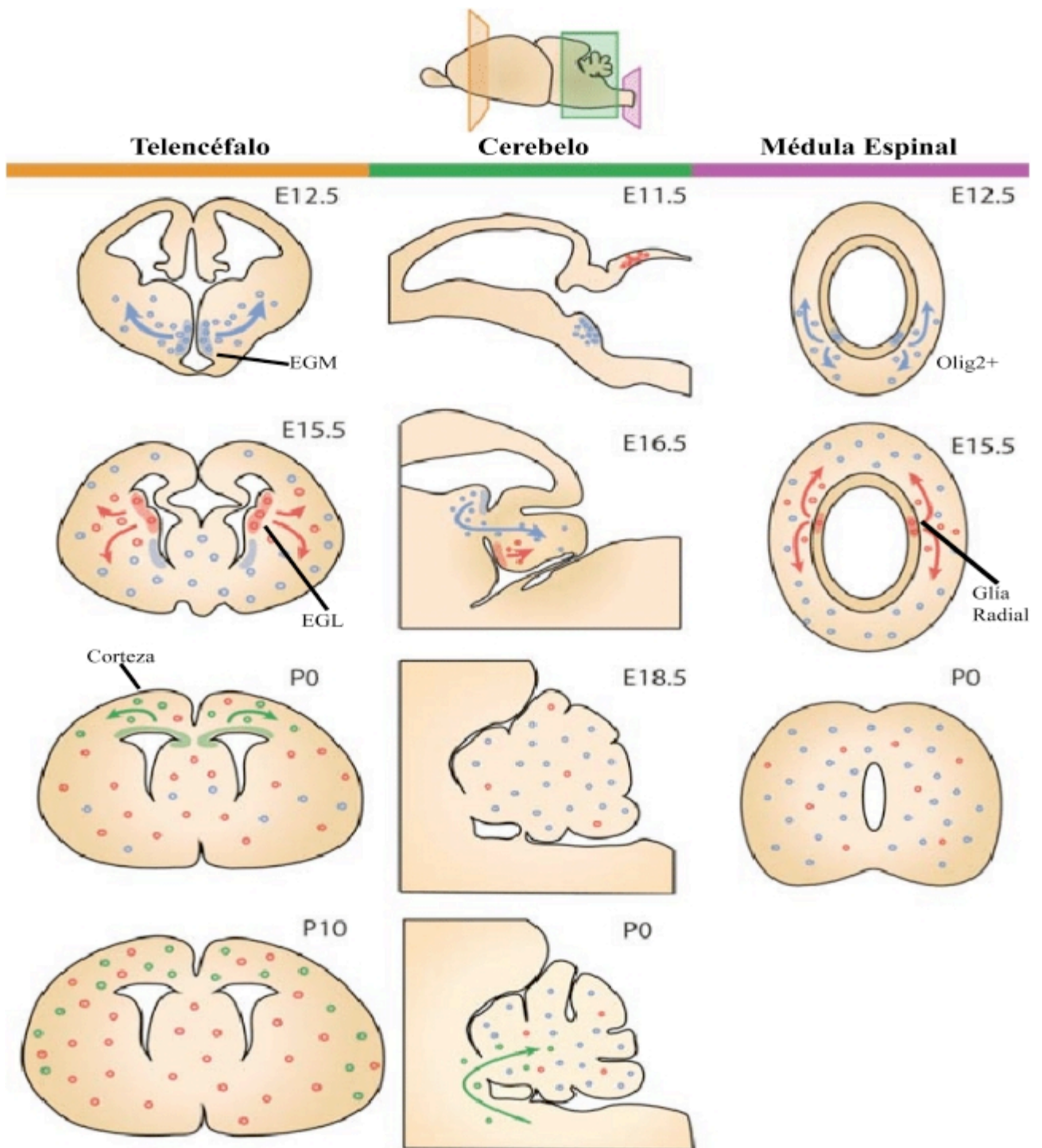


Figura 1.3: Generación de las OPCs a través de las distintas olas en el telencéfalo, el cerebelo y la médula espinal. Modificado de [van Tilborg et al., 2018]. EGM, eminencia ganglionar media, EGL, eminencia ganglionar lateral. Azul, OPCs de la primera ola. Rojo, OPCs de la segunda ola. Verde, OPCs de la tercera ola.

Durante la migración, los precursores mantienen la capacidad de proliferar, pero cuando llegan a su destino final, salen del ciclo celular y comienzan a diferenciarse para adquirir un fenotipo maduro para la formación de vainas de mielina. La diferenciación de las OPCs es un proceso complejo durante el cual las células llegan a su destino a través de una serie de varias etapas de maduración finamente reguladas, caracterizadas por cambios en la morfología celular, la salida del ciclo celular y por la expresión de genes y proteínas necesarios para la maduración y la mielinización [Greenwood and Butt, 2003].

Al principio, las OPCs tienen una morfología bipolar y expresan PDGFR α , el proteoglicano NG2 (antígeno glial 2), la isoforma DM-20 de la proteína proteolipídica (PLP), además de los gangliósidos A2B5 y GD3 [Baumann and Pham-Dinh, 2001]. Otros marcadores importantes de estas células son Olig1/Olig2, que son factores transcripcionales presentes en todo el proceso de desarrollo y maduración. Aunque estos dos factores transcripcionales están relacionados estructuralmente, sus funciones biológicas son solo parcialmente redundantes. Olig1 tiene un papel secundario en la especificación y el desarrollo de las OPCs, pero desempeña un papel fundamental en la diferenciación en etapas finales. Por el contrario, Olig2 funciona en etapas de desarrollo primarias. Inicialmente, Olig2 actúa para oponerse a la diferenciación celular y mantiene el estado competente de replicación para expandir el grupo de células progenitoras, mientras que en etapas posteriores del desarrollo, Olig2 guía la proliferación para formar progenitores tempranos de oligodendrocitos [Meijer et al., 2012].

En el cerebro en desarrollo, las células de la etapa de premielinización asumen una morfología más compleja con muchas prolongaciones ramificadas y se caracterizan por la expresión de la sulfatida O4 (marcador oligodendrocítico O4) y la proteína DM-20. Comienzan a aparecer en el cuerpo calloso y luego se distribuyen en todo el parénquima cortical entre el DPN4 y DPN10; particularmente en el DPN7, todas las células positivas para NG2 expresan O4 [Dawson et al., 2003]. Posteriormente, los preoligodendrocitos

se convierten en OLs inmaduros. En esta etapa, las células comienzan a expresar la galactosilceramida (GalC), la 2',3'-nucleótido cíclico 3'-fosfodiesterasa (CNPasa) y la proteína inactivadora de ribosomas (RiP), mientras que comienzan a perder la expresión de NG2, A2B5 y GD3. Los preoligodendrocitos se diferencian hacia la etapa de madurez durante la cual sintetizan la proteína básica de mielina (MBP), la glicoproteína asociada a la mielina (MAG) y la isoforma madura de PLP1 (PLP). Estas células aún no pueden formar mielina, ya que la formación de vainas de mielina requiere el contacto con los axones neuronales. Después del establecimiento de este contacto, las células se convierten en células mielinizantes y comienzan a expresar la glicoproteína mielínica de oligodendrocitos (MOG) [Solly et al., 1996] (Figura 1.4).

1.2.2. Formación de la vaina de mielina

La vaina de mielina es una envoltura multicapa de aislamiento creada por células gliales alrededor de los axones neuronales (células de Schwann en el sistema nervioso periférico y oligodendrocitos en el SNC) y que es esencial para la transmisión rápida de impulsos eléctricos [Fields, 2014]. Esta vaina de mielina está compuesta por un 70 % de lípidos (principalmente colesterol, y los glicoesfingolípidos: galactosilceramida y sulfatida [Baron and Hoekstra, 2010]) y un 30 % de proteínas [Chrast et al., 2011]. Este alto contenido de lípidos es vital para garantizar el aislamiento y la conductancia en los axones neuronales. La mielinización de los axones neuronales por parte de los OLs en el SNC requiere de la expresión coordinada de una gran cantidad de genes, cuyos productos deben insertarse en la membrana celular especializada que forma la vaina de mielina. Las proteínas más abundantes en la vaina de mielina son la proteína proteolipídica (PLP) y la proteína básica de mielina (MBP), aproximadamente cubren entre las dos el 80 % de la fracción proteínica de la vaina de mielina [Baron and Hoekstra, 2010]. Estas proteínas se encuentran dentro de la mielina compactada y ayudan a mantener la integridad estructural de la vaina de mielina. Algunas proteínas que se encuentran en

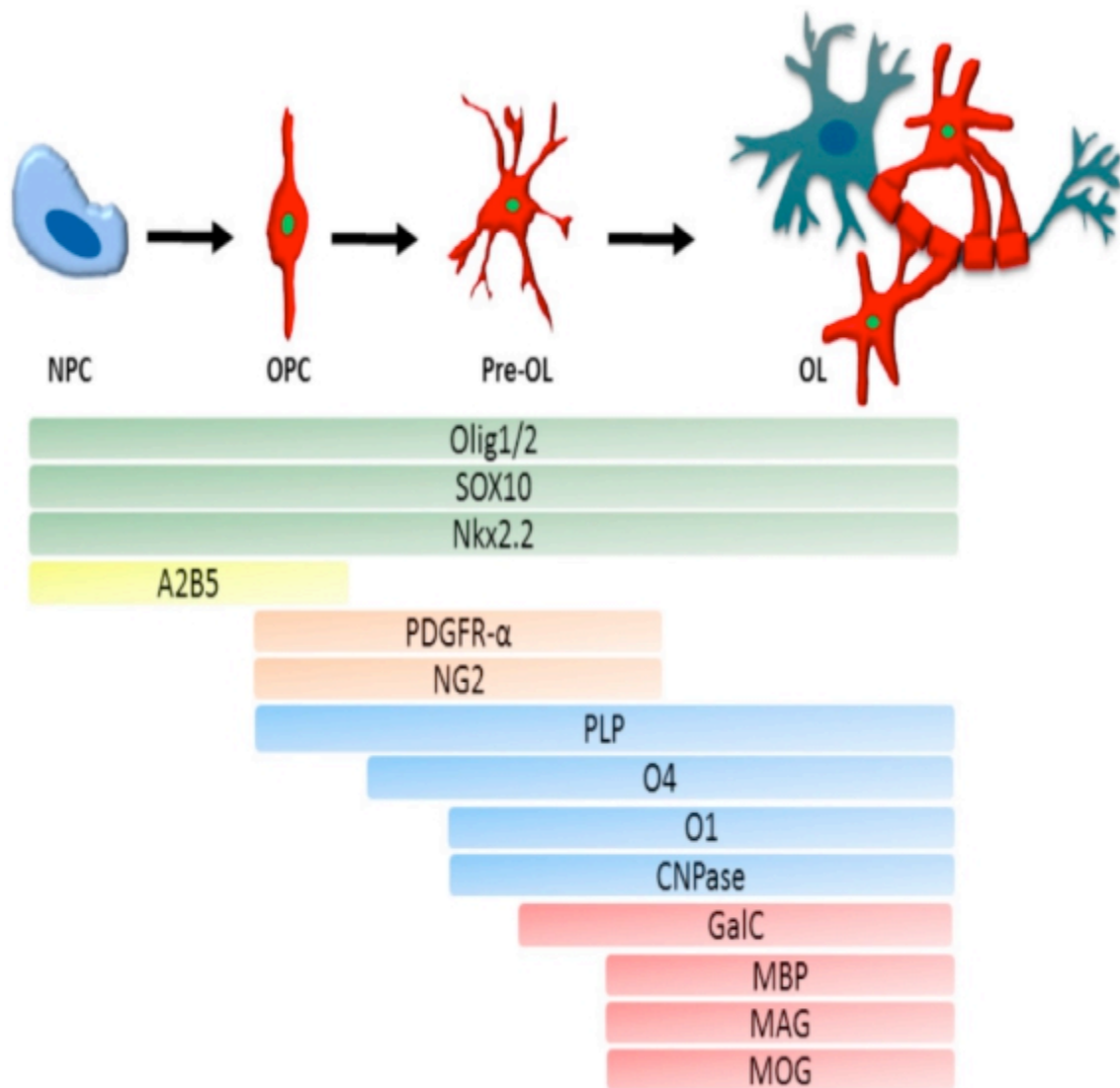


Figura 1.4: Maduración de las OPCs, cambios en la morfología y expresión de proteínas asociadas a cada etapa de maduración. NPC, Célula progenitora neural; OPC, Célula precursora de oligodendrocitos; Pre-OL, Preoligodendrocito; OL, Oligodendrocito maduro. Tomado de [Kuhn et al., 2019].

menor proporción son la 2',3'-nucleótido cíclico 3'-fosfodiesterasa (CNP), la glicoproteína asociada a mielina (MAG), la proteína básica de oligodendrocitos asociada a mielina (MOBP) y la glicoproteína mielínica de los oligodendrocitos (MOG) [O'Connor et al., 2000a].

Se sabe que la mielinización es un proceso prolongado, que continúa incluso en la adolescencia en algunas regiones cerebrales específicas (Figura 1.2). Durante la última década se ha obtenido una mayor comprensión de las etapas de maduración de los oligodendrocitos en el cerebro, tanto humano como de roedores, lo que ha permitido resaltar la vulnerabilidad de la materia blanca ante el daño. Dentro de los avances tecnológicos que han permitido una mejora en la investigación clínica de la materia blanca se incluye el refinamiento de la resonancia magnética convencional, así como las imágenes con tensor de difusión [Lebel and Beaulieu, 2011]. La mielinización se lleva a cabo con un patrón conservado y dependiente de la región. La síntesis de mielina comienza en el sistema nervioso periférico, la médula espinal y el tallo cerebral [Inder and Huppi, 2000]. Generalmente procede de inferior a superior y de posterior a anterior, comenzando en el lóbulo occipital seguido por los lóbulos temporal y frontal. Estos cambios en la mielinización son fácilmente identificables in vivo mediante imágenes de resonancia magnética; en particular, con el uso de imágenes ponderadas en T1 y T2 que resaltan los lípidos (mielina) y la materia gris, respectivamente [Tasker, 2006].

Con anterioridad se creía que la mielinización en humanos estaba prácticamente completa entre los 3 y 5 años de edad [Dietrich et al., 1988]. Sin embargo, aunque la mayoría de los tractos principales se mielinizan significativamente en la primera infancia, ahora se reconoce que los axones continúan mielinizándose durante la segunda y la tercera década de vida. Esta mielinización continua probablemente contribuya al aumento del volumen total de la materia blanca, que aumenta en un 12 % entre los 4 y los 22 años de edad. Sin embargo, es probable que otros factores como el diámetro, el empaquetamiento y la poda axonal, también contribuyan a los cambios generales en la sustancia blanca durante el desarrollo [Giedd et al., 1999].

El proceso de mielinización comienza cuando la prolongación de un OL entra en contacto con un axón neuronal y forma una unión de membrana en forma de “puntos de soldadura” [Sa, 1959]. Esta unión, denominada paranodo, es un dominio de membrana

especializado para la comunicación intercelular entre la prolongación de la célula glial y el axón [Wake et al., 2011]. Posteriormente, la prolongación glial se expande lateralmente a lo largo del axón y comienza a rodearlo de manera no uniforme [Sa, 1959]. Dado que el segmento de mielina entre cada nódulo de Ranvier es varias veces más grande que un OL, mientras éste rodea al axón, la prolongación glial se expande lateralmente para formar una cinta que se ensancha para envolver toda la longitud internodal [Sobottka et al., 2011] (Figura 1.5).

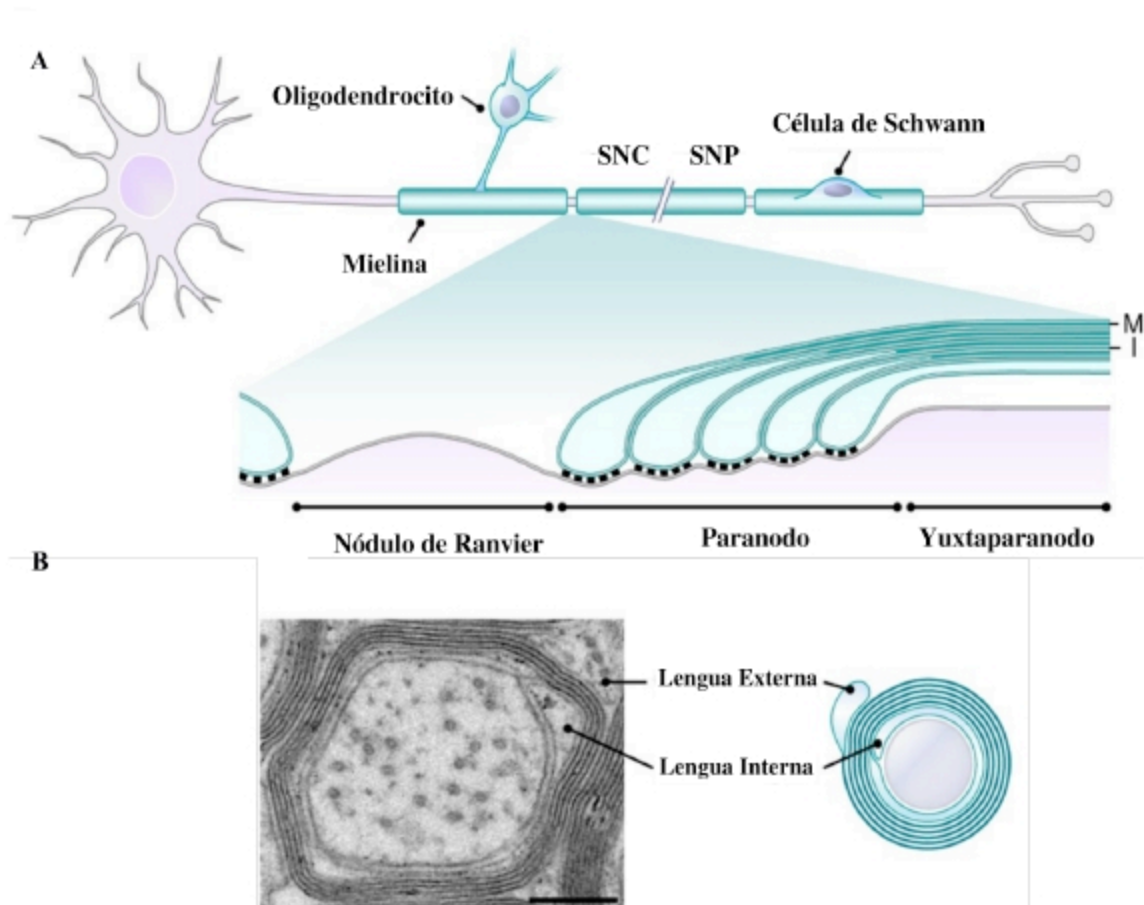


Figura 1.5: Formación de la vaina de mielina tanto en el SNC como en el SNP. A) El nódulo de Ranvier se resalta en morado, se observan las uniones en forma de puntos de soldadura en el paranodo que flanquean el nódulo en ambos lados. Se muestra también la posición del yuxtaparanodo que sostiene a la línea densa Mayor o principal (M) y a línea Interperiodo (I) que forman las multicapas de recubrimiento axonal. B) Posición de la lengua interna y lengua externa durante la compactación de la mielina sobre el axón. Modificado de [Chang et al., 2016]

Para mantener la composición de la mielina y su organización espacial, los oligodendrocitos no sólo tienen que sintetizar una gran cantidad de proteínas y lípidos, sino que también deben dirigir específicamente estos elementos a los lugares en donde las prolongaciones gliales envuelven a los axones (Figura 1.7).

La mielina no se forma como una sola unidad. Los componentes individuales de la mielina se sintetizan en varios compartimentos celulares, se clasifican y luego se transportan a los lugares en donde se está formando la vaina por diferentes mecanismos [Morell et al., 1994, Benjamins and Smith, 1977]. Por ejemplo, la MBP se sintetiza cerca del sitio de ensamble de la mielina, lo que significa que el ARNm codificante para MBP debe transportarse una larga distancia desde el núcleo, a través de la prolongación del oligodendrocito y procesarse entonces en el sitio de ensamble de la mielina [Gould et al., 1999b]. El ARNm que codifica para la MOBP, la cinesina y la dineína, entre otras proteínas, pasa por rutas de transporte similares [Gould et al., 1999a].

El transporte intracelular de vesículas juega entonces un papel fundamental en la biogénesis de la vaina de mielina. No solo al transportar ARNm sino también al transportar proteínas ya sintetizadas. Tal es el caso de la PLP y su isoforma DM20, así como las MAGs, que se sintetizan en el retículo endoplásmico en el soma de los oligodendrocitos, se transportan a través de vesículas hacia el aparato de Golgi y, posteriormente, hacia la vaina de mielina [Larocca and Rodriguez-Gabin, 2002].

Los elementos del citoesqueleto de los oligodendrocitos tienen entonces una participación crítica no sólo al determinar la morfología de los OLs, si no también para mantener la distribución espacial de los organelos y facilitar su transporte [Bloom and Goldstein, 1998]. Tanto los organelos como las moléculas intermediarias del transporte vesicular se encuentran asociados a los microtúbulos (MTs).

Los microtúbulos son los tipos más grandes de elementos del citoesqueleto, con un diámetro de alrededor de 25 nanómetros (nm), y están formados por una proteína denominada tubulina. La tubulina de los microtúbulos está compuesta de dos subunidades, la α y la β , y estas subunidades forman dímeros que se concatenan para formar largas tiras llamadas protofilamentos. Trece de estos protofilamentos se unen para formar un cilindro hueco que es el microtúbulo. Los microtúbulos están en constante cambio, con reacciones de adición y sustracción de dímeros de α/β -tubulinas

en ambos extremos del filamento (Figura 1.6). Sin embargo, las tasas de cambio en ambos extremos no están en equilibrio: un extremo crece más rápido y se denomina extremo positivo, mientras que el otro extremo se conoce como extremo negativo. Esto le da una polaridad específica a los MTs y se conoce como dinámica microtubular. En las células, los extremos negativos de los microtúbulos están anclados a estructuras denominadas centros organizadores de microtúbulos (MTOC). El principal MTOC de una célula se llama centrosoma y suele estar situado junto al núcleo. En consecuencia, los microtúbulos tienden a crecer desde el centrosoma hacia la membrana plasmática o hacia las prolongaciones distales, como en el caso de los OLs [O'Connor et al., 2010]. Los microtúbulos son filamentos proteicos dinámicos, sin embargo esta dinámica microtubular puede verse afectada por la presencia de agentes desestabilizadores. Los agentes desestabilizadores de MTs (MDAs) promueven la despolimerización y evitan la polimerización de la tubulina. Por otro lado, existen también agentes estabilizadores de MT (MSAs) que promueven la polimerización de la tubulina y evitan la despolimerización. Algunos ligandos que se dirigen a los microtúbulos y afectan a su dinámica forman parte de los fármacos quimioterapéuticos contra el cáncer, ya que inhiben la proliferación celular.

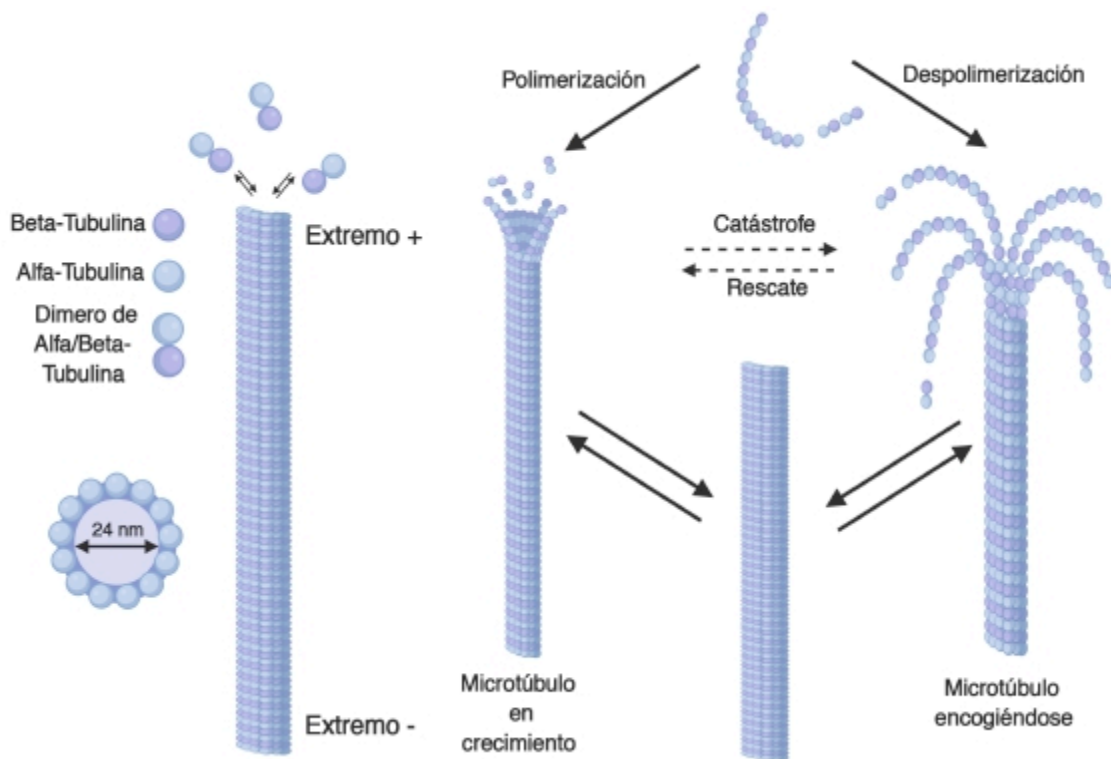


Figura 1.6: Dinámica Microtubular. Se muestra el evento de polimerización - despolimerización de los microtúbulos mediadas por los procesos de rescate y catástrofe.

Para viajar a través de los microtúbulos, las vesículas utilizan proteínas motoras de la familia de las cinesinas y las dineínas. Las cinesinas son motores que se dirigen hacia el extremo (+), mientras que las dineínas se dirigen hacia el extremo (-) [Larocca and Rodriguez-Gabin, 2002] (Figura 1.7). Para que se lleve a cabo la mielinización correcta y funcional es importante que el OL mantenga un citoesqueleto intacto, que le permita generar las prolongaciones de la membrana plasmática necesarias para cubrir al axón y que la dinámica microtubular de polimeración/despolimerización de los MTs se lleve a cabo de manera precisa. Si algo fallase en el proceso, podrían surgir trastornos de la mielinización derivados de una actividad ineficaz del citoesqueleto [Baron and Hoekstra, 2010].

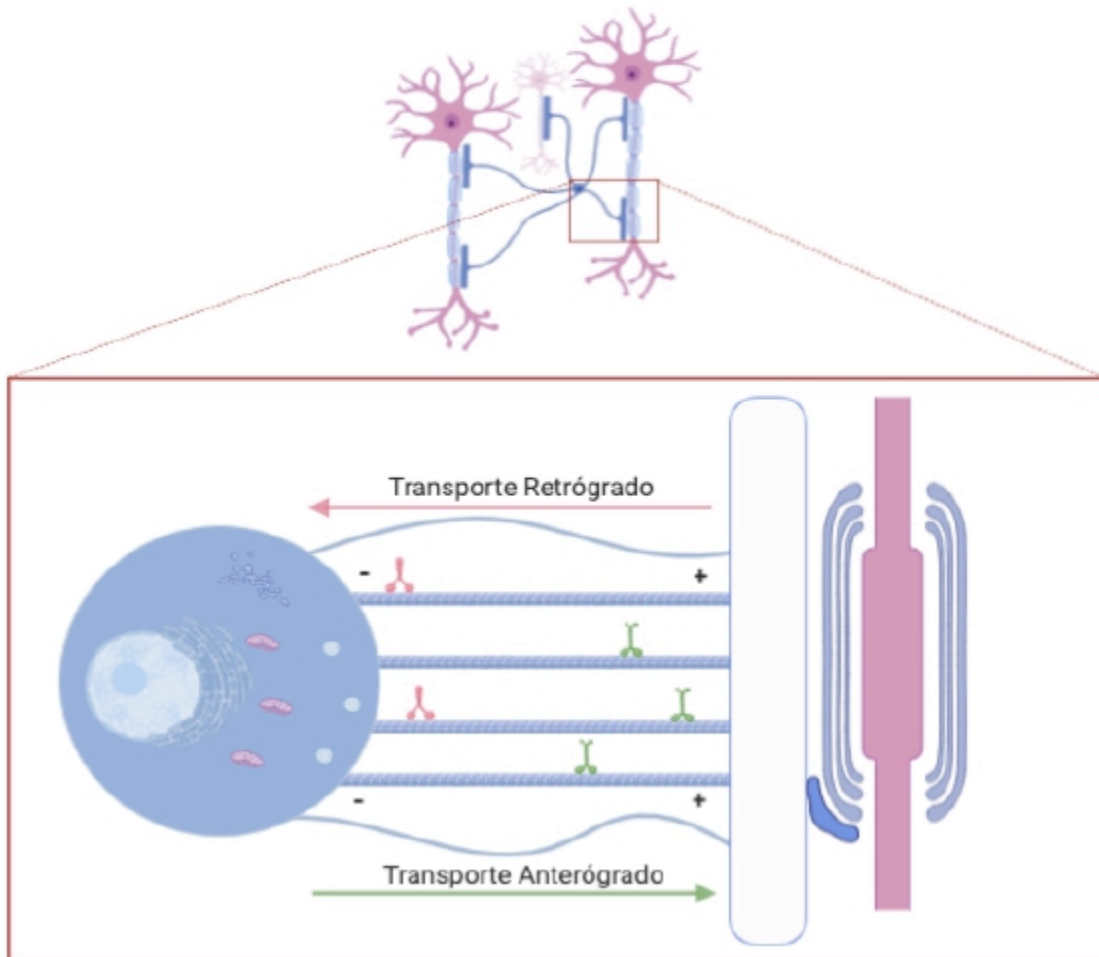


Figura 1.7: Esquema de la prolongación de la membrana de un oligodendrocito. Se observa la generación de ARNm y proteínas en el soma que viajan a través de vesículas hacia el sitio de síntesis de la vaina de mielina cerca del axón neuronal. Se observa el tráfico de proteínas motoras sobre los microtúbulos. En color rosa se muestra a la dineína desplazándose hacia el extremo - (transporte retrógrado) y en color verde a la kinesina que se desplaza hacia el extremo + (Transporte anterógrado).

1.3. Enfermedades desmielinizantes

Los trastornos desmielinizantes afectan tanto al cerebro como a la columna vertebral y tienen una gran variedad de etiologías. Se definen como la pérdida o disminución tanto aguda como crónica de la cantidad de mielina con relativa preservación de los axones [Love, 2006]. De manera general, pueden clasificarse en primarias y secundarias. Las enfermedades primarias se dan cuando un factor directo (conocido o desconocido) es el responsable de la pérdida de mielina, por ejemplo: la esclerosis múltiple (EM), leucodistrofias, tubulinopatías y otras enfermedades inflamatorias desmielinizantes de origen idiopático (IIDDs). Las Enfermedades desmielinizantes consideradas como secundarias se asocian a un origen infeccioso, isquémico, metabólico o tóxico [Barkhof and Koeller, 2020].

El diagnóstico de desmielinización conlleva importantes implicaciones terapéuticas y de pronóstico. Hasta hace algunos años, en la mayoría de los casos el diagnóstico se daba solo con base en la clínica (sintomatología) del paciente y la participación del histopatólogo se limitaba en gran medida a la confirmación postmortem [Love, 2006]. En años recientes, se ha propuesto a la Imagenología por Resonancia Magnética como el método de elección para la detección y clasificación de estos trastornos in vivo y de manera más precisa [Barkhof and Koeller, 2020].

La pérdida de mielina puede ocurrir como resultado de un daño directo a la vaina de mielina, indirectamente a través de un trastorno genético primario, o debido a un ataque sobre los OLs durante un proceso inflamatorio o de exposición a agentes tóxicos [Duncan and Radcliff, 2016]. La muerte de los OLs no es necesariamente un signo de enfermedad, los OLs pueden morir durante el desarrollo y la etapa adulta para permitir la plasticidad neuronal y el aprendizaje a largo plazo. Sin embargo, tanto los OLs como las OPCs son altamente vulnerables al estrés oxidativo debido a una baja de antioxidantes (como el glutatión) y a un alto contenido de hierro, que se requiere para

la actividad enzimática normal. El hierro, en combinación con peróxido de hidrógeno (del superóxido dismutado) puede producir radicales hidroxilo altamente reactivos, a través de la reacción de Fenton [Kuhn et al., 2019]. El exceso de agentes oxidantes y la disminución de los antioxidantes puede llevar a la desmielinización.

En las enfermedades de origen genético existen principalmente dos tipos de pérdida de mielina; hipomielinización, en donde los axones neuronales son mielinizados con una vaina de mielina delgada o casi inexistente [Duncan and Radcliff, 2016] y la dismielinización, en donde existe un problema para producir las proteínas que forman la vaina de mielina. Eventualmente, ambos procesos pueden llevar a la desmielinización [Love, 2006].

El objetivo principal de la terapéutica para este tipo de desórdenes es la remielinización, sin embargo, para aplicar estrategias de remielinización es esencial saber si el daño de la mielina resulta de un ataque primario a la mielina, al oligodendrocito, o a ambos, y si efectivamente conducen a la degradación de la mielina [Duncan and Radcliff, 2016].

1.4. Papel de la remielinización en la recuperación neural funcional

La remielinización es el proceso espontáneo mediante el cual los axones desmielinizados se envuelven con nuevas vainas de mielina que conducen a la recuperación funcional [Liebetanz and Merkler, 2006]. Se ha documentado que la remielinización ocurre en las lesiones inflamatorias agudas en pacientes con EM, y que además se asocia con la recuperación funcional y con las remisiones clínicas. La remielinización en estas lesiones se ha confirmado por criterios neuropatológicos en donde se observan “placas sombra” que se denominan así debido a que presentan niveles

intermedios de intensidad de la tinción de la mielina (tenues como una sombra) [Miron et al., 2011].

En modelos animales se ha demostrado que la remielinización está mediada por las OPCs que han respondido a las señales quimiotácticas, han migrado a la lesión, han proliferado, se han diferenciado en OLs maduros y han recubierto axones desmielinizados [Miron et al., 2011]. Las OPCs en la materia blanca adulta normal constituyen una población estable de células quiescentes que se dividen con poca frecuencia [Raff et al., 1986]. Sin embargo, después de la pérdida de oligodendrocitos y la desmielinización, como ocurre en la EM, las OPCs responden activando sus procesos de proliferación y migración, y finalmente se diferencian en oligodendrocitos formadores de vainas de mielina [Levine and Reynolds, 1999].

Esta transición de una población de OPCs inactiva a una activa, sensible a los mediadores de la reparación y capaz de experimentar una diferenciación, es fundamental para el éxito de la remielinización [Fancy et al., 2004]. Se ha observado que, en un modelo animal de desmielinización inducido por toxinas, las OPCs dentro de la lesión aumentaron su expresión de Nkx2.2 y Olig2 durante la fase aguda de la desmielinización, estos dos factores de transcripción en combinación son críticos para la diferenciación hacia oligodendrocitos durante la mielinización en la etapa del desarrollo (Figura 1.4). Esta activación no se asoció con aumentos en la expresión de Sonic hedgehog (Shh), que al parecer no resulta esencial para la remielinización del SNC. Consistente con un papel en la activación y diferenciación de las OPCs, estos aumentos se retrasaron en animales adultos viejos donde la tasa de remielinización se reduce [Fancy et al., 2004].

La activación de las OPCs implica que adopten una morfología hipertrófica, que aumenten la expresión de los genes asociados con la diferenciación oligodendroglial (como los factores de transcripción Olig2 y Nkx2.2) y que aumenten la capacidad de respuesta a los mitógenos y quimioatrayentes liberados por los astrocitos y microglía en el tejido lesionado [Robin et al., 2008, Dixon et al., 2018].

La respuesta de activación es proporcional a la reacción inflamatoria que ocurre con la desmielinización y se requiere para una remielinización exitosa [Chari et al., 2006]. Sin embargo, diversos autores reportan que la activación de la microglía y la presencia de astrocitos, como respuesta al proceso inflamatorio inducido por la desmielinización [Foote and Blakemore, 2005], afectan negativamente la remielinización. Se ha demostrado que la presencia de astrocitos activos impide la migración de las OPCs a las áreas desmielinizadas [Fok-Seang et al., 1998], por lo que lograr controlar los factores involucrados en la inflamación es una de las metas de la terapéutica para estas patologías.

1.5. La rata taiep como un modelo de enfermedades hipomielinizantes-desmielinizantes

Las mutantes de mielina proveen numerosas oportunidades para estudiar los mecanismos normales de mielinización y cómo éstos pueden ser perturbados [Duncan et al., 1992a]. La rata taiep, se obtuvo por el Dr. Björn Holmgren y la Dra. Ruth Urbá-Holmgren en el Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, a través del cruce selectivo de ratas Sprague Dawley [Holmgren et al., 1989].

En ese momento se dedujo que una mutación autosómica recesiva causaba el síndrome neurológico caracterizado por temblores, ataxia, episodios de inmovilidad, epilepsia y parálisis de las extremidades posteriores, que enuncia el acrónimo taiep [Holmgren et al., 1989]. Este síndrome es consecuencia de una hipomielinización en los neonatos que evoluciona hacia una desmielinización progresiva que afecta, en la edad adulta, a varias regiones del SNC como el nervio óptico, el fascículo gracilis y el tracto corticoespinal de la médula espinal [Duncan et al., 1992a, O'Connor et al., 2000b, Lunn et al., 1997]. Hoy se sabe que la desmielinización progresiva de la rata taiep se debe

a una mutación puntual en el gen *Tubb4a*. Esta mutación, que intercambia la alanina en la posición 302 por una treonina en la proteína β -Tubulina 4a de los OLs, ha sido encontrada en los modelos taiep tanto de la Universidad de Wisconsin [Duncan et al., 2017] como en el de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla [Garduño-Robles et al., 2020].

La mutación Ala302Thr de la β -Tubulina 4a resulta en la acumulación anormal de microtúbulos en el retículo endoplásmico liso de los OLs [Couve et al., 1997a, Duncan and Radcliff, 2016, Song et al., 2003a, Song et al., 1999a], lo que genera diversas consecuencias a nivel celular. Curiosamente, también se han identificado algunas mutaciones en el gen *TUBB4A* de pacientes humanos que sufren hipomielinización y atrofia de los ganglios basales y del cerebelo (H-ABC). Estos pacientes muestran signos clínicos y radiológicos similares a los de la rata taiep [Duncan et al., 2017, Garduño-Robles et al., 2020], lo que ha llevado a proponer a la rata taiep como un modelo animal para el estudio de las tubulinopatías [Eguibar et al., 2021].

Debido al mal funcionamiento de la red de microtúbulos en los OLs de la rata taiep, se ha observado la interrupción del transporte de diversos componentes de la vaina de mielina, en particular, se observa la disminución en la expresión y transporte de la proteína proteolipídica (PLP) [Song et al., 1999a]. Por otro lado, la polaridad no uniforme de los microtúbulos también podría ser responsable de la ralentización del crecimiento y/o maduración de los oligodendrocitos. Se ha descrito que el 20 % de los microtúbulos en los OLs de la rata taiep presenta sus extremos positivos dirigidos hacia el cuerpo celular (invertido con respecto al desarrollo normal) y aproximadamente el 80 % orienta sus extremos positivos distales al cuerpo celular [Lunn et al., 1997]. Esto interrumpe el transporte de las proteínas desde el soma celular hacia las vainas de mielina [Couve et al., 1997b, Möller et al., 1997b], lo que compromete su síntesis y mantenimiento. La administración de nocodazol, un fármaco antifúngico con una alta afinidad por los microtúbulos, es capaz de revertir parcialmente este fenómeno al inducir

una rápida despolimerización, sin embargo, los efectos sobre el organismo completo aún no se han descrito [Lunn et al., 1997].

El déficit en la producción de mielina se ve exacerbado debido a una insuficiencia de cinesina (proteína asociada a microtúbulos, responsable del transporte anterógrado de ARNm y proteínas en los OLs), así como a un aumento de dineína (proteína encargada del transporte retrógrado) [Duncan et al., 1992b, Lunn et al., 1997, Song et al., 1999b, Song et al., 2003b]). También se ha demostrado la presencia de microtúbulos unidos físicamente al retículo endoplásmico liso (REL) de los OLs de la rata taiep. Estas estructuras, denominadas elementos transitorios, impiden el libre tráfico de vesículas entre el aparato de Golgi y el REL, lo que pone en riesgo la síntesis de proteínas en el soma de los OLs [Couve et al., 1997b]. La formación de estos elementos transitorios es observable a través de microscopía electrónica de barrido desde el DPN9, afectando así los procesos tempranos de la mielinización [Couve et al., 1997b, Song et al., 2003b].

La neuroinflamación también desempeña un papel crucial en la desmielinización progresiva de la rata taiep. Se ha reportado el incremento del estrés nitrosativo, la peroxidación lipídica y la producción de citocinas proinflamatorias durante diversas etapas del desarrollo de la rata taiep [Leon-Chavez et al., 2006, Gómez-Díaz, 2017]. Este escenario desfavorable se ve agravado por la disminución de factores remielinizantes, como el FGF2 (Factor de crecimiento de fibroblastos 2) y la quimiocina CXCL1 [Soto-Rodriguez et al., 2015]. En conjunto, la peroxidación lipídica [Leon-Chavez et al., 2006, Leon-Chavez et al., 2001] y el transporte ineficaz de las proteínas de la vaina [Möller et al., 1997b, O'Connor et al., 2000b, Song et al., 2003b] conducen a una desmielinización progresiva. Como resultado, se observa una reducción de la concentración de lípidos en la médula espinal, el tallo cerebral, el cerebelo y la corteza cerebral de ratas taiep de 8 meses de edad [Eguibar et al., 2012].

En cuanto a la capacidad motora y el efecto de la desmielinización sobre la misma, se han evaluado la locomoción, a través de una prueba de pasarela [Anch

et al., 2000], y los episodios de inmovilidad inducidos por agarre (EIs) [Cortés et al., 2005]. En la evaluación de los EIs se ha demostrado que la administración de agonistas de los receptores $\alpha 2$ -adrenoceptor [Eguibar et al., 2006] y del receptor D2 para dopamina inducen la presencia de EIs [Eguibar et al., 2010]. Por el contrario, los agonistas de los receptores 5-HT1 [Ita et al., 2009], colinérgicos [Eguibar et al., 2006] y $\alpha 1$ -adrenoceptores [Cortés et al., 2007] disminuyen los EI. No obstante, aún no se ha evaluado la integración sensoriomotora, los reflejos perinatales, la motricidad fina y la fuerza muscular, ni tampoco algún posible agente terapéutico para la patología taiep. La evaluación de esos comportamientos podría proporcionar una visión de la gravedad del daño cerebral y un parámetro conductual para determinar la eficacia de estrategias neuroprotectoras emergentes.

Antecedentes

En la sección anterior se mostró que la rata taiep presenta daños severos en el sistema de transporte vesicular a través del citoesqueleto y, en particular, a través de los microtúbulos. Esto condujo a que, en nuestro laboratorio, se desarrollaran investigaciones al respecto en donde se evaluó el perfil de expresión de 84 genes que controlan la biogénesis, organización, polimerización y despolimerización de los elementos del citoesqueleto (filamentos de actina, filamentos intermedios y microtúbulos). Los resultados mostraron que la rata taiep presenta una desregulación, tanto en los genes involucrados en la polimerización de los filamentos de actina, como en aquellos que participan en la estabilización de los microtúbulos, desde el DPN15 y hasta el mes de edad [García-Robles, 2016]. Lo anterior sugiere que, además de las afectaciones directas sobre la polimerización de los microtúbulos (que se discutió en la sección 1.5), existe en la rata taiep una desregulación en la formación del filopodio y fibras de estrés, que están involucrados en la mielinización y en la formación de conos de crecimiento neuronal y neuritas. Esta desregulación produce también una falla en la interacción entre los microtúbulos y los filamentos de actina, lo que supone un déficit en la proliferación, diferenciación y migración celular [García-Robles, 2016].

Por otro lado, se ha considerado que agentes químicos con una importante actividad antioxidante pudieran mejorar distintos aspectos de la patología taiep, es por ello que en nuestro grupo de trabajo se decidió explorar a la taurina.

La taurina (ácido 2-aminoetanosulfónico) es un ácido sulfónico que deriva del metabolismo de la cisteína (Figura 2.1). Está extensamente distribuida en tejidos animales y es uno de los aminoácidos más abundantes en el cerebro de los mamíferos [Hussy et al., 2002]. De manera fisiológica, la taurina participa como neuroprotector, ya que previene la excitotoxicidad causada por glutamato. Esto al inhibir la entrada de calcio a las neuronas a través de su acción sobre los canales de calcio de tipo L, P/Q y N, y sobre los canales de calcio de tipo NMDA [Wu et al., 2005]. La taurina también actúa como antiapoptótico, al inhibir la activación de caspasa-3 y disminuir los niveles de Bax/Bcl2. Su función antioxidante se exhibe al prevenir el estrés mitocondrial, evita la generación de especies reactivas de oxígeno, y regula los niveles de producción de ión superóxido [Li et al., 2009]. También se ha asociado a la taurina con una importante actividad antiinflamatoria, a través de las holoaminas de taurina, metabolitos que inhiben la vía de señalización de NF- κ B, disminuyendo así la inflamación [Barua et al., 2001].

En modelos de daño al SNC, la taurina también ha mostrado tener un papel relevante para la recuperación. En un modelo de accidente cerebrovascular, la taurina muestra un efecto protector contra el daño sobre la materia gris y blanca (hipocampo y cuerpo calloso) a través de la inhibición de la sobreactivación de calpaína [Sun et al., 2012], y además, disminuye la degradación de la proteína básica de mielina causada por un modelo de traumatismo craneal cerrado [Gu et al., 2015].

En el cerebro en desarrollo (DPN5), la administración de taurina induce la proliferación de células madre neurales y aumenta la expresión de proteínas sinápticas [Gebara et al., 2015]. En cerebros adultos, la taurina también incrementa la proliferación celular a través de la activación de células madre quiescentes y reduce la activación

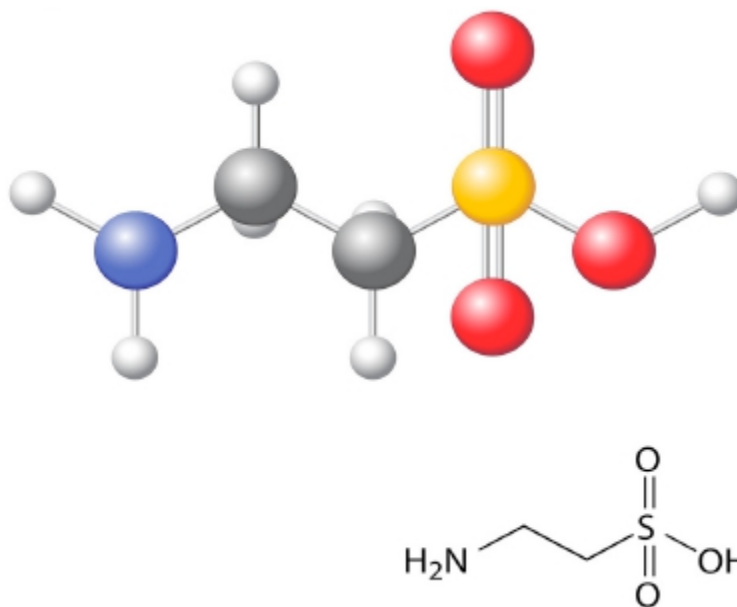


Figura 2.1: Estructura 2D y 3D de la molécula de taurina.

de la microglía. Aunado a esto, la taurina demostró aumentar la supervivencia de neuronas de novo, lo que incrementa la neurogénesis [Shivaraj et al., 2012] y promueve la diferenciación neuronal de células progenitoras neurales [Pasantes-Morales et al., 2015].

Dado que la taurina desempeña un papel fundamental modulando la neurotransmisión, se sugiere que podría controlar el deterioro sensorimotor en las ratas taiep. Por ejemplo, al actuar sobre los receptores de glicina y GABA(A) [Song et al., 2012], la taurina podría disminuir la excitotoxicidad inducida por el glutamato y de esta manera reducir la transmisión asíncrona, preexistente en la rata taiep, debido a una disfunción en los mecanismos de liberación de glutamato [Fuenzalida et al., 2009]. Este podría ser uno de los mecanismos por el cual la taurina disminuye los EI, tal como se demostró en [Gómez-Díaz, 2017].

Además del retraso en la aparición y la disminución de la duración de los EI [Gómez-Díaz, 2017, Vargas-Castro et al., 2021], en nuestro laboratorio se ha demostrado que la administración crónica de taurina en la rata taiep (50 ppm desde el E15 y hasta

los 8 meses de edad) regula la expresión de las quimiocinas CXCL1/CXCR2 y de los factores de crecimiento FGF2 y BDNF de manera dependiente de la región cerebral y de la edad evaluada. También se demostró que la taurina disminuye el estrés oxidativo y la lipoperoxidación de manera regio-dependiente, lo que podría disminuir el ambiente pro-inflamatorio en el cerebro de la rata taiep [Gómez-Díaz, 2017, Vargas-Castro et al., 2021].

También en nuestro grupo de trabajo, pero en un modelo de daño hipóxico-isquémico, la administración de taurina en la misma dosis (50 ppm) mejora el efecto pre-condicionante de la administración de zinc y, en conjunto, previenen el incremento del estrés nitrosativo, alteraciones metabólicas y déficits motores en ratas jóvenes [Gonzalez-Vazquez et al., 2021].

La taurina también ha demostrado tener efecto sobre los elementos del citoesqueleto. Se ha reportado que la taurina inhibe la polimerización de los MTs, cuando se evalúa su presencia en el axón gigante de calamar a una concentración de 0.5M, y que disminuye el contenido de proteínas asociadas a los MTs (MAPs) en este mismo modelo de estudio [Hashimoto et al., 1984]. También se ha reportado que algunos metabolitos de taurina como la cloroamina de taurina, son capaces de oxidar, con un alto grado de efectividad, a las cisteínas presentes en las tubulinas del microtúbulo y, a través de este mecanismo, inducir la despolimerización del microtúbulo [Landino et al., 2011].

Con todo lo dicho, se presume que la administración de taurina en los estados embrionario y perinatal podría mejorar el desarrollo neural en las ratas taiep.

Justificación

Las enfermedades desmielinizantes son un problema de salud pública en México. Según datos del Gobierno de México se estima que en el país existen cerca de 20 mil pacientes con Esclerosis Múltiple [Secretaría de Salud, 2020] y que de ellos, poco más de mil pacientes se encuentran en el Estado de Puebla [Betardo-Ramírez, 2017]. Sin embargo, los datos acerca de otro tipo de enfermedades desmielinizantes son escasos o inexistentes.

Los datos existentes para la EM indican que se trata de una enfermedad con un importante impacto en el sector económico, ya que sus principales afectados se encuentran entre la población económicamente activa, siendo el promedio nacional entre los 20 y 35 años de edad y el promedio para Puebla entre los 36-45 años [Betardo-Ramírez, 2017, Martínez-Juárez, 2019]. Además se estima que el costo del tratamiento ronda los 30 mil pesos (MXN) por paciente al mes (según informes del Instituto Mexicano del Seguro Social), lo que significa un presupuesto importante para el sector salud.

En cuanto a los casos en infantes se estima que existen en el país 50 casos de niños

con EM. Sin embargo, hasta 2018 no se contaba con registro de estas enfermedades en este sector de la población por lo que la cifra es altamente variable.

El rezago en los métodos de diagnóstico para este tipo de patologías, así como el subdiagnóstico podrían ser la causa de la falta de información, sobre todo cuando se trata de patologías que afectan a infantes y adolescentes. Recientemente se describió el primer caso de tubulinopatía H-ABC en México gracias a los avances en el diagnóstico por imagenología [Garduño-Robles et al., 2020]. Sin embargo, el camino es largo por recorrer.

El estudio de las enfermedades desmielinizantes así como su terapéutica cobra entonces relevancia a nivel regional, nacional e internacional debido al número creciente de pacientes diagnosticados con estas enfermedades. La rata taiep provee un modelo animal de estudio para estas patologías y la taurina podría proporcionar un posible agente terapéutico que ayude a mejorar la sintomatología de estos pacientes, siendo además una estrategia terapéutica de costo accesible. Es por ello que para esta investigación se propone la siguiente hipótesis.

3.1. Hipótesis

La taurina, a través de su acción antioxidante e inductora de neurogénesis, causará un incremento de mielina y mejorará las conductas motoras en la rata taiep.

3.2. Objetivo General

Evaluar el efecto de la administración crónica de taurina sobre la neurogénesis, la expresión de proteínas asociadas al citoesqueleto, la mielina y la actividad motriz en la

rata taiep.

3.2.1. Objetivos particulares

- Analizar la dinámica microtubular, con técnicas in silico, de la mutación presente en la β -tubulina 4a de la rata taiep.
- Evaluar el papel que desempeña la taurina en el proceso de neurogénesis en la rata taiep a los 30 días de edad
- Analizar el efecto de la administración de taurina en la mielina en la rata taiep
- Determinar el efecto de la taurina sobre la recuperación motora en la rata taiep

Metodología

4.1. Evaluación in silico del efecto de la mutación Ala302Thr en la β -Tubulina 4a de la rata taiep

Como se discutió en el capítulo 1, la mutación puntual del gen *Tubb4a*, responsable de la expresión de una β -Tubulina 4a deficiente, podría originar la patología taiep. Para evaluar, a nivel atómico, si existe algún cambio conformacional capaz de modificar la dinámica de polimerización microtubular se utilizaron las técnicas computacionales que se describen a continuación.

4.1.1. Modelado por homología de la β -Tubulina 4a de rata: nativa y mutada

La técnica de modelado por homología se describe como la predicción de la estructura terciaria de una proteína desconocida, usando como molde una estructura tridimensional (3D) conocida de una proteína homóloga [Nilges, 2006]. El método de modelado por homología se basa en el alineamiento de secuencias; se dice que dos proteínas son homólogas cuando sus secuencias aminoacídicas poseen

una identidad de al menos 40 % entre ellas [Apurva and Mazumdar, 2020].

Dado que se desconoce la estructura 3D de la β -Tubulina 4a de rata, esta proteína tuvo que modelarse por la homología con otras proteínas β -Tubulinas. Se obtuvo la secuencia para el gen *Tubb4a* para *Rattus norvegicus* (Rata) de la base de datos UniProtKB. Posterior a ello, se realizó un análisis BLAST y se encontró el porcentaje más alto de identidad con la estructura 3D correspondiente. Se construyó el modelo 3D de la proteína β -Tubulina 4a nativa, con el programa SCRWL4 [Krivov et al., 2009]. Se introdujo la mutación puntual Ala302Thr y se obtuvo el modelo 3D de la proteína β -Tubulina 4a mutada que representa a la proteína tal y como se produce en el modelo taiep.

El proceso de polimerización de los MTs involucra dos tipos de contactos entre las subunidades de tubulina: la unión cabeza-cola de los dímeros de α/β -Tubulina, que da lugar a los protofilamentos que recorren a lo largo el microtúbulo, y las interacciones laterales (α/α y β/β) que se dan entre protofilamentos paralelos para formar la pared del microtúbulo [Nogales et al., 1999]. Los contactos longitudinales a lo largo de los protofilamentos (α/β) parecen ser mucho más fuertes que los contactos entre protofilamentos adyacentes (β/β). Este efecto cobra sentido cuando se considera que la despolimerización implica el desgajamiento o peeling de los fragmentos de protofilamentos en los extremos de los microtúbulos, lo que requiere de interacciones atómicas (de origen electrostático, principalmente) que sean débiles [Mandelkow et al., 1991].

En el modelo taiep, cuando las β -Tubulinas forman parte del microtúbulo, la mutación Ala302Thr queda expuesta en la periferia de la proteína y forma parte de la superficie de contacto con la β -Tubulina vecina (interacción lateral β/β) y no del contacto longitudinal con la α -Tubulina, por lo que analizar los dímeros β/β resultó prioritario (Figura 4.1).

Los dímeros β -Tubulina 4a/ β Tubulina 4a se formaron al alinear 2 proteínas β -Tubulina de la misma naturaleza (2 proteínas nativas, o 2 proteínas mutadas).

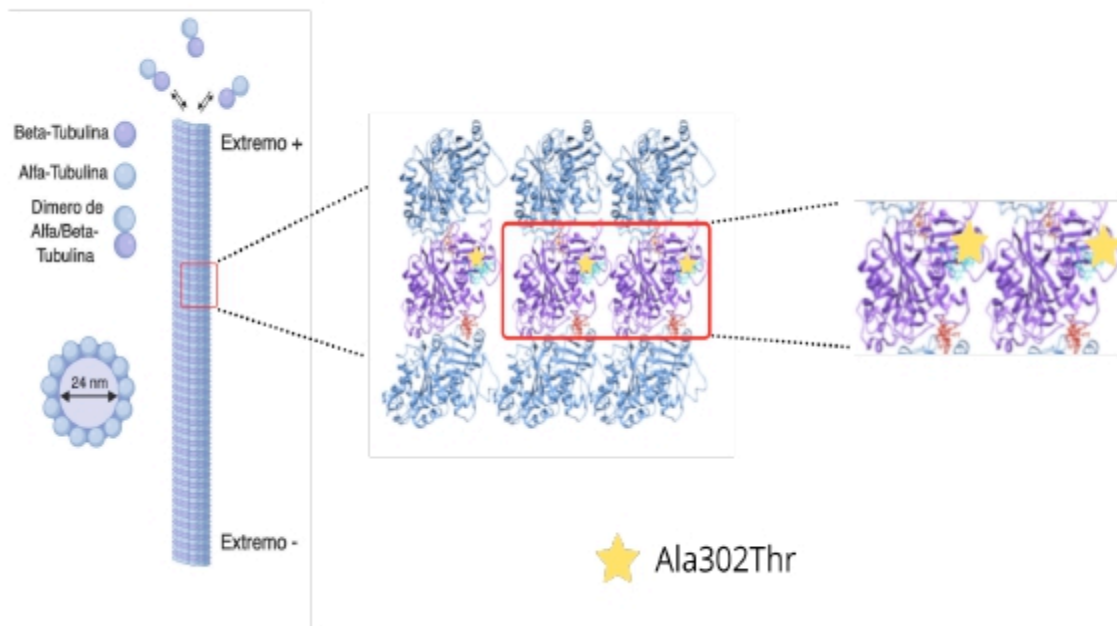


Figura 4.1: Ensamble del microtúbulo formado por los dímeros de α/β -Tubulinas. Se muestra cómo la mutación Ala302Thr, señalada con una estrella amarilla, se encuentra en la superficie de interacción lateral β/β .

Con el propósito de simular el ambiente en donde se lleva a cabo la polimerización microtubular, se empalmaron los dímeros β -Tubulina 4a/ β Tubulina 4a sobre la estructura del microtúbulo PDBID:3JAO (Figura 4.1). Ya que los dímeros de β/β -Tubulina se arreglaron en el espacio 3D de la misma forma en que lo hacen cuando se encuentran formando parte de un microtúbulo, se procedió con la dinámica molecular.

4.1.2. Dinámica Molecular del dímero β -Tubulina/ β -Tubulina

La Dinámica Molecular (DM) puede definirse como una técnica de simulación por computadora que permite predecir la evolución temporal de un sistema particular interactuante. Esto implica la generación de trayectorias atómicas del sistema mediante la integración numérica de la ecuación de movimiento de Newton para un potencial interatómico específico, definido por una condición inicial y una condición a la frontera [Roy et al., 2015].

La simulación consta de los siguientes pasos (Figura 4.2). Se preparó la topología indicando como sistema interactuante a los dímeros de β -Tubulina/ β -Tubulina y como solvente se utilizó agua en el modelo explícito, que coloca cuantas moléculas de agua sean necesarias para llenar la caja de simulación. Se agregaron iones al solvente de acuerdo con la carga de las proteínas, y se ajustó la temperatura hasta llegar a una temperatura final de 310K (37°C). Se llevó a cabo la primera simulación para obtener el estado de mínima energía del sistema. Una vez que se obtiene un valor negativo de la energía potencial, y que éste se mantiene constante, se continúa con la siguiente simulación, el equilibrio. El equilibrio consta de dos partes, en la primera se realiza una simulación utilizando un ensamble NVT (en donde se mantienen constante el número de partículas, volumen y temperatura) y, en una segunda simulación, se utiliza un ensamble NPT que ahora permite mantener constante la presión del sistema. Después de estas dos simulaciones el sistema se encuentra en equilibrio y a la presión y temperatura deseados. La siguiente simulación es la dinámica molecular propiamente; esta simulación reproduce el movimiento del sistema (dímeros β -Tubulina/ β -Tubulina + agua + iones) durante 100 nanosegundos (ns). Se realizó también la simulación para trímeros de β -Tubulinas con la finalidad de evaluar la estabilidad estructural de las proteínas en el microtúbulo. Todas las simulaciones se hicieron con el

programa GROMACS [Van Der Spoel et al., 2005] y se corrieron en un servidor (Pallas) con las siguientes características: CPU Intel i7-6800K, 6-cores, 3.40GHz; RAM de 128 Gb, Sistema Operativo Linux, Debian Jessie y GPU GeForce GTX 1050 Ti, 768 cores con 4GB de RAM. Esta parte de la investigación se desarrolló en el Laboratorio de Modelado Matemático y Desarrollo de Software Científico (FCQ-BUAP), a cargo del Dr. Juan Manuel Solano Altamirano.

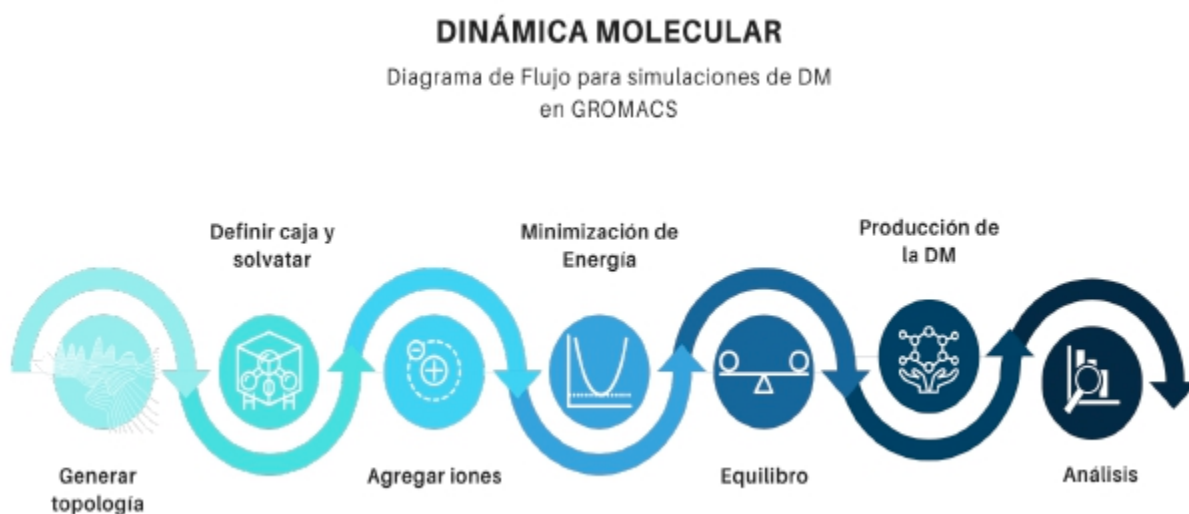


Figura 4.2: Diagrama general de flujo para las simulaciones que componen una dinámica molecular.

4.1.3. Acoplamiento Molecular

El acoplamiento molecular es uno de los enfoques más utilizados para el estudio del reconocimiento entre moléculas, su objetivo es predecir el modo de unión y la afinidad de unión de un complejo formado por dos o más moléculas con estructuras conocidas [Roy et al., 2015]. Para la primera serie de acoplamientos moleculares se utilizaron las técnicas de back docking y blind docking.

En un primer abordaje, se realizó el back docking o acoplamiento control. Esta técnica se utiliza para validar el método y, al mismo tiempo, para obtener

energías de interacción (ΔG) de un fármaco que se ha comprobado que tiene afinidad por ese sitio de unión específico [Scior, 2021]. Se consideraron los sitios de unión a fármacos en los dímeros de α -Tubulina/ β -Tubulina [Field et al., 2013]. En estos sitios, interactúan fármacos reguladores de la polimerización del microtúbulo como la colchicina (inhibidor de la polimerización), la vinblastina (desestabilizador), el taxol (estabilizador) y el nocodazol (inhibidor de la polimerización). Se acoplaron los 4 fármacos (en sus respectivos sitios de unión determinados por cristalografía de rayos X) y se obtuvieron los valores de ΔG con el programa AutoDock4 [Morris et al., 2009]. En el blind docking o acoplamiento experimental se colocó a la taurina en cada uno de los sitios de unión, anteriormente mencionados, y se calculó la ΔG .

Dado que la mutación Ala302Thr se encuentra en la interfaz de dimerización β/β , como se mencionó en la sección anterior, en un segundo abordaje se llevó a cabo el acoplamiento molecular de taurina en esta región para determinar si, a través de este mecanismo, la taurina pudiera desestabilizar los MTs de la rata taiep y mejorar su condición patológica.

De la simulación de dinámica molecular se obtuvieron 20 snapshots o tomas instantáneas de los últimos 20 ns de simulación, obteniendo así un muestreo de la conformación espacial 3D del dímero durante el equilibrio; estas tomas se obtuvieron tanto para los sistemas nativos como para los mutados. Sobre cada una de las tomas instantáneas (que son archivos en formato pdb con coordenadas espaciales específicas para cada átomo en ese instante en el tiempo) se realizó el acoplamiento molecular con taurina y se obtuvo la ΔG así como la posición espacial de interacción correspondiente a esa energía mínima.

Debido a que la literatura reporta que uno de los probables mecanismos de la acción de la taurina sobre el microtúbulo es a través de la acción de sus metabolitos, principalmente la cloroamina de taurina [Landino et al., 2011], se decidió hacer el mismo proceso de acoplamiento molecular citado en el párrafo

anterior pero ahora con la cloroamina de taurina (TauCl).

Todos los cálculos de acoplamiento molecular se llevaron a cabo en un servidor MacPro de uso personal (Alderan) con las siguientes características: CPU Intel Xeon Quad Core, 2.4 GHz, RAM 32GB, Sistema Operativo MacOS 10.13, High Sierra.

4.2. Protocolo Experimental

En el día embrionario 15 (E15) se administró taurina (Cat# T0625-100G, Sigma-Aldrich; Saint Louis, MO, EE.UU.) a ratas taiep y Sprague Dawley (grupo control) preñadas. La dosis administrada fue de 50 mg/L de agua de beber (50 ppm) [Pasantes-Morales et al., 2015, Worden and Stipanuk, 1985, Gonzalez-Vazquez et al., 2021]. Tras el nacimiento, la administración de taurina se proporcionó sólo a las crías macho hasta los ocho meses de edad. El tratamiento con taurina (dosis, vía de administración y tiempo) se seleccionó a partir de estudios postnatales ya que no hay antecedentes de la administración crónica prenatal en modelos desmielinizantes.

Las ratas se agruparon como sigue (1) SD, ratas macho Sprague Dawley sin tratamiento; (2) taiep, ratas macho taiep sin tratamiento; (3) taiep/Tau, ratas macho taiep tratadas con taurina. Los tres grupos fueron evaluados a lo largo del tiempo desde el DPN15 y hasta los 8 meses de edad (8 M). Por cada condición experimental se utilizó un mínimo de diez ratas para las pruebas de comportamiento motor ($n = 10$) y tres para las evaluaciones histoquímicas ($n = 3$).

4.2.1. Preparación de tejidos para procedimientos histoquímicos

Las ratas se anestesiaron con una mezcla de ketamina/xilazina (70 mg/6 mg) a una dosis de 200 μ L/100 g de peso corporal, por vía intraperitoneal. A continuación, las ratas se perfundieron transcardialmente con 200 mL de solución salina al 0.9 %, seguidos de 200 mL de paraformaldehído (PFA), preparado al 4 % en PBS, pH 7.4. Se obtuvieron los cerebros, se posfijaron en PFA al 4 % a temperatura ambiente durante 4 h y se crioprotegieron en una solución de sacarosa al 30 % a 4 °C por 5 días. Con un microtomo Leica SM2010 R (Leica biosystems División de Leica Microsystems Inc.; Buffalo Grove, IL, EE.UU.), se disectaron los cerebros enteros en cortes sagitales de 40 μ m de grosor. Los cortes histológicos se distribuyeron en serie en placas de 94 pozos que contenían 200 μ L de solución de colecta de tejidos (etilenglicol/glicerol) y se almacenaron a -20 °C hasta su procesamiento.

4.2.2. Ensayo de proliferación

A las ratas preñadas SD, taiep sin tratar y taiep/Tau se les administró bromodeoxiuridina (BrdU) en una dosis de 50 mg/kg de peso corporal [Vivar and Van Praag, 2013], por vía intraperitoneal cada 24 h desde el E15 hasta E18. Se obtuvieron los cerebros de las crías macho de 1 mes de edad y se procesaron de acuerdo al protocolo descrito en la sección anterior.

La inmunotinción contra BrdU se llevó a cabo por libre flotación. Las secciones de tejido se permeabilizaron y bloquearon con TBS++ (TBS 1X (0.1 M Tris-HCl/0.09 % de solución salina, pH 8.0) + 3 % de suero de cabra + 0.3 % de Triton X-100) durante 1 h. Después, los tejidos se incubaron con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-BrdU (dilución 1:250; Bio-Rad Cat# MCA2483, RRID: AB_808349) a 4 °C durante 36 h. Posteriormente, los tejidos

se enjuagaron tres veces con TBS 1X y se incubaron con peroxidasa de ratón IgG del kit VECTASTAIN^R Elite ABC-HRP durante 4 h (Vector Laboratories Cat# PK-4002, RRID: AB_2336811). La reacción se reveló con diaminobenzidina durante 5 minutos. Finalmente, los cortes se montaron en portaobjetos cubiertos de gelatina y los cubreobjetos se fijaron con resina de Entellan. Las imágenes se tomaron con un microscopio confocal (Nikon C2+, Nikon Instruments Inc.; Melville, NY, EE.UU.), operado en modo de luz transmitida, para reconstruir el giro dentado completo, el cerebelo y el tallo cerebral. A continuación, se contaron estereológicamente las células BrdU⁺ en un mínimo de 24 cortes (seleccionados cada 240 μm) por sujeto de experimentación. Para este propósito, se utilizó el plugin de conteo celular de ImageJ, ITCN (ImageJ, RRID: SCR_003070). Las imágenes se obtuvieron en el Laboratorio de Microscopía del Instituto de Fisiología - BUAP con la asesoría del Biol. José Luis Córdova de la Luz.

4.2.3. Cuantificación de Mielina

La mielina se tiñó siguiendo el procedimiento propuesto por [Kaatz et al., 1992]. La tinción se realizó por libre flotación del tejido. Las secciones de tejido se lavaron dos veces durante 1 min en TBS 1X y se incubaron en la solución “A” a 37 °C en un baño maría con agitación suave. La solución “A” contiene 12 mg de malato monosódico (Cat# M1125-5G, Sigma-Aldrich; Saint Louis, MO, EE.UU.) y 10 mg de nitroazul de tetrazolio (Cat# N6876-500MG, Sigma-Aldrich; Saint Louis, MO, EE.UU.) por cada 10 mL de TBS 1X, que contenía 0.8 % de Triton X-100 (v/v). Las secciones se enjuagaron dos veces, durante 1 min, con TBS. Posteriormente, se sumergieron en la solución “B” (que contiene 50 mg de diaminobenzidina y 4 g de sacarosa por cada 100 mL de PBS 0.1 M) durante 1 h a 37°C en un baño maría con agitación suave. La reacción se detuvo con dos lavados de 1 minuto con PBS. Los cortes tisulares teñidos se montaron en portaobjetos recubiertos de gelatina y se secaron al aire durante la noche para intensificar

la coloración. Los cubreobjetos se fijaron con resina Entellan. Finalmente, se tomaron imágenes de un mínimo de 24 cortes seleccionados cada 240 μm por cerebro de al menos 3 animales independientes (Total analizado: 72 cortes de cerebro por grupo) utilizando un microscopio digital Mustool G700 (Dongguan, China) para medir la densidad óptica, en las áreas seleccionadas, con el software ImageJ (ImageJ, RRID: SCR_003070).

4.2.4. Desarrollo Funcional

Los reflejos neonatales son automáticos, estereotipados y predecibles [Key, 2010], de ahí que la evaluación de diferentes pruebas, que midan el desempeño en tareas relacionadas con dichos reflejos, podría proporcionar una visión general del daño motor existente. Para ello se realizó la batería de pruebas motoras planteadas por [Feather-Schussler and Ferguson, 2016]. Estas pruebas evaluaron los signos neurológicos y neuromusculares de las ratas neonatales taiep sin tratamiento y tratadas con taurina, en comparación con las ratas SD control de la misma edad.

La prueba de aversión al precipicio evalúa los desequilibrios vestibulares que resultan de daños en el sistema vestibular [Feather-Schussler and Ferguson, 2016]. El sistema vestibular comprende varias estructuras del oído interno conectadas, a través del nervio vestibulococlear, al cerebelo y a los núcleos vestibulares del tallo cerebral [Khan and Chang, 2013]; el deterioro del sistema vestibular podría reflejar un daño directo de estos núcleos. La prueba se desarrolló en el DPN9, para ello se colocó a las crías en la parte superior de una caja (31 x 24 x 17 cm) para que exploraran la zona durante 30 s (Figura 4.3, inciso A). A continuación, se colocaron la cabeza y las extremidades delanteras de la cría en el precipicio de la caja y se midió el tiempo que tardaron para retirarse del mismo. La prueba se realizó tres veces por cría, y se calculó la media \pm EEM de al menos 10 crías por grupo.

La prueba de fuerza de agarre mide la fuerza muscular de las cuatro

extremidades al mismo tiempo [Feather-Schussler and Ferguson, 2016]. En el DPN11, las crías se pesaron y se colocaron en una malla horizontal (16 x 18 cm de largo x 1 mm de espesor) hasta que las cuatro extremidades de la cría empuñaron la malla. A continuación, la malla se giró lentamente desde una posición horizontal a una vertical para desafiar la gravedad (Figura 4.3, inciso B). Se midió el tiempo de caída (latencia de caída) y se usó para calcular el impulso colgante (peso corporal por la latencia de caída). La prueba se realizó tres veces por cría y se calculó la media \pm EEM de al menos 10 crías por grupo.

Las pruebas de suspensión de las extremidades delanteras y traseras evalúan la fuerza y la función neuromuscular de las extremidades [Feather-Schussler and Ferguson, 2016]. En el DPN13, las crías se suspendieron por las extremidades delanteras en un cable que cruzaba la parte superior de un recipiente de plástico (transparente de 3.5 L con un suelo acolchado) y se midió el tiempo que los animales resistían antes de caer (Figura 4.3, inciso C). Después de un descanso de al menos 30 minutos, en otra sesión, las crías se suspendieron por las extremidades traseras en el borde de un recipiente de vidrio transparente (15 cm x 6 cm con paredes interiores lisas y un suelo acolchado) y se midió el tiempo que los animales resistían antes de caer (Figura 4.3, inciso D). La prueba se realizó tres veces por cría, y se calculó la media \pm EEM de al menos 10 crías por grupo.

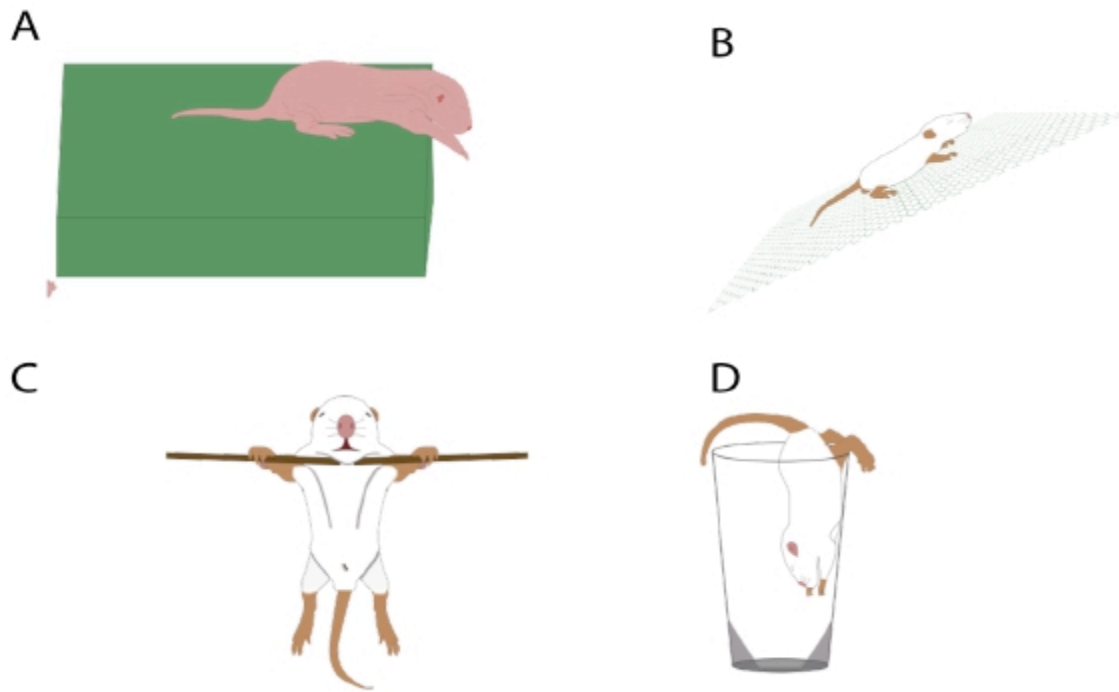


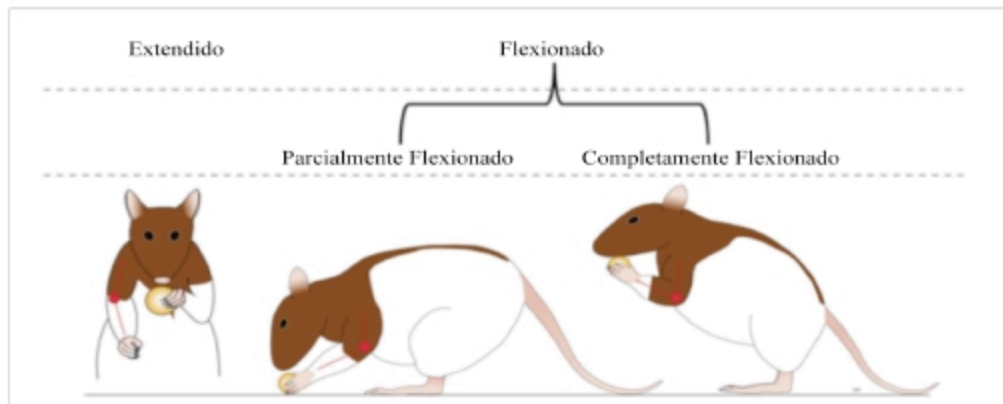
Figura 4.3: Esquema de las pruebas motoras perinatales A) Aversión al precipicio, B) Fuerza de agarre C) Suspensión de las extremidades delanteras D) Suspensión de las extremidades traseras.

Para evaluar el grado de recuperación en la función motora tras tres meses de tratamiento se utilizó la escala de Irvine, Beatties y Bresnahan (IBB). La escala IBB de recuperación de las extremidades anteriores refleja el grado de daño de la materia blanca y el deterioro de los sistemas motor y sensorial ascendentes [Irvine et al., 2014]. La Escala IBB puede detectar la recuperación de la función de las extremidades anteriores, tanto proximales como distales (incluyendo los movimientos de los dedos) durante un comportamiento que se produce de forma natural y que no requiere un entrenamiento o privación extensos para aumentar la motivación.

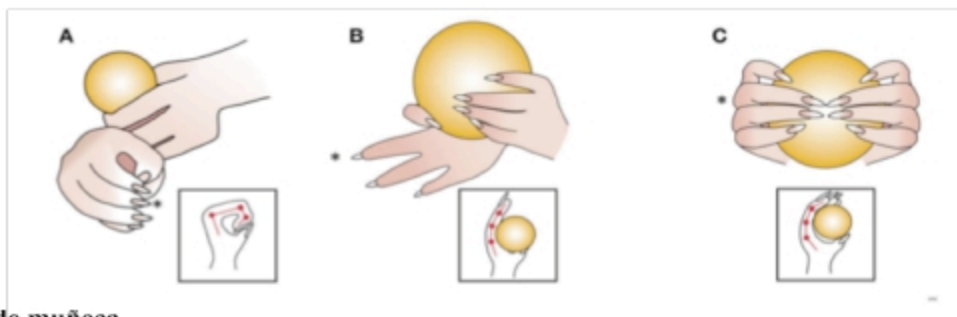
Se grabó en video a los animales mientras ingerían dos cereales de forma diferente, uno en forma de rosquilla (Kellogg's[®] Froot Loops[®], Kellogg Company

México, Querétaro, Qro., México), y el otro en forma de esfera (Nestlé[®] Nesquik[®] , Cereal Partners Worldwide, Ciudad de México, México), ambos de un tamaño consistente. Los videos se analizaron y se evaluaron características del uso de las extremidades anteriores, como la posición de las articulaciones, el apoyo de los objetos, el movimiento de los dedos y la técnica de agarre (Figura 4.4).

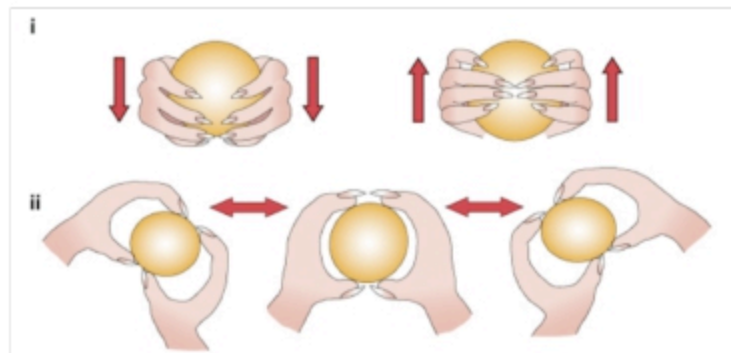
Posición predominante del codo



Posición predominante de la pata delantera



Movimientos de muñeca



Métodos de agarre



Figura 4.4: Esquema de los movimientos característicos afectados tras una lesión cortico-espinal y que son evaluados en la escala IBB. Modificado de [Irvine et al., 2014].

Todas estas características se registraron en una hoja de puntuación como la que se muestra a en la Figura 4.5 y a cada una se les asignó el puntaje correspondiente para, posteriormente, clasificar el grado de recuperación de acuerdo a la escala IBB que va de 0 (máximo nivel de daño motor fino) a 10 (sin daño). Esta escala es consistente con el nivel de recuperación motora y además es sensible a la gravedad de la lesión.

Número de Animal: _____ Forma del cereal: _____
 Experimento: _____

Escala de las extremidades anteriores de Irvine, Beatties y Bresnahan										
Posición Predominante de la articulación del codo	Movimientos proximales de las extremidades delanteras	Contacto con apoyo no-volar	Posición predominante de la pata delantera	Contacto con apoyo volar	Ajustes del cereal (control)	Movimientos de muñeca	Presencia de movimientos de dedos sin contacto			Método de agarre
							Dedo 2	Dedo 3	Dedo 4	
Estendida	No	Ninguno (<5%)	Sin movilidad	Ninguno (<5%)	No	No	No	No	No	Anormal
	Si (ligero)	Algo	Estendido	Algo	Si (exagerado)	Presencia de movimientos de dedos con contacto			Algunas veces normal	
Flexionada	Si (ligero)	Algo	Estendido	Algo	Si (exagerado)	Presencia de movimientos de dedos con contacto				Algunas veces normal
	Si (extenso)	Casi siempre (>95%)	Parcialmente estendido	Casi siempre (>95%)	Si (sutil)	No	No	No	Casi siempre normal	
Comentarios/Notas:										

Figura 4.5: Hoja de puntuación de la escala IBB. La primera mitad de la hoja representa la recuperación de la función de los miembros anteriores proximales y la última parte de la hoja se centra en la recuperación de los miembros anteriores distales. Modificado de [Irvine et al., 2014].

De manera general, el comportamiento también se modifica a través del aprendizaje sensorimotor. El aprendizaje sensorimotor se define como una mejora de la capacidad para interactuar con el entorno, interpretando el mundo sensorial y respondiendo a él con el sistema motor. La integración correcta de los circuitos sensorimotora permite adaptarnos e interactuar con el mundo exterior. Estas habilidades pueden ser evaluadas en las ratas gracias a comportamientos característicos como el acicalamiento [Makino et al., 2016]. Las ratas se acicalan compulsivamente y responden vorazmente a cualquier sustancia extraña que se les pegue en alguna parte del cuerpo. Las ventajas adaptativas de este comportamiento pueden incluir la termorregulación y el mantenimiento contra

los insectos [Schallert et al., 1982]. Haciendo uso de estos comportamientos característicos, se evaluaron los circuitos sensorimotores en las ratas taiep con la prueba de estimulación táctil bilateral a los 3 meses de edad [Schallert et al., 1982].

Para esta evaluación, los estímulos (pegatinas adhesivas) se adhirieron a la parte distal de cada una de las extremidades delanteras de la rata, primero la izquierda y en una segunda evaluación, la derecha. La evaluación se llevó a cabo en la jaula de origen de los animales para que no se distrajeran con un entorno nuevo. Al sentir el estímulo, los animales usaron sus dientes para quitar el estímulo. La latencia para eliminar los estímulos se utilizó como medida de la capacidad motora. Cada ensayo termina cuando la rata retira el estímulo, o cuando han transcurrido 2 minutos. Para evitar la habituación a los estímulos, los ensayos individuales deben realizarse en intervalos mayores a 5 minutos. El tiempo que se tarda el animal en retirar el estímulo es un índice de la función sensoriomotora.

4.2.5. Análisis Estadístico

Los valores se expresaron como la media \pm EEM. En los experimentos en los que se compararon dos grupos (taiep frente a SD o taiep frente a taiep/Tau), se realizó una prueba t de 2 colas para datos paramétricos. Para los experimentos en los que había más de dos grupos con una variable independiente, se realizó una ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Dunnett. Se utilizó un ANOVA de dos vías y un análisis post hoc de Bonferroni para más de dos grupos con dos variables independientes (trayectoria temporal). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software de análisis de datos GraphPad Prism 6 (GraphPad Prism, San Diego, CA, EE.UU. RRID: SCR_0158070).

Resultados

5.1. Modelado por homología

Se obtuvo el registro con número de identificación B4F7C2_RAT (UniProtKB) que corresponde a la secuencia aminoacídica de la β -Tubulina 4a de rata. Esta secuencia tiene una longitud de 444 aminoácidos y un peso molecular de 49.586 kDa. Dentro de UniProtKB, se realizó una búsqueda avanzada con la herramienta BLASTp (Basic Local Alignment Search Tool protein-protein). Esta búsqueda nos permitió comparar una secuencia de aminoácidos (estructura secundaria) contra la secuencia aminoacídica de una estructura cristalina obtenida por rayos X (estructura terciaria). Tras evaluar los resultados, se determinó que la estructura con mayor porcentaje de identidad (95.5 %) y con una resolución cristalográfica deseable era la estructura con código de identificación PDB 1JFF correspondiente a la β -Tubulina 2b de *Bos taurus*.

Utilizando el archivo de coordenadas tridimensionales 1JFF.pdb como plantilla, y la secuencia aminoacídica B4F7C2_RAT como objetivo, se obtuvo el modelo de la β -Tubulina 4a nativa para rata. Con el mismo procedimiento pero generando la mutación Ala302Thr se obtuvo el modelo de la β -Tubulina 4a mutada. Se muestran las dos estructuras 3D en la Figura 5.1. De manera análoga,

se obtuvo el modelo 3D de la α -Tubulina (nativa) para cálculos posteriores.

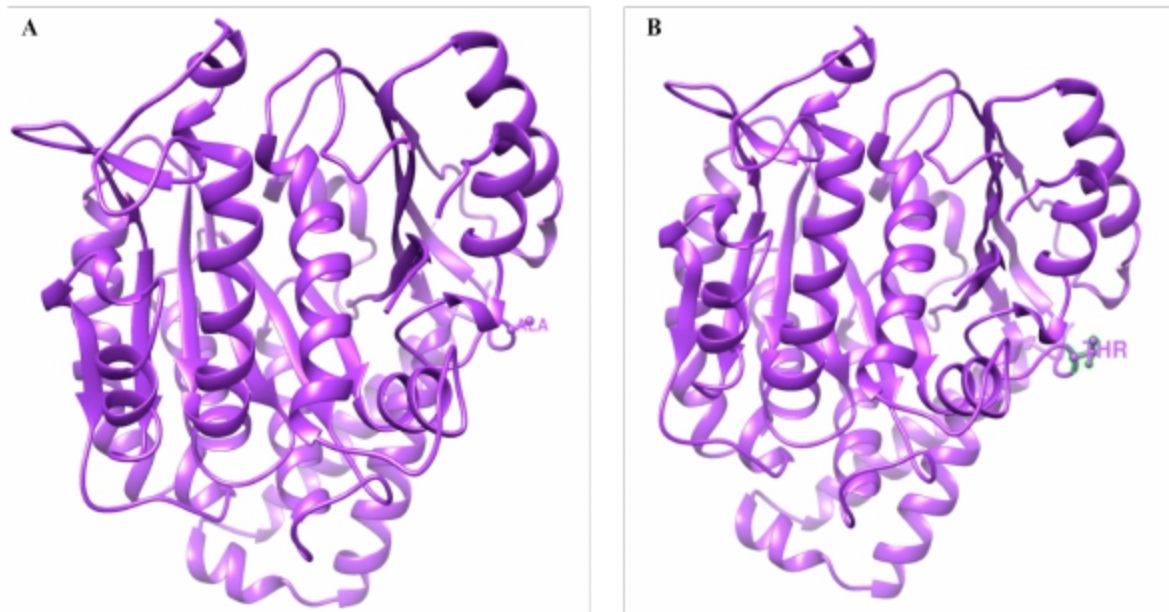


Figura 5.1: Modelos 3D para las proteínas β -Tubulina 4a de rata en sus formas A) Nativa y B) Mutada (Ala302Thr). Ambos modelos fueron creados con el programa SCWRL4 [Krivov et al., 2009].

5.2. Ajuste de los modelos tridimensionales de las β -Tubulinas 4a en la conformación espacial del microtúbulo

Con los modelos de las β -Tubulinas 4a de rata se generaron los dímeros de α/β -Tubulina y β/β -Tubulina con las proteínas β -Tubulina tanto nativas como mutadas. Para simular las condiciones en las que se encuentran estos dímeros cuando ya forman parte del microtúbulo se llevó a cabo la siguiente estrategia. Se utilizó como base la estructura del microtúbulo ensamblado con

código PDB 3JAO. Sobre esta estructura 3D, se seleccionaron las proteínas 33 y 34 (que forman un dímero α -Tubulina/ β -Tubulina) y las proteínas 28 y 33 (que forman un dímero β -Tubulina/ β -Tubulina) (Figura 5.2). Ya que se identificaron dichas proteínas, los modelos de las tubulinas de rata que se generaron en la sección anterior se empalmaron a las coordenadas de las proteínas respectivas, en un procedimiento que se conoce como fitting. El propósito de este empalme es que las proteínas, modeladas por homología, adquieran el ángulo, la distancia, y la curvatura adecuadas para representar la configuración del microtúbulo. El programa utilizado para este propósito fue SwissPDB Viewer [Guex and Peitsch, 1997].

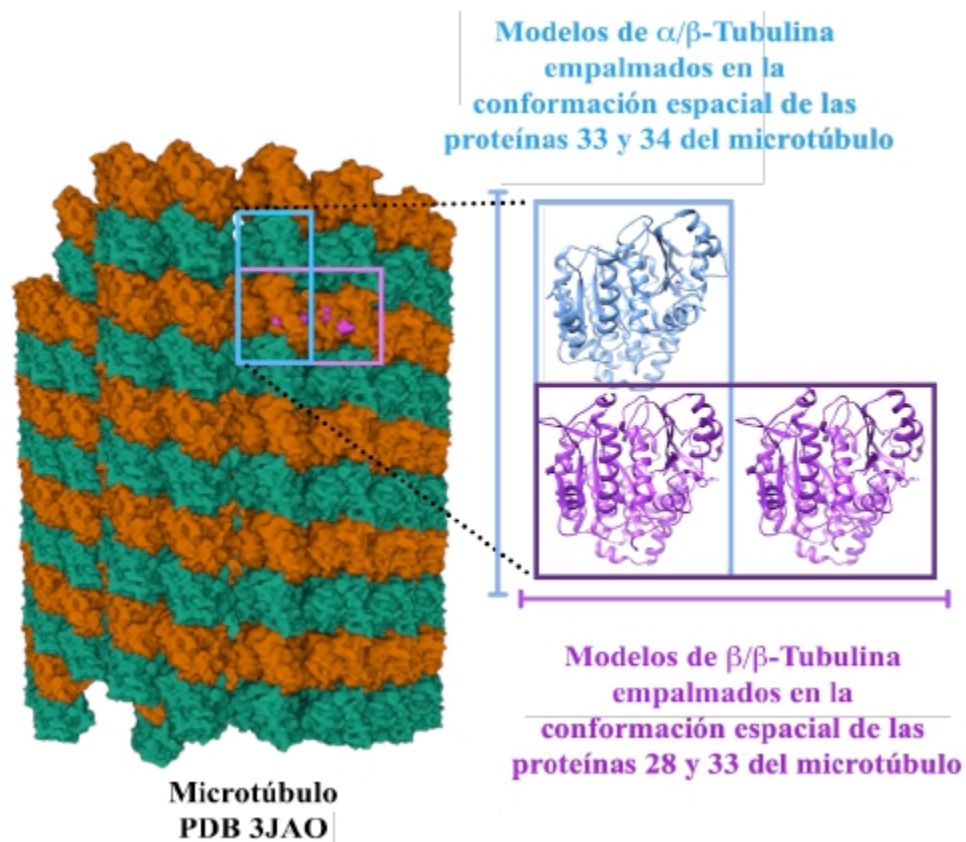


Figura 5.2: Empalme de los modelos tridimensionales generados con las proteínas correspondientes dentro de la estructura del microtúbulo. El empalme se realizó con el programa SwissPDBViewer [Guex and Peitsch, 1997].

5.3. La taurina no muestra afinidad por los sitios de unión para fármacos en el dímero α/β -Tubulina

En un primer abordaje, decidimos evaluar si la taurina tenía interacción en los sitios de unión para fármacos ya descritos en el microtúbulo. Para ello se identificaron los sitios para colchicina/nocodazol, vinblastina y taxol. Se acoplaron los fármacos a su sitio de acción y se obtuvieron las energías mínimas de interacción (ΔG) tanto para la β -Tubulina 4a nativa como mutada. Posteriormente, se reemplazó al fármaco por una molécula de taurina y se calculó nuevamente la energía mínima de interacción. Los valores obtenidos de energías de interacción para cada molécula se presentan en la tabla 5.1.

Molécula	ΔG (kcal/mol)	ΔG (kcal/mol)
	α/β -Tub Nativa	α/β -Tub Mutada
Colchicina	-8.59 ± 0.24	-7.99 ± 0.25
Nocodazol	-7.60 ± 0.08	-7.58 ± 0.08
Taurina	-4.37 ± 0.075	-4.36 *(P=0.015 vs Colchicina)
Vinblastina	-9.63 ± 0.32	-9.94 ± 0.30
Taurina	-3.84	-3.90 *(P<0.001 vs Vinblastina)
Taxol	-6.89 ± 0.09	-6.7 ± 0.1
Taurina	-2.75 ± 0.008	-2.67 ± 0.007 *(P<0.001 vs Taxol)

Tabla 5.1: La taurina se acopla con baja afinidad a los sitios activos del microtúbulo. Resultados del acoplamiento molecular para taurina en los respectivos sitios de unión a fármacos. Se muestra el valor de la ΔG (kcal/mol) \pm EEM de un total de 256 posiciones evaluadas por fármaco. Prueba t-student.

Se observa una reducción significativa en la ΔG cuando la taurina se acopla a los sitios de interacción de los fármacos (comparado con los resultados del backdocking o acoplamiento control), sugiriendo que la taurina posee una baja afinidad de unión con los aminoácidos presentes en dichos sitios.

5.4. La mutación Ala302Thr podría inducir la hiperpolimerización de los microtúbulos de la rata taiep

Derivado de la minimización y el equilibrio del sistema se obtuvieron los gráficos correspondientes a la energía potencial y al calentamiento. Se observa el decremento progresivo de la energía potencial resultado de la estabilización del sistema (Figura 5.3, inciso A). Los gráficos correspondientes al calentamiento muestran el incremento de la temperatura de 300 a 310 K y cómo esta temperatura se mantiene constante durante toda la simulación (Figura 5.3, inciso B).

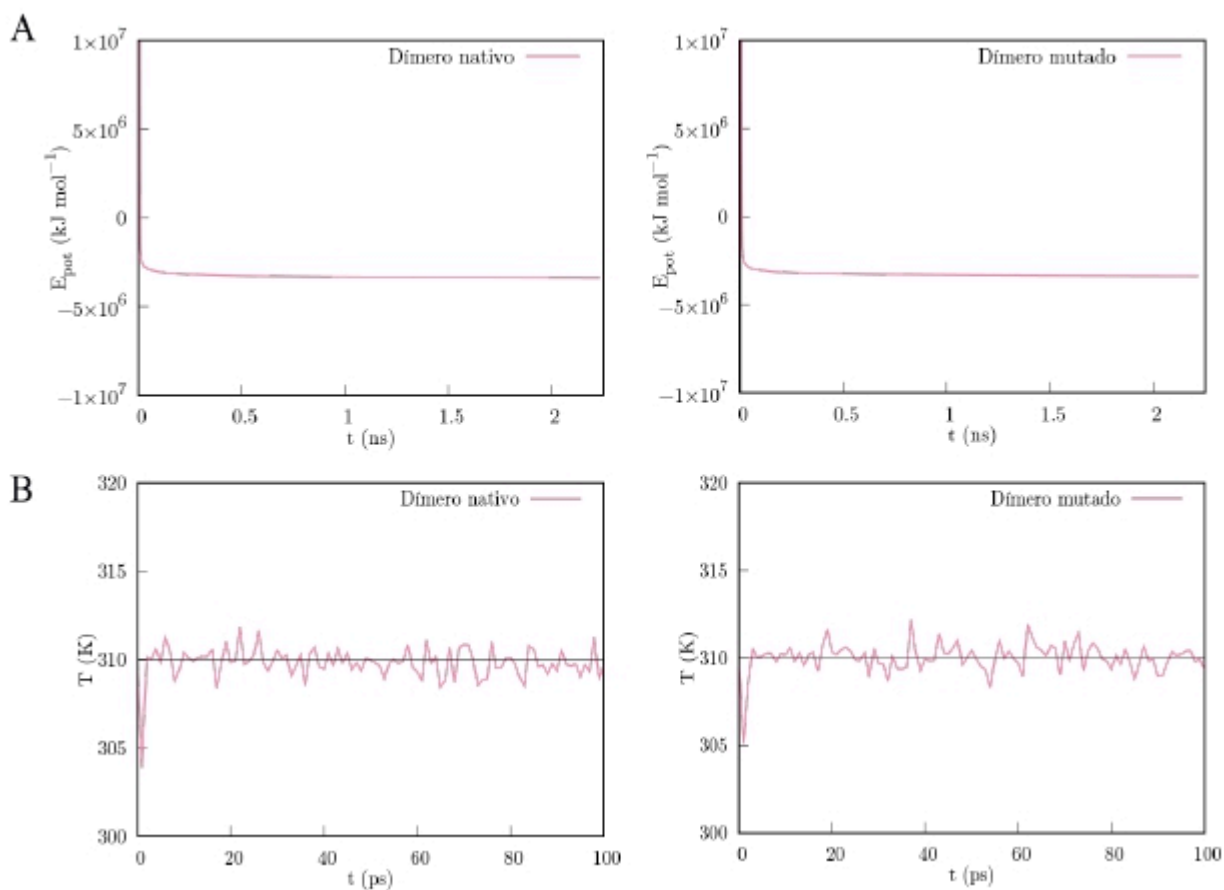


Figura 5.3: Minimización y equilibrio de los sistemas β/β -Tubulina por Dinámica Molecular. A) Energía potencial. B) Temperatura. Todos los cálculos se llevaron a cabo con el programa GROMACS [Van Der Spoel et al., 2005].

Posterior a la dinámica molecular, se obtuvieron los gráficos del radio de giro y de la desviación cuadrática media (RMSD). El radio de giro (R_g) indica el grado de compactación de la proteína, es decir, en qué grado la proteína mantiene las estructuras secundarias iniciales (α -hélices, hojas- β) o si estas estructuras se descompactan generando una proteína más laxa y con bucles como estructuras secundarias predominantes. Por otro lado, el RMSD indica la variación en la distancia de los átomos entre dos proteínas superpuestas (en este caso la posición final vs la posición inicial).

Al analizar el R_g del dímero de β/β -Tubulina nativo, se observa la descompactación de las proteínas, especialmente durante los primeros 50 ns de simulación, pero el efecto se mantiene de manera constante hacia los 100 ns (Figura 5.4, inciso A). Este efecto se refleja también en la variación que presenta el gráfico de RMSD de este dímero (0.2 nm , Figura 5.4, inciso B), por lo que se puede concluir que los dímeros de β/β -Tubulina nativa son estructuralmente flexibles y dinámicos.

Por el contrario, al analizar el R_g del dímero β/β -Tubulina mutado, se observa que las proteínas se mantienen compactadas y con variaciones mínimas en el RMSD (Figura 5.4, incisos B y D) sugiriendo una mayor estabilidad estructural en comparación con el dímero nativo. Esta inmovilidad de las β/β -Tubulinas mutadas probablemente sea la causa de la hiperpolimerización del microtúbulo en la rata taiep.

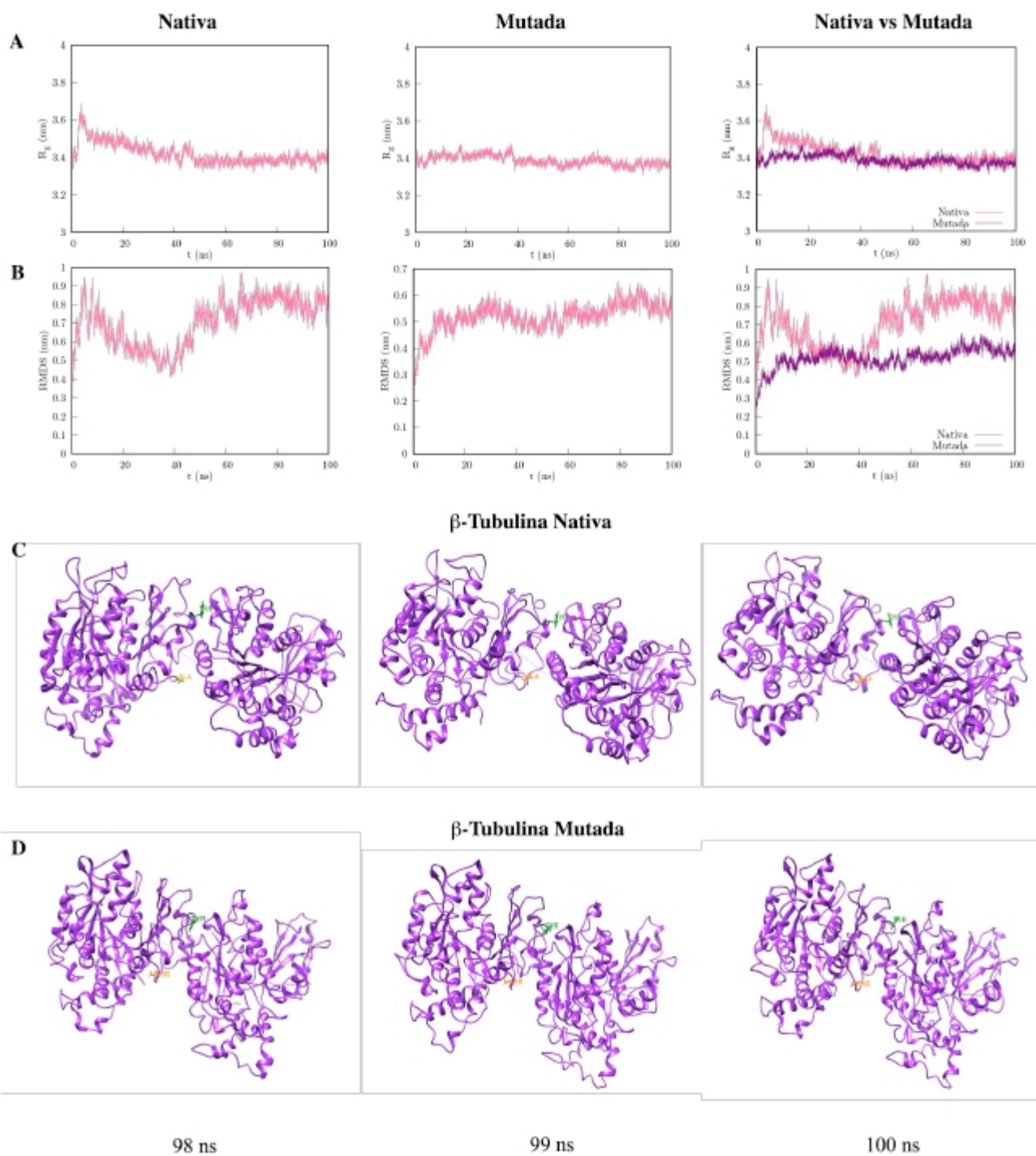


Figura 5.4: Los dímeros de β -Tubulina mutada son estructuralmente más estables que los dímeros de β -Tubulina nativa. Análisis de la estabilidad estructural de los sistemas β/β -Tubulina. A) Radio de giro y B) RMSD; C) y D) Trayectoria en los últimos 3 nanosegundos de simulación.

Un efecto destacable del análisis de la trayectoria es el hecho de que, en la β -Tubulina mutada, el aminoácido tirosina 287 (marcado en verde, Figura 5.4, inciso D) pareciera inhibir separación de las β -Tubulinas, efecto que no se observa en las proteínas nativas. Esta Tyr287 forma parte del bucle que se localiza entre la hoja beta número 7 (sheet7) y la alfa hélice número 9 (helix 9), por lo que se le conoce como bucle S7-H9. Se ha demostrado que el elemento central de las interacciones laterales en el microtúbulo es precisamente este bucle, que se compone de los aminoácidos: RGSQQYRA en las posiciones 282-289 de la β -Tubulina. El bucle M (de Microtúbulos, ya que su interacción con la β -Tubulina vecina ayuda a mantener la pared del microtúbulo) se proyecta desde un lado del protofilamento y hace contacto estrecho con la hélice 3 (H3), con la parte C-terminal del bucle H2-S3 y con parte del bucle H1-S1 en la β -Tubulina del protofilamento adyacente [Nogales et al., 1999], (Figura 5.5, inciso B).

En nuestros resultados observamos que, al empalmar las posiciones de los dímeros β/β -Tubulina mutado vs los dímeros β/β -Tubulina nativos en su última posición (ns 100), existe una gran variación en las posición del bucle M (RMSD de 9.876 nm) en la proteína mutada comparada vs la proteína nativa. Además se encontró que al analizar la densidad de superficie, el bucle mutado tiene un mayor traslape de densidad con el bucle H1-S1 de la β -Tubulina adyacente que el bucle nativo con su respectiva vecina (Figura 5.5, incisos C,D). Esto sugiere que la cercanía del bucle M con la β -Tubulina adyacente en la rata taiep, aunado a la falta de flexibilidad de las proteínas pudiera ser el efecto responsable de la hiperpolimerización de los MTs en este modelo. La mutación Ala302Thr podría inducir algún cambio conformacional que, de manera directa o indirecta, pudiera variar el posicionamiento 3D del bucle M.

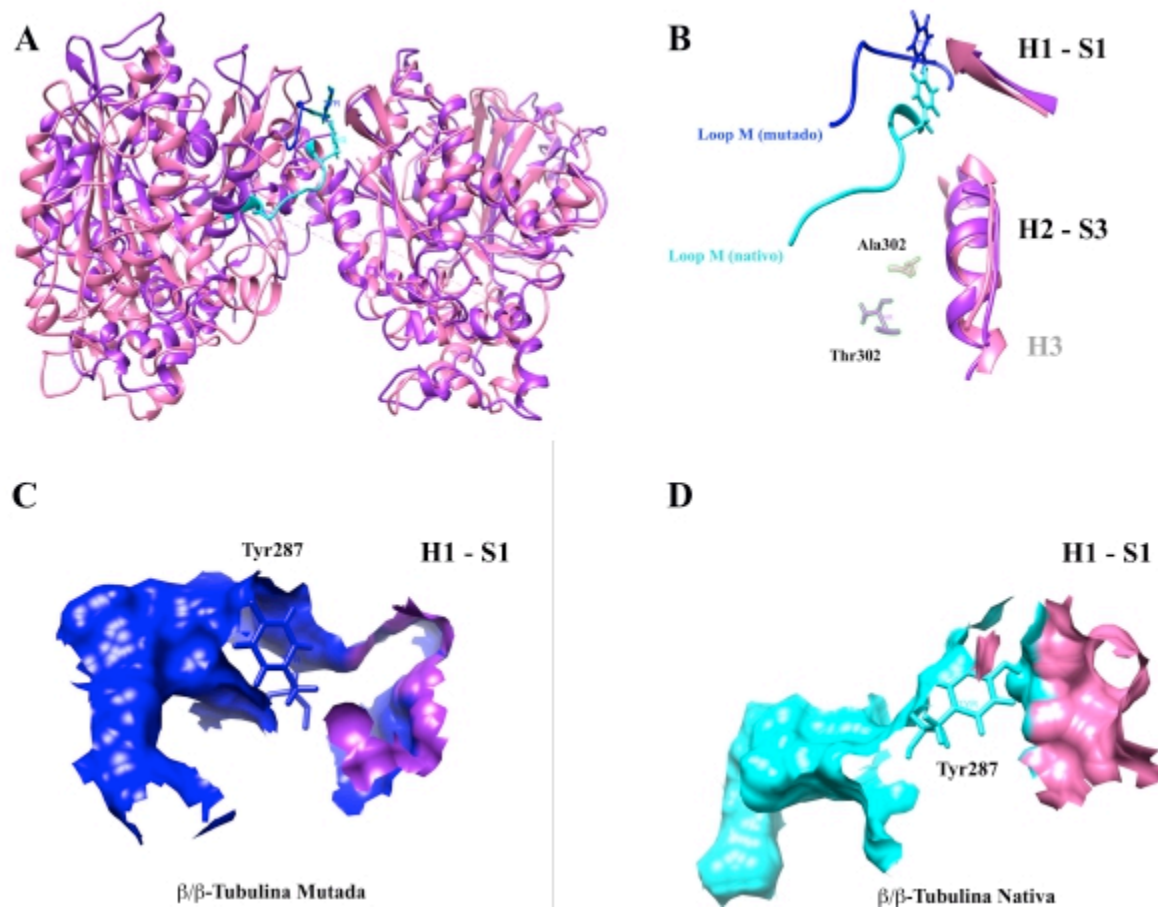


Figura 5.5: La mutación Ala302Thr podría inducir la hiperpolimerización del microtúbulo en la rata taiep. A) Empalme de las estructuras finales (ns 100) de los dímeros β/β tubulina mutados (morado) sobre los nativos (rosa). B) Interacciones laterales para los bucles M. C) Mapa de densidad sobre el bucle M y el bucle H1-S1 del dímero β/β tubulina mutado. D) Mapa de densidad sobre el bucle M y el bucle H1-S1 del dímero β/β tubulina nativo.

Para evaluar el efecto bilateral de la mutación Ala302Thr se ejecutó la dinámica molecular también en trímeros de β -Tubulinas. Nuevamente se observan variaciones en el R_g para el trímero nativo que no se observan en el trímero mutado (Figura 5.6, inciso A). Esto sugiere que, a pesar de que las proteínas se encuentran más retringidas por el incremento en las interacciones atómicas, intrínsecamente sigue existiendo una laxitud de la estructura secundaria (Figura 5.6, inciso C) que pudiera deberse a la necesidad de una alta dinámica estructural. Este efecto no se observa en el trímero mutado, por el contrario, el valor del R_g se mantiene constante durante toda la simulación a pesar de existir cambios en el RMSD (Figura 5.6, inciso D).

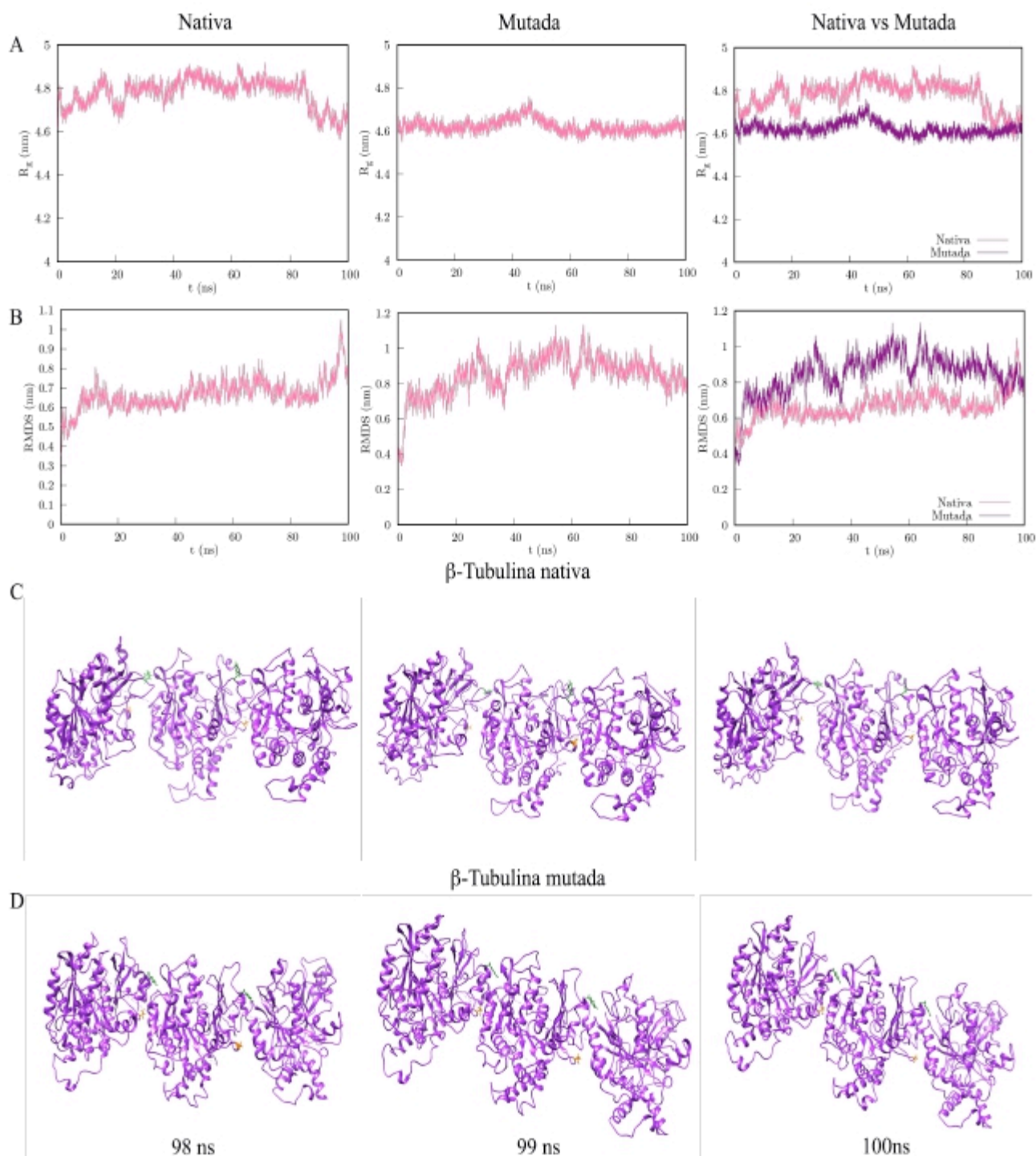


Figura 5.6: Los trímeros de β -Tubulina mutada son estructuralmente más estables que los trímeros de β -Tubulina nativa. Análisis de la estabilidad estructural de los sistemas β/β -Tubulina triméricos. A) Radio de giro y B) RMSD para el dímero β -Tubulina nativo; C) y D) Trayectoria en los últimos 3 nanosegundos de simulación.

5.5. La cloroamina de taurina podría inducir la despolimerización del microtúbulo en la rata taiep

Se realizaron los cálculos para la taurina y la cloroamina de taurina en la interfaz de dimerización β/β . Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5.2.

Molécula	ΔG (kcal/mol)	ΔG (kcal/mol)
	β/β -Tub Nativa	β/β -Tub Mutada
Taurina	-3.69 ± 0.048	-3.69 ± 0.048
Cloroamina de Taurina	$-4.83^* \pm 0.072$	$-4.43 \pm 0.086^*$

Tabla 5.2: La cloroamina de taurina muestra mayor afinidad por la interfaz de dimerización β/β -Tubulina mutada. Resultados del acoplamiento molecular para taurina y cloroamina de taurina. Se muestra el valor de la ΔG (kcal/mol) \pm EEM de un total de 20 cálculos por sistema, *P<0.05 vs Taurina. Prueba t-student.

Se observa una diferencia significativa entre el valor de la ΔG (kcal/mol) para la taurina en comparación con la cloroamina de taurina, siendo esta última la molécula más reactiva tanto para los dímeros nativos como los mutados.

Al analizar las energías de unión más altas y la posición 3D en la que se encontraba la taurina o la cloroamina de taurina en ese valor de energía, encontramos que la ΔG más alta para cloroamina de taurina se obtiene cuando interactúa con el aminoácido tirosina 287 (Tyr287) (Figura 5.7, inciso D). Incluso cuando se evalúa la segunda energía más alta (Figura 5.7, inciso E) el caso se repite. Esto podría sugerir que la interacción de la cloroamina de taurina con el aminoácido Tyr287 desestabiliza el dímero de β/β -Tubulina en la rata taiep, mejorando posiblemente los procesos de transporte vesicular en los microtúbulos.

5.6. La taurina regula la proliferación celular en el giro dentado y la protuberancia anular de ratas taiep de 1 mes de edad

Para evaluar el efecto de la taurina sobre la proliferación celular en la etapa perinatal se realizó el conteo de células BrdU+ en el giro dentado del hipocampo, el cerebelo y la protuberancia anular del tallo. Se encontró que las células BrdU+ disminuyen significativamente ($19 \pm 1.16 \%$, $P = 0.0049$) en el giro dentado del grupo taiep sin tratamiento en comparación con el grupo SD. Esta disminución se previno con el tratamiento con taurina ($P = 0.0295$) (Figura 5.8, incisos A y B).

En la protuberancia anular del tallo cerebral se observó un efecto opuesto, ya que se encontró un aumento del número de células BrdU+ ($18 \pm 2 \%$, $P = 0.0051$) en el grupo taiep sin tratamiento en comparación con el grupo SD. Este aumento también se evitó con la administración de taurina (Figura 5.8, inciso C). No se encontraron diferencias significativas en la proliferación celular en el cerebelo de las ratas taiep no tratadas o tratadas con taurina en comparación con el grupo SD (Figura 5.8, inciso D).

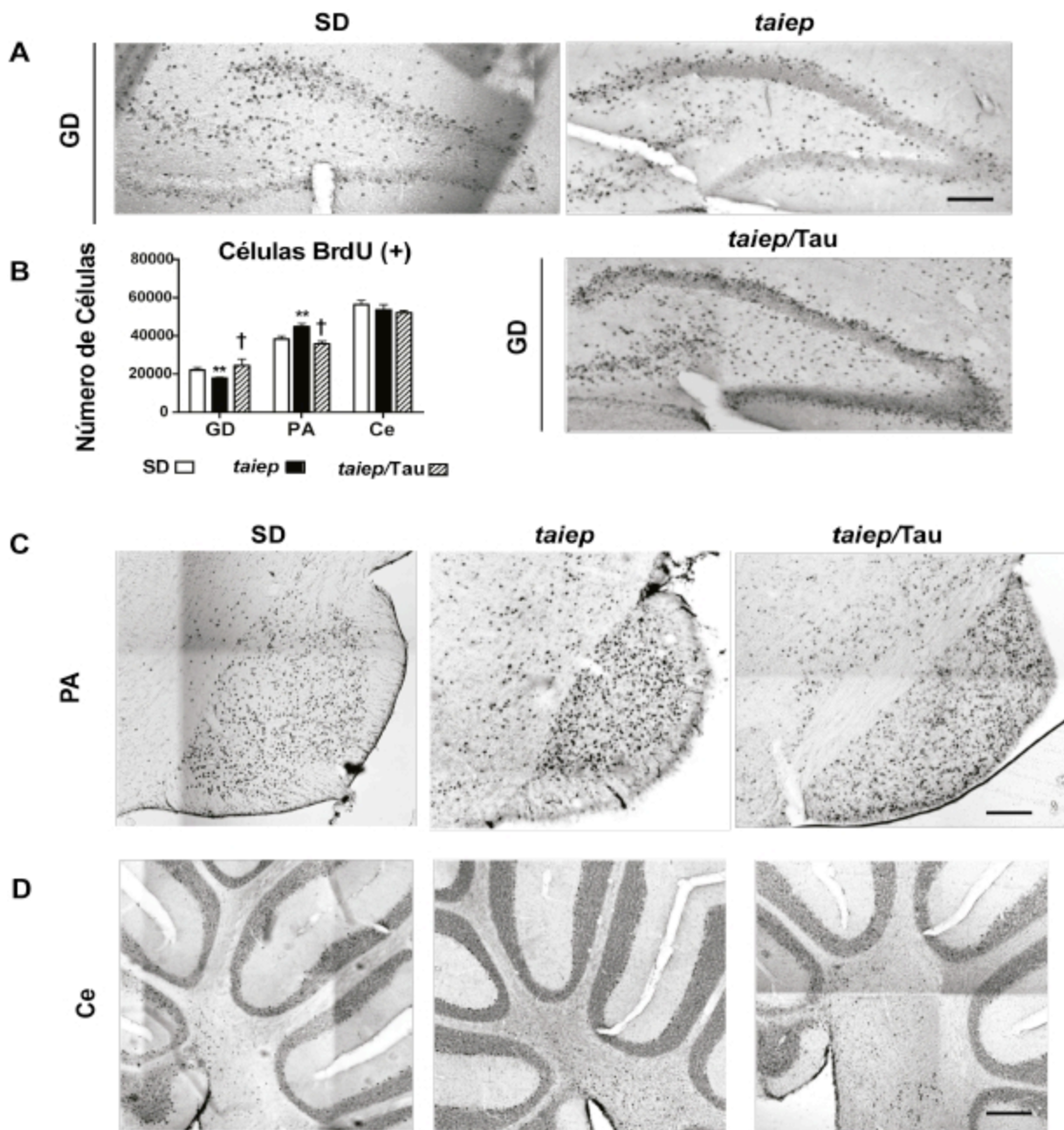


Figura 5.8: La administración gestacional de taurina aumenta la proliferación celular en el giro dentado de las ratas macho taiep y regula la proliferación celular en la protuberancia anular y el cerebelo al mes de edad. Inmunohistoquímica contra BrdU. Micrografías representativas integradas por varios aumentos de 10X de A) giro dentado (GD), C) protuberancia anular (PA) y D) cerebelo (Ce). Los valores se expresan como la media \pm EEM. *P < 0.05 vs SD. †P < 0.05 frente al grupo taiep sin tratamiento. Barra de escala = 30 μ m. Prueba t-student.

5.7. La ingesta de taurina a largo plazo mejora la pérdida de mielina en la rata taiep

Se exploró la posibilidad de que el aumento de la proliferación celular, inducido por la taurina al mes de edad, pudiera generar OPCs que se diferenciaron en oligodendrocitos mielinizantes y, en última instancia, revirtieran el proceso de desmielinización. La tinción de mielina confirmó la hipomielinización en ratas taiep de 1 mes de edad, así como la pérdida progresiva de mielina hasta los 8 meses de edad (Figura 5.9, inciso A). La administración de taurina aumentó el contenido de mielina (evidenciado a través del incremento de la densidad óptica) desde el mes 1 y hasta los 8 meses de edad (Figura 5.9, inciso B,C,D,E). Esto sugiere que la taurina podría estimular la producción de mielina de manera proporcional a la edad, principalmente en la Médula oblongata, la protuberancia anular, y en el cerebelo, tal como se muestra en la Tabla 5.3.

	1M	3M	6M	8M
Médula Oblongata	ns	53 ± 3 % t(12)=10.69, P<0.0001	28 ± 5 % t(12)=3.604, P<0.05	ns
Protuberancia Anular	ns	11 ± 3 % t(12)=3.772, P<0.05	40 ± 5 % t(12)=4.897, P<0.01	55 ± 7 % t(12)=5.083, P<0.01
Mesencéfalo	24 ± 5 % t(12)=4.109, P<0.05	ns	ns	ns
Cerebelo	19 ± 5 % t(12)=3.358, P<0.05	ns	43 ± 5 % t(12)=5.724, P<0.01	ns
Cuerpo caloso	ns	36 ± 3 % t(12)=8.889, P<0.0001	ns	ns
Cápsula externa	20 ± 5 % t(12)=3.442, P<0.05	36 ± 3 % t(12)=9.405, P<0.0001	ns	ns

Tabla 5.3: La administración de taurina a largo plazo previene parcialmente la pérdida de mielina en la protuberancia anular de la rata taiep. Se muestran los porcentajes de incremento en el contenido de mielina en el grupo taiep/Tau comparado contra el grupo taiep sin tratamiento. Se expresan los valores como el promedio ± EEM de 24 cortes por cerebro de al menos 3 animales. Prueba t-student. ns, no significativo.

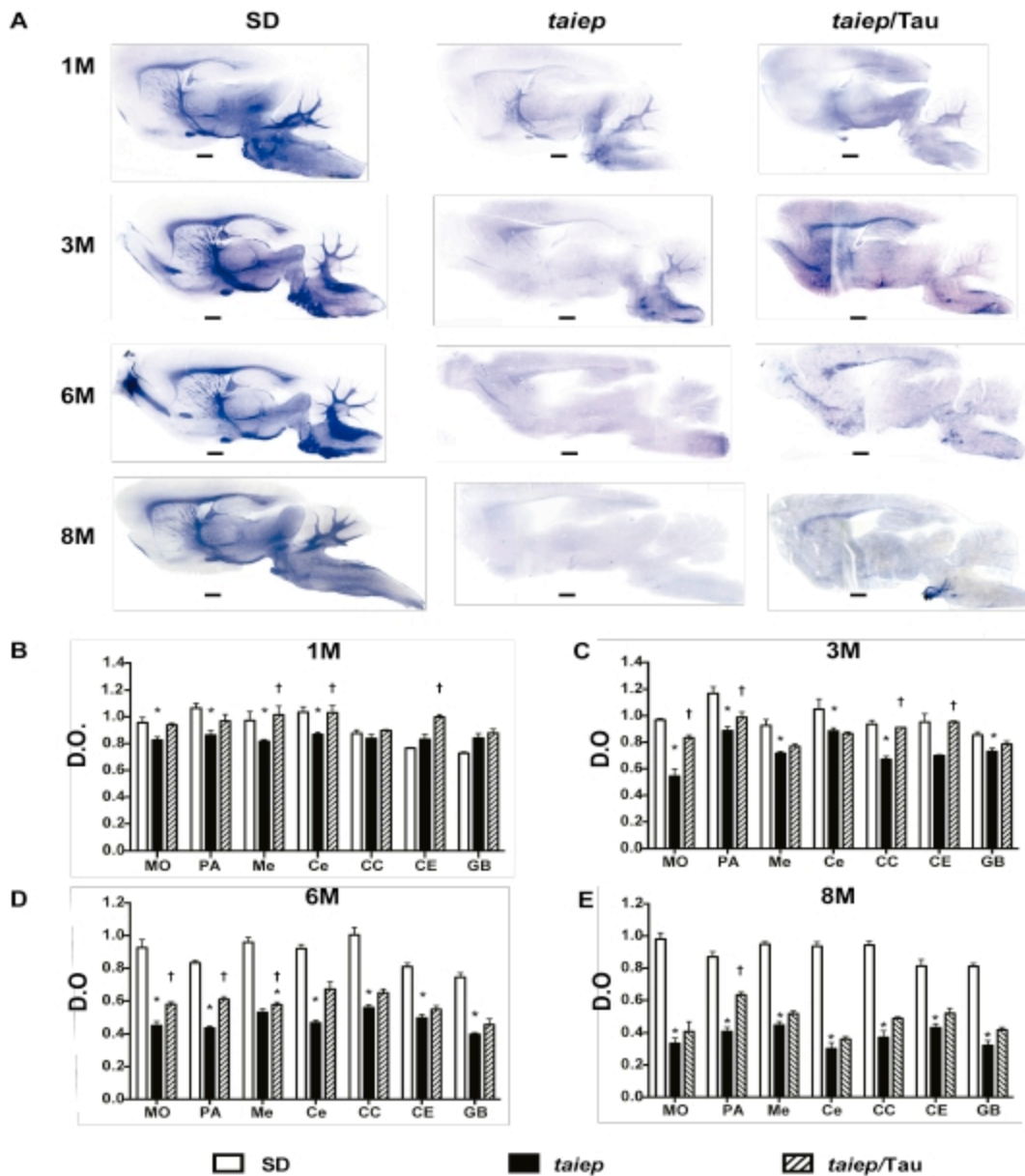


Figura 5.9: La administración de taurina a largo plazo previene parcialmente la pérdida de mielina en la protuberancia anular de la rata taiep. A) Micrografías representativas de secciones sagitales del cerebro a diferentes edades. B-E) Cuantificación de la densidad óptica (D.O.) en varias regiones del cerebro a diferentes edades. MO = médula oblongata, PA = protuberancia anular, Me = Mesencéfalo, Ce = cerebelo, CC = cuerpo calloso, CE = cápsula externa, GB = ganglios basales. Los valores se expresan como la media \pm EEM. * $P < 0.05$ en vs SD control. † $P < 0.05$ vs taiep sin tratamiento. Barra de escala = 1 mm. M = meses de edad. ANOVA de dos vías y análisis post hoc Bonferroni. 75

5.8. La administración de taurina mejora el desempeño motor en la rata taiep

En la prueba de aversión al precipicio, el grupo taiep sin tratamiento mostró un aumento significativo en el tiempo de latencia para retirarse del precipicio, en comparación con el grupo de control SD ($401 \pm 8 \%$, $P < 0.0001$). La administración de taurina evitó el aumento de la latencia en las ratas taiep, lo que sugiere una mejora en las habilidades finas (Figura 5.10, inciso A).

La fuerza de agarre, que incluye la latencia de caída (Figura 5.10, inciso B) y el impulso colgante (Figura 5.10, inciso C), se determinó en el DPN11. En comparación con el grupo SD, el grupo taiep mostró una disminución del $24 \pm 7 \%$ ($P = 0.0303$) en el tiempo de latencia de caída (Figura 5.10, inciso B) y del $35 \pm 4 \%$ ($P = 0,0050$) en el impulso de colgante. La administración de taurina impidió completamente ambos descensos en las ratas taiep (Figura 5.10, incisos B, C), mostrando una mejora de la tensión muscular y la fuerza en las cuatro extremidades.

La prueba de suspensión de las extremidades delanteras mostró que el tiempo de retención en el cable fue un $66 \pm 9 \%$ ($P < 0.0001$) más corto en el grupo taiep sin tratamiento comparado contra el grupo SD, lo que sugiere una debilidad de las extremidades delanteras (Figura 5.10, inciso D). La administración de taurina sólo aumentó en un $32 \pm 4 \%$ ($P < 0.0001$) el tiempo de sujeción en las ratas taiep en comparación con el grupo taiep sin tratamiento. No se observó ninguna diferencia en la prueba de suspensión de las extremidades traseras entre las ratas taiep y el grupo SD (Figura 5.10, inciso E); sin embargo, la administración de taurina aumentó significativamente el tiempo de suspensión en un 35% ($P < 0.005$) en comparación con los grupos SD y taiep sin tratamiento.

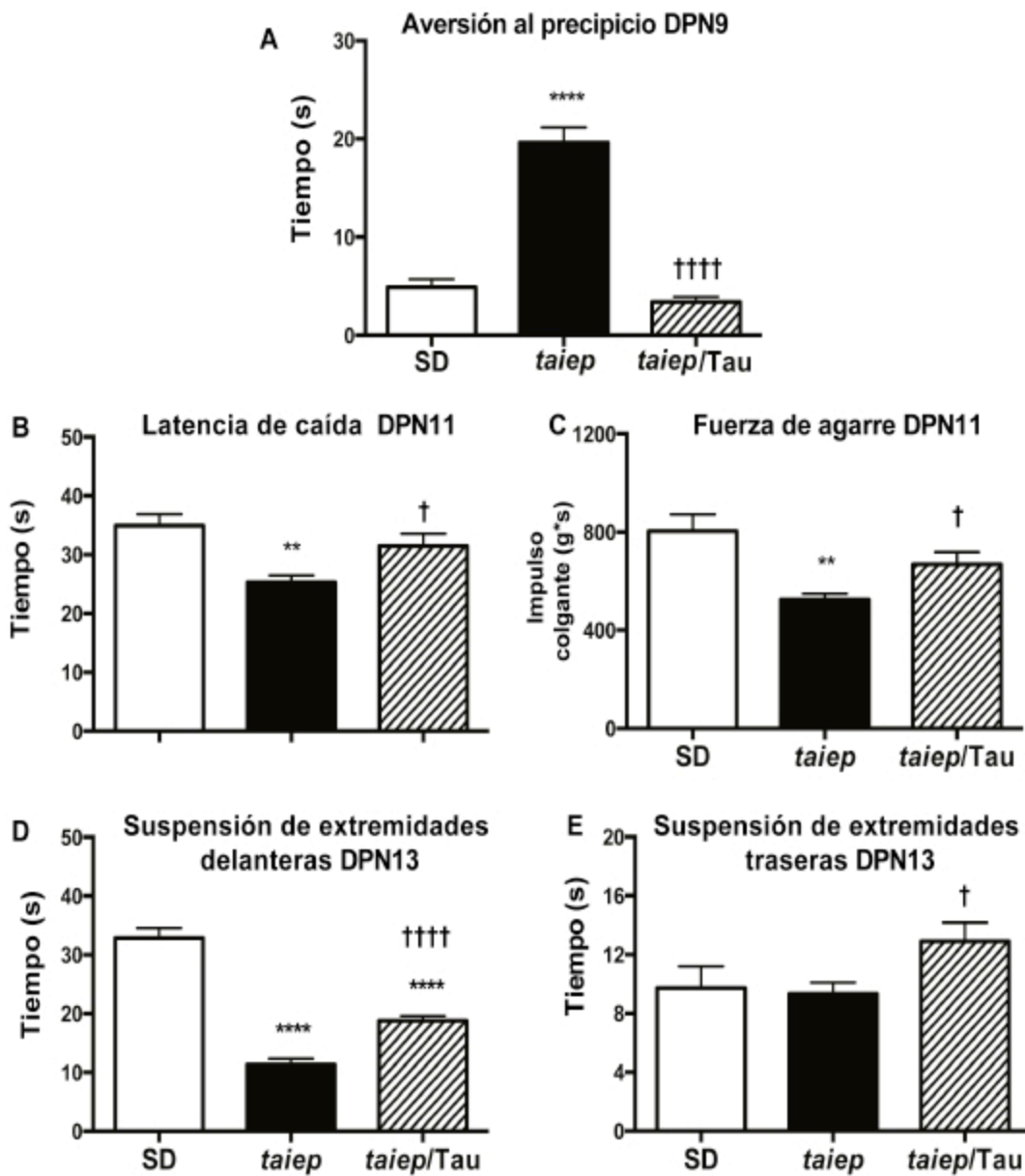


Figura 5.10: La administración de taurina mejora el desarrollo de la conducta motora en ratas taiep jóvenes. s = segundo; g*s = gramos x segundo. DPN = día postnatal. Se expresan los valores como la media \pm EEM (n = 10 crías/grupo). *P<0.05 vs SD (ANOVA de una vía) y †P<0.05 vs taiep no tratado (prueba t de Student).

Por otro lado, se evaluaron las capacidades motoras en la etapa adulta. La escala IBB permitió evidenciar el deterioro motor progresivo en las ratas taiep y el efecto de la administración de taurina. La puntuación en la escala de recuperación funcional IBB de las ratas taiep (3 M) fue un $45 \pm 5\%$ ($P < 0.0001$) menor que la de las ratas de control SD, tanto para los cereales en forma de rosquilla como los de esfera (Figura 5.11, inciso A). Las ratas taiep tratadas con taurina sólo alcanzaron el $68 \pm 3\%$ ($P < 0.0001$) de la puntuación del grupo SD en ambos cereales (Figura 5.11, inciso A), lo que sugiere una recuperación parcial del daño medular.

Por último se evaluó la prueba de estimulación táctil bilateral para valorar el estado de la integración sensoriomotora (Figura 5.11, incisos B,C). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos, lo que podría indicar que la patología taiep y la taurina no influyen en la integración sensoriomotora.

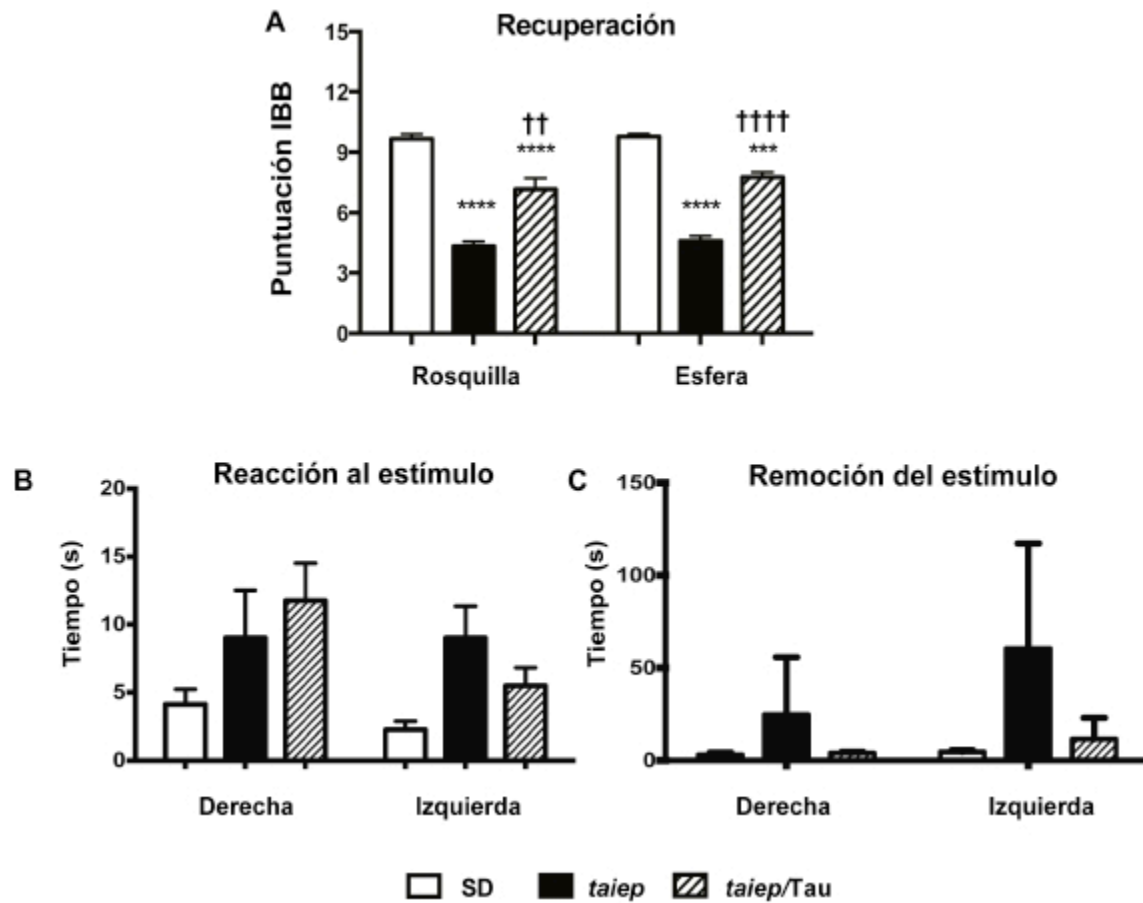


Figura 5.11: La administración de taurina mejora la respuesta motora fina en ratas taiep adultas. A) Evaluación de la escala de recuperación de los miembros anteriores de Irvine, Beatties y Bresnahan (IBB), con cereales en forma de rosquilla y esfera, a los 3 meses de edad. Estimulación táctil bilateral con una pegatina adhesiva para comprobar B) el tiempo de reacción al estímulo y C) la respuesta de remoción al estímulo. Los valores se expresan como la media \pm EEM de diez ratas diferentes ($n = 10$). * $P < 0.05$ vs el grupo de control SD. † $P < 0.05$ vs el grupo taiep no tratado. ANOVA de dos vías y análisis post hoc de Bonferroni.

Discusión

El presente trabajo abordó la administración crónica de taurina como una propuesta terapéutica para mejorar el proceso de mielinización en la rata taiep. La taurina ha demostrado tener múltiples efectos benéficos al actuar como anti-oxidante, anti-inflamatorio, regenerador celular, modulador de la neurotransmisión y regulador de la homeostásis. En este modelo, la taurina inhibe la hiperpolimerización del microtúbulo a través de su metabolito, la cloroamina de taurina, al modificar la interacción lateral entre las β -Tubulinas. La taurina también reguló la proliferación celular en el giro dentado y en la protuberancia anular de las ratas taiep. El incremento en la proliferación celular y la mejora en el transporte microtubular pudieran explicar el aumento del contenido de mielina y la mejora del comportamiento motor en las etapas temprana y tardía del desarrollo de la rata taiep.

Nuestros resultados *in silico* confirman la importancia del bucle M para las interacciones laterales de las β -Tubulinas [Nogales et al., 1999]. Se determinó que la mutación Ala302Thr, presente en la β -Tubulina 4a de la rata taiep, podría inducir cambios en la estabilidad estructural de esta proteína que, a su vez, inhibirían el proceso dinámico observado en las β -Tubulinas 4a de las ratas SD.

Dentro de estos posibles cambios estructurales se encuentra el

desplazamiento que sufre el bucle M, este desplazamiento se define por el incremento en el RMSD observado cuando se compara al dímero de β -tubulinas 4a mutadas contra el dímero de β -tubulinas nativas. El acercamiento entre los bucles M y H1-S1 podría entonces hiperestabilizar al microtúbulo de la rata taiep inhibiendo así los procesos de catástrofe. Esta hiperestabilización disminuiría la velocidad de la despolimerización del microtúbulo y podría ser la causa del acúmulo de los elementos de transición observados por [Song et al., 2003a].

Parecería difícil creer que la mutación en un solo residuo, en una determinada isoforma de la tubulina, pudiera perturbar toda la población de microtúbulos en un linaje celular. Sin embargo, se ha demostrado que, en un modelo de malformaciones del desarrollo cortical, las mutaciones puntuales en los residuos expuestos en la superficie exterior de los microtúbulos son más propensos a alterar la asociación lateral de los dímeros de α/β -Tubulina con sus dímeros vecinos, mientras que la alteración de los contactos intradímero podrían afectar la estabilidad dimérica y la rectitud del protofilamento [Fourel and Boscheron, 2020].

Por otro lado, al evaluar la estabilidad microtubular en un modelo de células de leucemia resistentes a paclitaxel, se observó que la presencia de mutaciones puntuales (como la Ala231Thr de la β -Tubulina I) afectan la estabilidad del microtúbulo pero no afectan su habilidad de unirse a fármacos estabilizadores del microtúbulo. En cambio, mutaciones en esta misma tubulina pero más cercanas al bucle M (Gln292Glu) inhiben la polimerización incluso en presencia de fármacos inductores de la polimerización [Verrills et al., 2003]. Las alteraciones en la α y β -Tubulina aumentan la estabilidad de los microtúbulos al promover las interacciones longitudinales entre los dímeros y los intradímeros y/o las interacciones laterales entre los protofilamentos. Esta mayor estabilidad de los microtúbulos aumenta su resistencia a los fármacos que inhiben su ensamblaje [Hari et al., 2003].

En conjunto, estas evidencias sugieren que la dinámica microtubular puede ser regulada por cambios estructurales que se den cerca del bucle M, esto cobra sentido si consideramos que el bucle M es la estructura encargada de regir las interacciones laterales entre los protofilamentos que conforman al microtúbulo. Los cambios estructurales dependientes de las mutaciones cerca del bucle M se confirman en nuestro trabajo, por una lado, con los resultados obtenidos de la dinámica molecular en donde observamos cambios en la flexibilidad y compactación de los dímeros β/β -Tubulina mutados y, por otro lado, con el acoplamiento molecular que mostró que existe una interacción directa entre el metabolito cloroamina de taurina y el bucle M. Esto sugiere que la β -Tubulina 4a mutada, presente en la rata taiep, genera cambios estructurales que inducen la hiperpolimerización a través de la interacción del bucle M con el bucle H1-S1 de la β -Tubulina vecina. La taurina, a través del metabolito cloroamina de taurina, pudiera interrumpir dicha interacción y de esta manera restaurar (en cierto grado) el dinamismo del ensamble microtubular, mejorando así los procesos de transporte y proliferación celular en la rata taiep.

En el mismo orden de ideas, se ha demostrado que la deficiencia en la formación o ensamble de los microtúbulos afecta severamente la proliferación celular. De hecho, una de las terapéuticas más efectivas contra la proliferación de células cancerígenas es precisamente la inhibición del ensamble microtubular para evitar la replicación celular [Albahde et al., 2021]. Sin embargo, en la rata taiep, la disminución de la proliferación celular desregulada podría tener consecuencias a largo plazo.

En este trabajo, encontramos un decremento en la proliferación celular en el GD de la rata taiep sin tratamiento, al mes de edad. Se ha demostrado que la disminución de la proliferación celular durante el período crítico del desarrollo del cerebro afecta la generación, a mediano y largo plazo, de las células precursoras de oligodendrocitos (OPCs) [Hill and Nishiyama, 2014]. En consecuencia, esto

perjudicaría la producción de mielina en la vida temprana de la rata taiep, lo que podría ser la causa del decremento de mielina observado en este modelo desde el DPN15 [Möller et al., 1997a].

La disminución de la proliferación celular en el GD de la rata taiep podría deberse, por un lado, a las deficiencias en el ensamble microtubular que impedirían la correcta formación del centrosoma, tal como se discutió anteriormente; y por otro lado, podría deberse al incremento del estrés oxidativo y la lipoperoxidación que se han observado en la rata taiep a edades tempranas. Trabajos previos demostraron que existe en la rata taiep un incremento en la producción de óxido nítrico que se asocia a un incremento en la lipoperoxidación al mes de edad, principalmente en aquellas regiones cerebrales en las que la proliferación y maduración de las OPCs ocurre primero, tales como la médula oblongata, el tallo cerebral y el cerebelo, pero también en la corteza cerebral, sugiriendo que el estrés nitrosativo contribuye a la baja proliferación en la etapa posnatal temprana de la rata taiep [Gómez-Díaz, 2017]. En otros modelos neuropatológicos [Zhu et al., 2020, Kurutas, 2016], se ha reportado que el incremento del ambiente oxidante también inhibe la proliferación y la supervivencia celular en la etapa perinatal.

La administración de taurina incrementó el número de células BrdU+ en el GD de la rata taiep. Esta estimulación de la proliferación, inducida por la taurina, podría llevarse a cabo a través de diversos mecanismos. Por un lado, la taurina podría generar este incremento a través de la fosforilación de ERK1/2, lo que enciende una cascada de señalización intracelular que estimula la proliferación [Shivaraj et al., 2012]. También se ha demostrado que la taurina es capaz de incrementar la proliferación celular a través del RNA largo no codificante del gen regulado por taurina 1 (lncRNA TUG1) en tejidos de cáncer de mama. La supresión de TUG1 previene la proliferación, la migración y la invasión de las líneas celulares de cáncer de mama MDA-MB-231 y MDA-MB-436, sugiriendo una importante participación de la taurina en los procesos de regulación de la

proliferación [Li et al., 2017, Zhao and Ren, 2016].

Además de estos mecanismos de acción, la taurina podría incrementar la proliferación celular al mejorar la polimerización microtubular a través de su metabolito, la cloroamina de taurina. En este trabajo demostramos que la cloroamina de taurina se une con una alta afinidad al bucle M de las β -Tubulinas mutadas de la rata taiep, esta unión podría inducir la despolimerización de los microtúbulos, mejorando los procesos de rearrreglo microtubular necesarios para que se lleve a cabo la proliferación.

Se ha demostrado que la taurina se acumula en los fagocitos (tanto en neutrófilos como en macrófagos) así como en las áreas de lesiones inflamatorias, lo que ilustra su importancia en la inmunidad innata [Baliou et al., 2020].

En los neutrófilos activados, la enzima mieloperoxidasa (MPO) utiliza el H_2O_2 para reaccionar con los halógenos (cloruro/ Cl^- o bromuro/ Br^-) presentes en el sistema, produciendo ácidos hipohalosos ($HOCl$ o $HOBr$) que son oxidantes muy tóxicos y perjudican la homeostasis celular [Baliou et al., 2020]. La taurina acumulada en estos neutrófilos activados desempeña sus propiedades citoprotectoras y antioxidantes, reaccionando químicamente con estos ácidos, generando las haloaminas de taurina: bromoamina de taurina y cloroamina de taurina.

Se ha demostrado que en enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson y esclerosis múltiple, la presencia de la enzima mieloperoxidasa se encuentra ampliamente distribuída a lo largo de estos cerebros, además de encontrarse en la microglía activada [Lefkowitz and Lefkowitz, 2008]. En la rata taiep, se ha demostrado que existe una infiltración de células especializadas de la inmunidad que se identificaron como $CD4^+$. Estas células corresponden a microglía-macrófagos activados [Leon-Chavez et al., 2006] que pudieran tener a la enzima MPO en altas concentraciones. De ser así, en el cerebro taiep se favorecería el metabolismo de la taurina hacia cloroamina de taurina y con ello se apoyaría la

hipótesis de que la presencia de cloroamina de taurina en cerebros de ratas taiep tratadas con taurina, mejoraría la proliferación por efecto de este metabolito sobre la dinámica microtubular. Además de los resultados mostrados en este trabajo, la cloroamina de taurina ha demostrado inducir la despolimerización microtubular a través de la oxidación de cisteínas [Landino et al., 2011], lo que pudiera mejorar la formación del centrosoma y también de esa manera mejorar la proliferación celular en la rata taiep.

En contraste, el aumento de células BrdU+ (encontrado en la protuberancia anular del grupo taiep sin tratamiento) reflejaría un retraso en la proliferación y maduración de las OPCs. Se ha reportado que, en el desarrollo normal del cerebro, el número de OPCs en la protuberancia anular del tallo cerebral incrementa a partir del nacimiento, alcanzando un pico máximo de proliferación al DPN16 y luego disminuye alrededor del DPN24, manteniendo a partir de entonces un número constante de OPCs hasta la edad adulta [Lindquist et al., 2016]. El hecho de que la taurina revierta este incremento en el número de células BRDU+ podría indicar el reestablecimiento de los procesos de proliferación y maduración de las OPCs en el tallo de ratas taiep de un mes de edad.

Por otro lado, en el cerebelo, no se encontraron diferencias significativas en el número de células BrdU+ entre los tres grupos evaluados. Esto pudiera deberse principalmente a dos razones: la primera, es que debido a los tiempos de proliferación celular, particularmente de las OPCs en el cerebelo (que inician en el E18.5 y continúan en el P0, Figura 1.3) las células proliferantes no hayan incorporado el BrdU a sus núcleos y, por lo tanto, no sean detectadas a través de este método. La segunda, es debido al papel que desarrolla el óxido nítrico (NO) sobre la proliferación celular en el cerebelo. Se ha demostrado que la proliferación celular incrementa cuando existe una deprivación del NO en el cerebelo [Ciani et al., 2006]. Estudios previos han demostrado que el NO disminuye en el cerebelo de la rata taiep al mes de edad [Gómez-Díaz, 2017]. Esto podría sugerir que el

decremento en los niveles de NO estimula la proliferación celular en el cerebelo del grupo taiep sin tratamiento, de tal manera que los valores de células BrdU+ se igualen con aquellos presentes en los grupos SD y taiep/tau.

Además del incremento de la proliferación celular inducido por la taurina en la rata taiep [Vargas-Castro et al., 2021], en este modelo también se ha demostrado que la taurina regula la expresión de quimiocinas y factores de crecimiento [Gómez-Díaz, 2017] que, en conjunto, pudieran incrementar el número de células precursoras disponibles para diferenciarse hacia la estirpe oligodendroglial, y mejorar así los procesos de mielinización en la rata taiep.

En eventos relacionados con la mielinización temprana, la quimiocina CXCL1 actúa como un factor pro-mielinizante al inhibir la migración de las OPCs y estimular su proliferación [Vora et al., 2012, Filipovic and Zecevic, 2008]. Además se ha demostrado que, en respuesta a mediadores de la inflamación, CXCL1 promueve la maduración de los OLs [Watson et al., 2020] y que, en un modelo animal de desmielinización, la sobreexpresión de CXCL1 se correlaciona con la elevada proliferación de OPCs [Wu et al., 2000].

En las ratas taiep, la administración de taurina incrementa los niveles de CXCL1 en el tallo al DPN15. Este efecto probablemente surja como un intento por restaurar la funcionalidad de las OPCs [Gómez-Díaz, 2017]. Este incremento de CXCL1 podría sugerir que la regulación en el número de células BrdU+ pudiera correlacionarse con una mejora en la funcionalidad de las OPCs que a su vez podría reflejarse como un incremento en la concentración de mielina [Turbic et al., 2011].

En este trabajo encontramos un incremento en el contenido de mielina en el grupo taiep/Tau en comparación con el grupo taiep sin tratamiento. Estos incrementos fueron dependientes de la edad y de la región cerebral evaluadas.

El mejor efecto de la administración de taurina sobre el contenido de mielina se observó a los tres meses de edad. Más tarde, el efecto fue menos eficaz probablemente debido a que los defectos derivados de la mutación del gen

Tubb4a y la neurodegeneración en las ratas taiep superan el efecto terapéutico de la taurina. Alternativamente, el efecto de mielinización o remielinización parcial podría deberse a los niveles insuficientes de taurina proporcionados por la dosis y la administración vía oral utilizadas en este trabajo. Se han reportado evaluaciones en donde se usan concentraciones de taurina tan altas como 200 mg/Kg por vía oral durante 28 días, y se ha demostrado que se inhibe el estrés oxidativo mediante la disminución de la lipoperoxidación, la concentración de nitritos y el aumento del glutatión reducido en un modelo de estrés por restricción repetida en el hipocampo de ratón [Jangra et al., 2020].

Aunque la dosis de taurina utilizada en este trabajo podría ser ajustada para optimizar los resultados obtenidos, la administración de taurina promovió el incremento constante del contenido de mielina en la protuberancia anular del tallo de las ratas taiep desde los 3 y hasta los 8 meses de edad.

La protuberancia anular del tallo es relevante para el control de los desbalances vestibulares, un signo presente en pacientes humanos con enfermedades desmielinizantes como la polineuropatía inflamatoria crónica desmielinizante [Akdal et al., 2018].

Los desbalances vestibulares son alteraciones del sistema de equilibrio del organismo, debidas a causas periféricas o centrales. Estos trastornos suelen presentarse de forma aguda y el conjunto de síntomas que presenta el paciente suele consistir en vértigo, náuseas, vómitos, intolerancia al movimiento de la cabeza, nistagmo, marcha inestable e inestabilidad postural [Dougherty et al., 2020]. La principal causa de disfunciones vestibulares son los ictus isquémicos, la segunda causa más común, son las enfermedades desmielinizantes que afectan las vías vestibulares, el cerebelo y el tallo cerebral [Inui et al., 1998].

Se ha demostrado que el principal neurotransmisor en el nucleo medial vestibular del tallo cerebral es el glutamato [Yamanaka et al., 1997]. En la rata taiep existe una corriente postsináptica excitatoria asínrona ((ASYN)EPSCs,

por sus siglas en inglés), debido a la liberación retardada de neurotransmisores, particularmente glutamato, tanto en neuronas hipocampales [Fuenzalida et al., 2009] como en motoneuronas lumbares [Bonansco et al., 2004]. Esto sugiere que la comunicación de los circuitos vestibulares en el tallo de la rata taiep pudiera verse afectada por la neurotransmisión incorrecta, generando así síntomas de desbalance vestibular.

La presencia de estos desbalances vestibulares en el modelo taiep se evidenció en este trabajo a través de la prueba perinatal de aversión al precipicio, en donde el grupo taiep sin tratamiento tardó más tiempo en retirarse del precipicio en comparación con el grupo taiep/Tau. Este resultado coincide también con la disminución de la fuerza muscular de agarre y la fuerza de las extremidades delanteras y traseras. En conjunto, estos resultados denotan un déficit motor en la etapa perinatal inducido por la desmielinización del circuito medular-vestibular.

El daño al sistema vestibular de la rata taiep pudiera deberse a la excitotoxicidad progresiva (desde DPN7 y hasta el DPN30) causada por la liberación asíncrona de glutamato [Fuenzalida et al., 2009]. La excitotoxicidad del glutamato es conocida como un mediador en el desarrollo de distintas enfermedades desmielinizantes como la esclerosis lateral amiotrófica (ALS), y puede producirse por cambios en la excitabilidad de las neuronas estimuladas [Lee and Kang, 2017].

La administración de taurina mejoró significativamente el rendimiento de las ratas taiep en la prueba de aversión al precipicio, lo que sugiere una mejora en la mielinización del sistema vestibular. Se ha demostrado que, en un modelo de ALS, la taurina protege a las motoneuronas del daño neurotóxico inducido por el glutamato [Lee and Kang, 2017], resaltando nuevamente las propiedades neuroprotectoras y neuromoduladoras de la taurina.

La taurina también aumentó la fuerza de agarre de las cuatro extremidades, lo que podría reflejar que la taurina mejora la excitabilidad del reflejo de

estiramiento al incrementar la tensión muscular y la velocidad de respuesta muscular [Rotondo et al., 2019]. Además se ha demostrado que la administración de taurina, en modelos animales de distrofia muscular de Duchenne, mejora la función muscular y disminuye la inflamación, además de no reducir el peso ni la masa muscular en comparación con otros agentes terapéuticos [Terrill et al., 2016]. La taurina también ha mostrado tener efectos benéficos frente al desgaste muscular generado por agentes anticancerígenos como el cis-platino [Conte et al., 2020].

El músculo esquelético es un tejido capaz de concentrar la mayor cantidad de taurina del cuerpo, mediante la presencia de un transportador activo específico que capta la taurina en el interior de las células en contra de los gradientes de concentración [Conte et al., 2020]. En el músculo esquelético, la taurina estabiliza los fosfolípidos en el sarcolema, regula actividad de los canales de Ca^{2+} y Cl^{-} , y limita la debilidad inducida por el ejercicio [De Luca et al., 2015]. Además, a través de mecanismos aún poco claros, la taurina puede controlar el metabolismo muscular y la expresión génica. El pre-tratamiento con taurina rescata a los miofibrilos de la atrofia inducida por el cis-platino y regula la actividad del sistema autofágico-lisosomal al mantener el tamaño adecuado de las vesículas autofágicas perinucleares así como el tamaño y la densidad de las mitocondrias [Conte et al., 2020].

En conjunto, estos resultados sugieren que la administración de taurina podría mejorar la función muscular deficiente en la patología taiep.

Por otro lado, se evaluó el desarrollo motor en la etapa adulta (3M) de la rata taiep a través de la escala IBB. Esta escala provee una puntuación que evalúa el control motor fino de las extremidades delanteras así como el movimiento de los dedos, signos que pueden correlacionarse con la severidad del daño motor [Irvine et al., 2014]

Las ratas taiep mostraron una disminución de la puntuación IBB a los tres

meses de edad, lo que indica una disfunción de la médula espinal cervical debido a la hipomielinización, como se ha reportado anteriormente [Möller et al., 1997a]. La taurina revierte el daño a la médula espinal y, en consecuencia, mejora el desempeño motor de las ratas taiep en la escala IBB.

Se ha demostrado que la administración de taurina por vía oral (1 g/kg/día) mejora significativamente las habilidades motoras en un modelo animal de síndrome de Angelman; un desorden del neurodesarrollo en el que los pacientes presentan, entre otros signos, marcha atáxica [Guzzetti et al., 2018] un signo que también se presenta en el modelo taiep. Esto sugiere que la taurina mejora la mielinización de la médula espinal, como lo demuestra la tinción de mielina, y repara los circuitos cortico-espinales mediadores de la motricidad fina y gruesa.

Finalmente, se evaluaron los circuitos somatosensoriales a través de la prueba de estimulación táctil bilateral. Sin embargo, en nuestro modelo, la prueba de estimulación táctil bilateral no mostró diferencias significativas entre los tres grupos evaluados, lo que sugiere que no hay asimetrías sensorimotoras o motoras debido a la hipomielinización generalizada en el cerebro de la taiep [Schallert et al., 1982].

Conclusión

El resultado principal de este estudio es que el tratamiento con taurina mejora significativamente el déficit sensorimotor y motor en las ratas taiep. Esta mejora conductual podría ser el resultado de una disminución de la hiperpolimerización microtubular, sin embargo aún se debe elucidar este mecanismo de acción. El efecto de la taurina sobre la proliferación celular fue variable, lo que dependió de la etapa proliferativa en la que se encontraban las regiones evaluadas en el momento del estudio, sin embargo, esta regulación de la proliferación sí supone una mejora en el contenido de mielina dependiendo de la edad y la región evaluada. Los beneficios de la taurina podrían ser el resultado de su acción farmacológica como neuromodulador o de una acción remielinizante parcial. El efecto terapéutico parcial puede atribuirse a una dosis insuficiente (50 mg/L), a la vía de administración, o a la mayor efectividad, en algunos casos, de sus metabolitos activos. Nuestros resultados respaldan el uso de la taurina en el tratamiento de las enfermedades desmielinizantes.

Perspectivas

- Estudiar el efecto de la taurina sobre la expresión de proteínas asociadas a los microtúbulos y la actina en la rata taiep
- Cuantificar por cromatografía de HPLC en plasma, tejidos y regiones cerebrales la concentración de taurina y cloroamina de taurina alcanzada tras la ingesta
- Determinar los porcentajes de diferenciación celular de las células BrdU+ por citometría de flujo
- Realizar estudios metabolómicos para determinar si los metabolitos de taurina pudieran ejercer mejor efecto terapéutico que la taurina misma
- Analizar la dinámica microtubular in vivo por cultivo celular de OLs y microscopía de fluorescencia
- Determinar, por MEB, la existencia de cambios morfológicos en los elementos de transición tras el tratamiento con taurina

Bibliografía

- [Akdal et al., 2018] Akdal, G., Toydemir, H. E., Saatci, A. O., Uygunođlu, U., Altunrende, B., Saip, S., Yaman, A., Keskinoglu, P., Yilmaz, S. G., Çelebisoy, N., et al. (2018). Characteristics of optic neuropathy in behçet disease. *Neurology-Neuroimmunology Neuroinflammation*, 5(5).
- [Albahde et al., 2021] Albahde, M. A. H., Abdrakhimov, B., Li, G.-Q., Zhou, X., Zhou, D., Xu, H., Qian, H., and Wang, W. (2021). The role of microtubules in pancreatic cancer: Therapeutic progress. *Frontiers in Oncology*, 11.
- [Allen and Barres, 2009] Allen, N. J. and Barres, B. A. (2009). Glia?more than just brain glue. *Nature*, 457(7230):675–677.
- [Anch et al., 2000] Anch, A., Powell, E., Bloom, C., Dyche, J., Faulkner, K., and Richter, R. (2000). Locomotor analysis of the taiep rat. *The Journal of general psychology*, 127(4):412–425.
- [Apurva and Mazumdar, 2020] Apurva, M. and Mazumdar, H. (2020). Predicting structural class for protein sequences of 40 % identity based on features of primary and secondary structure using random forest algorithm. *Computational Biology and Chemistry*, 84:107164.
- [Babikian et al., 2010] Babikian, T., Prins, M. L., Cai, Y., Barkhoudarian, G., Hartonian, I., Hovda, D. A., and Giza, C. C. (2010). Molecular and physiological

- responses to juvenile traumatic brain injury: focus on growth and metabolism. *Developmental neuroscience*, 32(5-6):431–441.
- [Baliou et al., 2020] Baliou, S., Kyriakopoulos, A. M., Spandidos, D. A., and Zoumpourlis, V. (2020). Role of taurine, its haloamines and its Incrna tug1 in both inflammation and cancer progression. on the road to therapeutics? *International Journal of Oncology*, 57(3):631–664.
- [Bansal et al., 2008] Bansal, R., Gerber, A. J., and Peterson, B. S. (2008). Brain morphometry using anatomical magnetic resonance imaging. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 47(6):619.
- [Barkhof and Koeller, 2020] Barkhof, F. and Koeller, K. K. (2020). Demyelinating diseases of the cns (brain and spine). *Diseases of the Brain, Head and Neck, Spine 2020–2023*, pages 165–176.
- [Baron and Hoekstra, 2010] Baron, W. and Hoekstra, D. (2010). On the biogenesis of myelin membranes: sorting, trafficking and cell polarity. *FEBS letters*, 584(9):1760–1770.
- [Barres, 2008] Barres, B. A. (2008). The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron*, 60(3):430–440.
- [Barua et al., 2001] Barua, M., Liu, Y., and Quinn, M. R. (2001). Taurine chloramine inhibits inducible nitric oxide synthase and tnf- α gene expression in activated alveolar macrophages: decreased nf-kb activation and ikb kinase activity. *The Journal of Immunology*, 167(4):2275–2281.
- [Baumann and Pham-Dinh, 2001] Baumann, N. and Pham-Dinh, D. (2001). Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiological reviews*.
- [Bautch and James, 2009] Bautch, V. L. and James, J. M. (2009). Neurovascular development: The beginning of a beautiful friendship. *Cell adhesion & migration*, 3(2):199–204.

-
- [Bayer et al., 1993] Bayer, S. A., Altman, J., Russo, R., and Zhang, X. (1993). Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology (Park Forest South)*, 14(1):83–144.
- [Benjamins and Smith, 1977] Benjamins, J. A. and Smith, M. E. (1977). Metabolism of myelin. In *Myelin*, pages 233–270. Springer.
- [Betardo-Ramírez, 2017] Betardo-Ramírez, N. (2017). *La vida con em*.
- [Blais et al., 2011] Blais, C. A., Yu, T.-S., Zhang, G., Chen, J., Dimchev, G., Parada, L. F., Powell, C. M., and Kernie, S. G. (2011). Temporally specified genetic ablation of neurogenesis impairs cognitive recovery after traumatic brain injury. *Journal of Neuroscience*, 31(13):4906–4916.
- [Bloom and Goldstein, 1998] Bloom, G. S. and Goldstein, L. S. (1998). Cruising along microtubule highways: how membranes move through the secretory pathway. *The Journal of cell biology*, 140(6):1277–1280.
- [Bonansco et al., 2004] Bonansco, C., Fuenzalida, M., and Roncagliolo, M. (2004). Altered synaptic and electrical properties of lumbar motoneurons in the neurological glial mutant taiep rat. *Experimental brain research*, 156(1):104–110.
- [Brouwer et al., 2012] Brouwer, R. M., Mandl, R. C., Schnack, H. G., van Soelen, I. L., van Baal, G. C., Peper, J. S., Kahn, R. S., Boomsma, D. I., and Pol, H. H. (2012). White matter development in early puberty: a longitudinal volumetric and diffusion tensor imaging twin study. *PloS one*, 7(4):e32316.
- [Cai et al., 2005] Cai, J., Qi, Y., Hu, X., Tan, M., Liu, Z., Zhang, J., Li, Q., Sander, M., and Qiu, M. (2005). Generation of oligodendrocyte precursor cells from mouse dorsal spinal cord independent of nkx6 regulation and shh signaling. *Neuron*, 45(1):41–53.
- [Catalani et al., 2002] Catalani, A., Sabbatini, M., Consoli, C., Cinque, C., Tomassoni, D., Azmitia, E., Angelucci, L., and Amenta, F. (2002).

- Glial fibrillary acidic protein immunoreactive astrocytes in developing rat hippocampus. *Mechanisms of ageing and development*, 123(5):481–490.
- [Chang et al., 2016] Chang, K.-J., Redmond, S. A., and Chan, J. R. (2016). Remodeling myelination: implications for mechanisms of neural plasticity. *Nature neuroscience*, 19(2):190–197.
- [Chari et al., 2006] Chari, D. M., Zhao, C., Kotter, M. R., Blakemore, W. F., and Franklin, R. J. (2006). Corticosteroids delay remyelination of experimental demyelination in the rodent central nervous system. *Journal of neuroscience research*, 83(4):594–605.
- [Chen et al., 2017] Chen, V. S., Morrison, J. P., Southwell, M. F., Foley, J. F., Bolon, B., and Elmore, S. A. (2017). Histology atlas of the developing prenatal and postnatal mouse central nervous system, with emphasis on prenatal days e7. 5 to e18. 5. *Toxicologic pathology*, 45(6):705–744.
- [Chrast et al., 2011] Chrast, R., Saher, G., Nave, K., and Verheijen, M. (2011). Vu research portal. *Journal of Lipid Research*, 52:419.
- [Ciani et al., 2006] Ciani, E., Calvanese, V., Crochemore, C., Bartesaghi, R., and Contestabile, A. (2006). Proliferation of cerebellar precursor cells is negatively regulated by nitric oxide in newborn rat. *J Cell Sci*, 119(Pt 15):3161–70. Ciani, Elisabetta Calvanese, Vincenzo Crochemore, Christophe Bartesaghi, Renata Contestabile, Antonio Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't England *J Cell Sci*. 2006 Aug 1;119(Pt 15):3161-70. doi: 10.1242/jcs.03042. Epub 2006 Jul 11.
- [Clancy et al., 2007] Clancy, B., Kersh, B., Hyde, J., Darlington, R. B., Anand, K., and Finlay, B. L. (2007). Web-based method for translating neurodevelopment from laboratory species to humans. *Neuroinformatics*, 5(1):79–94.
- [Conte et al., 2020] Conte, E., Bresciani, E., Rizzi, L., Cappellari, O., De Luca, A., Torsello, A., and Liantonio, A. (2020). Cisplatin-induced skeletal

-
- muscle dysfunction: Mechanisms and counteracting therapeutic strategies. *International journal of molecular sciences*, 21(4):1242.
- [Cortés et al., 2007] Cortés, M.-d.-C., Arias-Montano, J. A., and Eguibar, J.-R. (2007). Prazosin increases immobility episodes in taiep rats without changes in the properties of $\alpha 1$ receptors. *Neuroscience letters*, 412(2):159–162.
- [Cortés et al., 2005] Cortés, M. D. C., Gavito, B., Ita, M. L., Valencia, J., and Eguibar, J. R. (2005). Characterization of the spontaneous and gripping-induced immobility episodes on taiep rats. *Synapse*, 58(2):95–101.
- [Couve et al., 1997a] Couve, E., Cabello, J. F., Krsulovic, J., and Roncagliolo, M. (1997a). Binding of microtubules to transitional elements in oligodendrocytes of the myelin mutant taiep rat. *Journal of neuroscience research*, 47(6):573–581.
- [Couve et al., 1997b] Couve, E., Cabello, J. F., Krsulovic, J., and Roncagliolo, M. (1997b). Binding of microtubules to transitional elements in oligodendrocytes of the myelin mutant taiep rat. *Journal of neuroscience research*, 47(6):573–581.
- [Covey et al., 2010] Covey, M. V., Jiang, Y., Alli, V. V., Yang, Z., and Levison, S. W. (2010). Defining the critical period for neocortical neurogenesis after pediatric brain injury. *Developmental Neuroscience*, 32(5-6):488–498.
- [Craig et al., 2003] Craig, A., Luo, N. L., Beardsley, D. J., Wingate-Pearse, N., Walker, D. W., Hohimer, A. R., and Back, S. A. (2003). Quantitative analysis of perinatal rodent oligodendrocyte lineage progression and its correlation with human. *Experimental neurology*, 181(2):231–240.
- [Dawson et al., 2003] Dawson, M. R., Polito, A., Levine, J. M., and Reynolds, R. (2003). Ng2-expressing glial progenitor cells: an abundant and widespread population of cycling cells in the adult rat cns. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 24(2):476–488.
- [De Luca et al., 2015] De Luca, A., Pierno, S., and Camerino, D. C. (2015). Taurine: the appeal of a safe amino acid for skeletal muscle disorders. *Journal of translational medicine*, 13(1):1–18.

- [Dean et al., 2011] Dean, J. M., Moravec, M. D., Grafe, M., Abend, N., Ren, J., Gong, X., Volpe, J. J., Jensen, F. E., Hohimer, A. R., and Back, S. A. (2011). Strain-specific differences in perinatal rodent oligodendrocyte lineage progression and its correlation with human. *Developmental neuroscience*, 33(3-4):251–260.
- [DeSesso et al., 1999] DeSesso, J. M., Scialli, A. R., and Holson, J. F. (1999). Apparent lability of neural tube closure in laboratory animals and humans. *American journal of medical genetics*, 87(2):143–162.
- [Diamond, 1990] Diamond, A. (1990). Rate of maturation of the hippocampus and the developmental progression of children's performance on the delayed non-matching to sample and visual paired comparison tasks a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 608(1):394–433.
- [Dietrich et al., 1988] Dietrich, R. B., Bradley, W. G., Zaragoza 4th, E., Otto, R. J., Taira, R. K., Wilson, G. H., and Kangaroo, H. (1988). Mr evaluation of early myelination patterns in normal and developmentally delayed infants. *American Journal of Roentgenology*, 150(4):889–896.
- [Dixon et al., 2018] Dixon, M. L., De La Vega, A., Mills, C., Andrews-Hanna, J., Spreng, R. N., Cole, M. W., and Christoff, K. (2018). Heterogeneity within the frontoparietal control network and its relationship to the default and dorsal attention networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(7):E1598–E1607.
- [Dougherty et al., 2020] Dougherty, J. M., Carney, M., and Emmady, P. D. (2020). Vestibular dysfunction. *StatPearls* [Internet].
- [Duncan et al., 1992a] Duncan, I., Lunn, K., Holmgren, B., Urba-Holmgren, R., and Brignolo-Holmes, L. (1992a). The taiep rat: a myelin mutant with an associated oligodendrocyte microtubular defect. *Journal of neurocytology*, 21(12):870–884.

-
- [Duncan et al., 2017] Duncan, I. D., Bugiani, M., Radcliff, A. B., Moran, J. J., Lopez-Anido, C., Duong, P., August, B. K., Wolf, N. I., van der Knaap, M. S., and Svaren, J. (2017). A mutation in the *tubb4a* gene leads to microtubule accumulation with hypomyelination and demyelination. *Annals of neurology*, 81(5):690–702.
- [Duncan et al., 1992b] Duncan, I. D., Lunn, K. F., Holmgren, B., Urba-Holmgren, R., and Brignolo-Holmes, L. (1992b). The taiep rat: a myelin mutant with an associated oligodendrocyte microtubular defect. *Journal of neurocytology*, 21(12):870–884.
- [Duncan and Radcliff, 2016] Duncan, I. D. and Radcliff, A. B. (2016). Inherited and acquired disorders of myelin: the underlying myelin pathology. *Experimental neurology*, 283:452–475.
- [Eguibar et al., 2021] Eguibar, J. R., Cortes, C., Ahumada-Juárez, J. C., Piazza, V., and Hernandez Gonzalez, V. H. (2021). Chapter 49 - the myelin mutant taiep rat as a model for developmental brain disorders. In Martin, C. R., Preedy, V. R., and Rajendram, R., editors, *Diagnosis, Management and Modeling of Neurodevelopmental Disorders*, pages 557–566. Academic Press.
- [Eguibar et al., 2006] Eguibar, J. R., Cortés, M. D. C., Valencia, J., and Arias-Montaña, J. A. (2006). $\alpha 2$ adrenoceptors are involved in the regulation of the gripping-induced immobility episodes in taiep rats. *Synapse*, 60(5):362–370.
- [Eguibar et al., 2012] Eguibar, J. R., del Carmen Cortes, M., Lara-Lozano, M., and Mendiola, D. M. (2012). Dopaminergic d2-like agonists produce yawning in the myelin mutant taiep and sprague–dawley rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 102(1):118–123.
- [Eguibar et al., 2010] Eguibar, J. R. et al. (2010). The myelin mutant taiep as a model for absence crisis. *Gaceta medica de Mexico*, 146(1):11–18.
- [Emery, 2010] Emery, B. (2010). Regulation of oligodendrocyte differentiation and myelination. *Science*, 330(6005):779–782.

- [Eriksson et al., 1998] Eriksson, P. S., Perfilieva, E., Björk-Eriksson, T., Alborn, A.-M., Nordborg, C., Peterson, D. A., and Gage, F. H. (1998). Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature medicine*, 4(11):1313–1317.
- [Fancy et al., 2004] Fancy, S. P., Zhao, C., and Franklin, R. J. (2004). Increased expression of *nkx2. 2* and *olig2* identifies reactive oligodendrocyte progenitor cells responding to demyelination in the adult cns. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 27(3):247–254.
- [Feather-Schussler and Ferguson, 2016] Feather-Schussler, D. N. and Ferguson, T. S. (2016). A battery of motor tests in a neonatal mouse model of cerebral palsy. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (117).
- [Field et al., 2013] Field, J., Díaz, J., and Miller, J. (2013). The binding sites of microtubule-stabilizing agents. *Chemistry & Biology*, 20(3):301–315.
- [Fields, 2014] Fields, R. D. (2014). Myelin formation and remodeling. *Cell*, 156(1-2):15–17.
- [Filipovic and Zecevic, 2008] Filipovic, R. and Zecevic, N. (2008). The effect of *cxcl1* on human fetal oligodendrocyte progenitor cells. *Glia*, 56(1):1–15. Filipovic, Radmila Zecevic, Nada Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't United States *Glia*. 2008 Jan 1;56(1):1-15. doi: 10.1002/glia.20582.
- [Fok-Seang et al., 1998] Fok-Seang, J., DiProspero, N. A., Meiners, S., Muir, E., and Fawcett, J. W. (1998). Cytokine-induced changes in the ability of astrocytes to support migration of oligodendrocyte precursors and axon growth. *European Journal of Neuroscience*, 10(7):2400–2415.
- [Foote and Blakemore, 2005] Foote, A. and Blakemore, W. (2005). Inflammation stimulates remyelination in areas of chronic demyelination. *Brain*, 128(3):528–539.
- [Fourel and Boscheron, 2020] Fourel, G. and Boscheron, C. (2020). Tubulin mutations in neurodevelopmental disorders as a tool to decipher microtubule function. *FEBS letters*, 594(21):3409–3438.

-
- [Fuenzalida et al., 2009] Fuenzalida, M., Aliaga, E., Olivares, V., Roncagliolo, M., and Bonansco, C. (2009). Developmental increase of asynchronic glutamate release from hippocampal synapses in mutant taiep rat. *Synapse*, 63(6):502–509.
- [García-Robles, 2016] García-Robles, G. (2016). Análisis del perfil de expresión de los reguladores de los microtúbulos en la rata taiep. Master's thesis, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- [Garduño-Robles et al., 2020] Garduño-Robles, A., Alata, M., Piazza, V., Cortes, C., Eguibar, J. R., Pantano, S., and Hernandez, V. H. (2020). Mri features in a rat model of h-abc tubulinopathy. *Frontiers in Neuroscience*, 14:555.
- [Gebara et al., 2015] Gebara, E., Udry, F., Sultan, S., and Toni, N. (2015). Taurine increases hippocampal neurogenesis in aging mice. *Stem cell research*, 14(3):369–379.
- [Giedd et al., 1999] Giedd, J. N., Blumenthal, J., Jeffries, N. O., Castellanos, F. X., Liu, H., Zijdenbos, A., Paus, T., Evans, A. C., and Rapoport, J. L. (1999). Brain development during childhood and adolescence: a longitudinal mri study. *Nature neuroscience*, 2(10):861–863.
- [Gómez-Díaz, 2017] Gómez-Díaz, R. (2017). Efecto de la administración crónica de taurina sobre el aprendizaje-memoria, estrés nitrosativo y expresión de quimiocinas en la rata taiep. Master's thesis, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- [Gonzalez-Vazquez et al., 2021] Gonzalez-Vazquez, A., Aguilar-Peralta, A.-K., Tomas-Sanchez, C., Blanco-Alvarez, V.-M., Martinez-Fong, D., Gonzalez-Barrios, J.-A., Treviño, S., Millán-Perez Peña, L., Alatríste, V., Soto-Rodríguez, G., et al. (2021). Taurine increases zinc preconditioning-induced prevention of nitrosative stress, metabolic alterations, and motor deficits in young rats following intrauterine ischemia. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021.

- [Gould et al., 1999a] Gould, R., Freund, C., Palmer, F., Knapp, P. E., Huang, J., Morrison, H., and Feinstein, D. L. (1999a). Messenger rnas for kinesins and dynein are located in neural processes. *The Biological Bulletin*, 197(2):259–260.
- [Gould et al., 1999b] Gould, R. M., Freund, C. M., and Barbarese, E. (1999b). Myelin-associated oligodendrocytic basic protein mrnas reside at different subcellular locations. *Journal of neurochemistry*, 73(5):1913–1924.
- [Greenwood and Butt, 2003] Greenwood, K. and Butt, A. M. (2003). Evidence that perinatal and adult ng2-glia are not conventional oligodendrocyte progenitors and do not depend on axons for their survival. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 23(4):544–558.
- [Grimaldi et al., 2009] Grimaldi, P., Parras, C., Guillemot, F., Rossi, F., and Wassef, M. (2009). Origins and control of the differentiation of inhibitory interneurons and glia in the cerebellum. *Developmental biology*, 328(2):422–433.
- [Gu et al., 2015] Gu, Y., Zhao, Y., Qian, K., and Sun, M. (2015). Taurine attenuates hippocampal and corpus callosum damage, and enhances neurological recovery after closed head injury in rats. *Neuroscience*, 291:331–340.
- [Guex and Peitsch, 1997] Guex, N. and Peitsch, M. C. (1997). Swiss-model and the swiss-pdb viewer: an environment for comparative protein modeling. *electrophoresis*, 18(15):2714–2723.
- [Guzzetti et al., 2018] Guzzetti, S., Calzari, L., Buccarello, L., Cesari, V., Toschi, I., Cattaldo, S., Mauro, A., Pregnotato, F., Mazzola, S. M., and Russo, S. (2018). Taurine administration recovers motor and learning deficits in an angelman syndrome mouse model. *International journal of molecular sciences*, 19(4):1088.
- [Hari et al., 2003] Hari, M., Wang, Y., Veeraraghavan, S., and Cabral, F. (2003). Mutations in α - and β -tubulin that stabilize microtubules and confer resistance to colcemid and vinblastine. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2(7):597–605.

-
- [Hashimoto et al., 1984] Hashimoto, M., Nishida, E., and Sakai, H. (1984). Effects of betaine, taurine and isethionate on microtubule assembly. *Zoological science*, 1(2):p195–204.
- [Hashimoto et al., 2016] Hashimoto, R., Hori, K., Owa, T., Miyashita, S., Dewa, K., Masuyama, N., Sakai, K., Hayase, Y., Seto, Y., Inoue, Y. U., et al. (2016). Origins of oligodendrocytes in the cerebellum, whose development is controlled by the transcription factor, *sox9*. *Mechanisms of development*, 140:25–40.
- [Herschkowitz et al., 1997] Herschkowitz, N., Kagan, J., and Zilles, K. (1997). Neurobiological bases of behavioral development in the first year. *Neuropediatrics*, 28(06):296–306.
- [Hill and Nishiyama, 2014] Hill, R. A. and Nishiyama, A. (2014). Ng2 cells (polydendrocytes): listeners to the neural network with diverse properties. *Glia*, 62(8):1195–1210.
- [Holmgren et al., 1989] Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Riboni, L., and Vega-SaenzdeMiera, E. C. (1989). Sprague dawley rat mutant with tremor, ataxia, tonic immobility episodes, epilepsy and paralysis. *Lab Anim Sci*, 39(3):226–8.
- [Hussy et al., 2002] Hussy, N., Deleuze, C., Brès, V., and Moos, F. C. (2002). New role of taurine as an osmomediator between glial cells and neurons in the rat supraoptic nucleus. *Taurine 4*, pages 227–237.
- [Inder and Huppi, 2000] Inder, T. E. and Huppi, P. S. (2000). In vivo studies of brain development by magnetic resonance techniques. *Mental retardation and developmental disabilities research reviews*, 6(1):59–67.
- [Inui et al., 1998] Inui, H., Kitaoku, Y., Yoneyama, K., Nakane, M., Ohue, S., Yamanaka, T., Ueda, T., Fujita, N., Miyahara, H., and Matsunaga, T. (1998). Mr-angiographic findings of patients with central vestibular disorders. *Acta Oto-Laryngologica*, 118(533):51–56.

- [Irvine et al., 2014] Irvine, K.-A., Ferguson, A. R., Mitchell, K. D., Beattie, S. B., Lin, A., Stuck, E. D., Huie, J. R., Nielson, J. L., Talbott, J. F., and Inoue, T. (2014). The irvine, beatties, and bresnahan (ibb) forelimb recovery scale: an assessment of reliability and validity. *Frontiers in neurology*, 5:116.
- [Ita et al., 2009] Ita, M. L., del Carmen Cortés, M., Valencia, J., and Eguibar, J. R. (2009). Activation of serotonin 5-HT₁-receptors decreased gripping-induced immobility episodes in taiep rats. *Neuroscience letters*, 449(2):147–150.
- [Jangra et al., 2020] Jangra, A., Rajput, P., Dwivedi, D. K., and Lahkar, M. (2020). Amelioration of repeated restraint stress-induced behavioral deficits and hippocampal anomalies with taurine treatment in mice. *Neurochemical research*, 45(4):731–740.
- [Kaatz et al., 1992] Kaatz, K. W., Bazzett, T. J., and Albin, R. L. (1992). A new, simple myelin stain. *Brain research bulletin*, 29(5):697–698.
- [Keshavan et al., 2002] Keshavan, M. S., Diwadkar, V. A., DeBellis, M., Dick, E., Kotwal, R., Rosenberg, D. R., Sweeney, J. A., Minshew, N., and Pettegrew, J. W. (2002). Development of the corpus callosum in childhood, adolescence and early adulthood. *Life sciences*, 70(16):1909–1922.
- [Kessaris et al., 2006] Kessaris, N., Fogarty, M., Iannarelli, P., Grist, M., Wegner, M., and Richardson, W. D. (2006). Competing waves of oligodendrocytes in the forebrain and postnatal elimination of an embryonic lineage. *Nature neuroscience*, 9(2):173–179.
- [Key, 2010] Key, J. (2010). *Back Pain-A Movement Problem E-Book: A clinical approach incorporating relevant research and practice*. Elsevier Health Sciences.
- [Khan and Chang, 2013] Khan, S. and Chang, R. (2013). Anatomy of the vestibular system: a review. *NeuroRehabilitation*, 32(3):437–43. 1878-6448 Khan, Sarah Chang, Richard Journal Article Review Netherlands NeuroRehabilitation. 2013;32(3):437-43. doi: 10.3233/NRE-130866.

-
- [Kleindienst et al., 2005] Kleindienst, A., McGinn, M. J., Harvey, H. B., Colello, R. J., Hamm, R. J., and Bullock, M. R. (2005). Enhanced hippocampal neurogenesis by intraventricular s100b infusion is associated with improved cognitive recovery after traumatic brain injury. *Journal of neurotrauma*, 22(6):645–655.
- [Kriegstein and Alvarez-Buylla, 2009] Kriegstein, A. and Alvarez-Buylla, A. (2009). The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annual review of neuroscience*, 32:149–184.
- [Krivov et al., 2009] Krivov, G. G., Shapovalov, M. V., and Dunbrack Jr, R. L. (2009). Improved prediction of protein side-chain conformations with scwrl4. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 77(4):778–795.
- [Kuhn et al., 2019] Kuhn, S., Gritti, L., Crooks, D., and Dombrowski, Y. (2019). Oligodendrocytes in development, myelin generation and beyond. *Cells*, 8(11).
- [Kurutas, 2016] Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr J*, 15(1):71. 1475-2891 Kurutas, Ergul Belge *Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't Review Nutr J*. 2016 Jul 25;15(1):71. doi: 10.1186/s12937-016-0186-5.
- [Landino et al., 2011] Landino, L. M., Hagedorn, T. D., Kim, S. B., and Hogan, K. M. (2011). Inhibition of tubulin polymerization by hypochlorous acid and chloramines. *Free Radical Biology and Medicine*, 50(8):1000–1008.
- [Larocca and Rodriguez-Gabin, 2002] Larocca, J. and Rodriguez-Gabin, A. (2002). Myelin biogenesis: vesicle transport in oligodendrocytes. *Neurochemical research*, 27(11):1313–1329.
- [Lebel and Beaulieu, 2011] Lebel, C. and Beaulieu, C. (2011). Longitudinal development of human brain wiring continues from childhood into adulthood. *Journal of Neuroscience*, 31(30):10937–10947.

- [Lebel et al., 2012] Lebel, C., Gee, M., Camicioli, R., Wieler, M., Martin, W., and Beaulieu, C. (2012). Diffusion tensor imaging of white matter tract evolution over the lifespan. *Neuroimage*, 60(1):340–352.
- [Lee and Kang, 2017] Lee, N.-Y. and Kang, Y.-S. (2017). Taurine protects glutamate neurotoxicity in motor neuron cells. In *Taurine 10*, pages 887–895. Springer.
- [Lefkowitz and Lefkowitz, 2008] Lefkowitz, D. L. and Lefkowitz, S. S. (2008). Microglia and myeloperoxidase: a deadly partnership in neurodegenerative disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(5):726–731.
- [Leon-Chavez et al., 2006] Leon-Chavez, B. A., Aguilar-Alonso, P., Gonzalez-Barrios, J. A., Eguibar, J. R., Ugarte, A., Brambila, E., Ruiz-Arguelles, A., and Martinez-Fong, D. (2006). Increased nitric oxide levels and nitric oxide synthase isoform expression in the cerebellum of the taiep rat during its severe demyelination stage. *Brain Research*, 1121(1):221–230.
- [Leon-Chavez et al., 2001] Leon-Chavez, B. A., Guevara, J., Galindo, S., Luna, J., Ugarte, A., Villegas, O., Mena, R., Eguibar, J. R., and Martinez-Fong, D. (2001). Regional and temporal progression of reactive astrocytosis in the brain of the myelin mutant taiep rat. *Brain research*, 900(1):152–155.
- [Lepousez et al., 2013] Lepousez, G., Valley, M. T., and Lledo, P.-M. (2013). The impact of adult neurogenesis on olfactory bulb circuits and computations. *Annual review of physiology*, 75:339–363.
- [Levine and Reynolds, 1999] Levine, J. M. and Reynolds, R. (1999). Activation and proliferation of endogenous oligodendrocyte precursor cells during ethidium bromide-induced demyelination. *Experimental neurology*, 160(2):333–347.
- [Li et al., 2009] Li, C. Y., Deng, Y. L., and Sun, B. H. (2009). Taurine protected kidney from oxidative injury through mitochondrial-linked pathway in a rat model of nephrolithiasis. *Urological research*, 37(4):211–220.

-
- [Li et al., 2017] Li, T., Liu, Y., Xiao, H., and Xu, G. (2017). Long non-coding rna *tug1* promotes cell proliferation and metastasis in human breast cancer. *Breast Cancer*, 24(4):535–543.
- [Liebetanz and Merkler, 2006] Liebetanz, D. and Merkler, D. (2006). Effects of commissural de- and remyelination on motor skill behaviour in the cuprizone mouse model of multiple sclerosis. *Experimental neurology*, 202(1):217–224.
- [Lindquist et al., 2016] Lindquist, R. A., Guinto, C. D., Rodas-Rodriguez, J. L., Fuentealba, L. C., Tate, M. C., Rowitch, D. H., and Alvarez-Buylla, A. (2016). Identification of proliferative progenitors associated with prominent postnatal growth of the pons. *Nature communications*, 7(1):1–16.
- [Lodygensky et al., 2010] Lodygensky, G. A., Vasung, L., Sizonenko, S. V., and Hüppi, P. S. (2010). Neuroimaging of cortical development and brain connectivity in human newborns and animal models. *Journal of anatomy*, 217(4):418–428.
- [Love, 2006] Love, S. (2006). Demyelinating diseases. *Journal of clinical pathology*, 59(11):1151–1159.
- [Lu et al., 2002] Lu, Q. R., Sun, T., Zhu, Z., Ma, N., Garcia, M., Stiles, C. D., and Rowitch, D. H. (2002). Common developmental requirement for olig function indicates a motor neuron/oligodendrocyte connection. *Cell*, 109(1):75–86.
- [Lunn et al., 1997] Lunn, K. F., Baas, P. W., and Duncan, I. D. (1997). Microtubule organization and stability in the oligodendrocyte. *Journal of Neuroscience*, 17(13):4921–4932.
- [Makino et al., 2016] Makino, H., Hwang, E. J., Hedrick, N. G., and Komiyama, T. (2016). Circuit mechanisms of sensorimotor learning. *Neuron*, 92(4):705–721.
- [Mandelkow et al., 1991] Mandelkow, E.-M., Mandelkow, E., and Milligan, R. A. (1991). Microtubule dynamics and microtubule caps: a time-resolved cryo-electron microscopy study. *The Journal of cell biology*, 114(5):977–991.

- [Marshall et al., 2003] Marshall, C. A., Suzuki, S. O., and Goldman, J. E. (2003). Gliogenic and neurogenic progenitors of the subventricular zone: who are they, where did they come from, and where are they going? *Glia*, 43(1):52–61.
- [Martínez-Juárez, 2019] Martínez-Juárez, D. (2019). Correlación clínica de los hallazgos de imagen por tensor de difusión en pacientes con enfermedades desmielinizantes del servicio de neurología del hospital issstep. Master's thesis, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- [Meijer et al., 2012] Meijer, D. H., Kane, M. F., Mehta, S., Liu, H., Harrington, E., Taylor, C. M., Stiles, C. D., and Rowitch, D. H. (2012). Separated at birth? the functional and molecular divergence of olig1 and olig2. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(12):819–831.
- [Mekki-Dauriac et al., 2002] Mekki-Dauriac, S., Agius, E., Kan, P., and Cochard, P. (2002). Bone morphogenetic proteins negatively control oligodendrocyte precursor specification in the chick spinal cord. *Development*.
- [Miller and Gauthier, 2007] Miller, F. D. and Gauthier, A. S. (2007). Timing is everything: making neurons versus glia in the developing cortex. *Neuron*, 54(3):357–369.
- [Miron et al., 2011] Miron, V. E., Kuhlmann, T., and Antel, J. P. (2011). Cells of the oligodendroglial lineage, myelination, and remyelination. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1812(2):184–193.
- [Möller et al., 1997a] Möller, J., Durr, P., Quarles, R., and Duncan, I. (1997a). Biochemical analysis of myelin proteins in a novel neurological mutant: the taiep rat. *Journal of neurochemistry*, 69(2):773–779.
- [Möller et al., 1997b] Möller, J. R., Durr, P. G., Quarles, R. H., and Duncan, I. D. (1997b). Biochemical analysis of myelin proteins in a novel neurological mutant: the taiep rat. *Journal of neurochemistry*, 69(2):773–779.
- [Morell et al., 1994] Morell, P., Quarles, R., and Norton, W. (1994). Neural membranes: myelin formation, structure, and biochemistry. *Basic*

-
- Neurochemistry, 5th edition (eds. GJ Siegel et al.), Raven Press, New York, USA, pages 118–143.
- [Morris et al., 2009] Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., and Olson, A. J. (2009). Autodock4 and autodocktools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*, 30(16):2785–2791.
- [Nilges, 2006] Nilges, M. (2006). *Homology Modeling*, pages 814–817. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [Nogales et al., 1999] Nogales, E., Whittaker, M., Milligan, R. A., and Downing, K. H. (1999). High-resolution model of the microtubule. *Cell*, 96(1):79–88.
- [O'Connor et al., 2010] O'Connor, C. M., Adams, J. U., and Fairman, J. (2010). *Essentials of cell biology*. Cambridge, MA: NPG Education, 1:54.
- [O'Connor et al., 2000a] O'Connor, L. T., Goetz, B. D., Couve, E., Song, J., and Duncan, I. D. (2000a). Intracellular distribution of myelin protein gene products is altered in oligodendrocytes of the taiep rat. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 16(4):396–407.
- [O'Connor et al., 2000b] O'Connor, L. T., Goetz, B. D., Couve, E., Song, J., and Duncan, I. D. (2000b). Intracellular distribution of myelin protein gene products is altered in oligodendrocytes of the taiep rat. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 16(4):396–407.
- [Pasantes-Morales et al., 2015] Pasantes-Morales, H., Ramos-Mandujano, G., and Hernández-Benítez, R. (2015). Taurine enhances proliferation and promotes neuronal specification of murine and human neural stem/progenitor cells. *Taurine 9*, pages 457–472.
- [Pfeiffer et al., 1993] Pfeiffer, S. E., Warrington, A. E., and Bansal, R. (1993). The oligodendrocyte and its many cellular processes. *Trends in cell biology*, 3(6):191–197.

- [Potts et al., 2009] Potts, M. B., Rola, R., Claus, C. P., Ferriero, D. M., Fike, J. R., and Noble-Haeusslein, L. J. (2009). Glutathione peroxidase overexpression does not rescue impaired neurogenesis in the injured immature brain. *Journal of neuroscience research*, 87(8):1848–1857.
- [Prins and Hovda, 1998] Prins, M. L. and Hovda, D. A. (1998). Traumatic brain injury in the developing rat: effects of maturation on morris water maze acquisition. *Journal of neurotrauma*, 15(10):799–811.
- [Qiu et al., 2007] Qiu, L., Zhu, C., Wang, X., Xu, F., Eriksson, P. S., Nilsson, M., Cooper-Kuhn, C. M., Kuhn, H. G., and Blomgren, K. (2007). Less neurogenesis and inflammation in the immature than in the juvenile brain after cerebral hypoxia-ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 27(4):785–794.
- [Raff et al., 1986] Raff, M. C. et al. (1986). Proliferating bipotential glial progenitor cells in adult rat optic nerve. *Nature*, 319(6053):499–502.
- [Rakic and Nowakowski, 1981] Rakic, P. and Nowakowski, R. (1981). The time of origin of neurons in the hippocampal region of the rhesus monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 196(1):99–128.
- [Reynolds and Wilkin, 1988] Reynolds, R. and Wilkin, G. P. (1988). Development of macroglial cells in rat cerebellum. ii. an in situ immunohistochemical study of oligodendroglial lineage from precursor to mature myelinating cell. *Development*, 102(2):409–425.
- [Rice and Barone Jr, 2000] Rice, D. and Barone Jr, S. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environmental health perspectives*, 108(suppl 3):511–533.
- [Robin et al., 2008] Robin, J., Franklin, M., and Kotter, M. R. (2008). The biology of cns remyelination. *Journal of Neurology*, 255:19.

-
- [Roessmann and Gambetti, 1986] Roessmann, U. and Gambetti, P. (1986). Astrocytes in the developing human brain. *Acta neuropathologica*, 70(3):308–313.
- [Rotondo et al., 2019] Rotondo, S., Sadek, R., Mekawy, N., Arnos, M., and El Idrissi, A. (2019). Taurine enhances stretch reflex excitability. In *Taurine 11*, pages 359–365. Springer.
- [Roy et al., 2015] Roy, K., Kar, S., and Das, R. N. (2015). Understanding the basics of QSAR for applications in pharmaceutical sciences and risk assessment. Academic press.
- [Sa, 1959] Sa, L. (1959). The fine structure of the morphogenesis of myelin. *Progress in neurobiology*, 4:59–95.
- [Sanai et al., 2011] Sanai, N., Nguyen, T., Ihrie, R. A., Mirzadeh, Z., Tsai, H.-H., Wong, M., Gupta, N., Berger, M. S., Huang, E., Garcia-Verdugo, J.-M., et al. (2011). Corridors of migrating neurons in the human brain and their decline during infancy. *Nature*, 478(7369):382–386.
- [Schallert et al., 1982] Schallert, T., Upchurch, M., Lobaugh, N., Farrar, S., Spirduso, W., Gilliam, P., Vaughn, D., and Wilcox, R. (1982). Tactile extinction: distinguishing between sensorimotor and motor asymmetries in rats with unilateral nigrostriatal damage. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 16(3):455–462.
- [Scior, 2021] Scior, T. (2021). Do it yourself?dock it yourself: General concepts and practical considerations for beginners to start molecular ligand–target docking simulations. In *Molecular Docking for Computer-Aided Drug Design*, pages 205–227. Elsevier.
- [Secretaría de Salud, 2020] Secretaría de Salud (2020). Esclerosis múltiple, enfermedad neurodegenerativa y multifactorial.
- [Semple et al., 2013] Semple, B. D., Blomgren, K., Gimlin, K., Ferriero, D. M., and Noble-Haeusslein, L. J. (2013). Brain development in rodents and humans:

- Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Progress in neurobiology*, 106:1–16.
- [Shivaraj et al., 2012] Shivaraj, M. C., Marcy, G., Low, G., Ryu, J. R., Zhao, X., Rosales, F. J., and Goh, E. L. (2012). Taurine induces proliferation of neural stem cells and synapse development in the developing mouse brain. *PLoS ONE*, page e42935.
- [Sobottka et al., 2011] Sobottka, B., Ziegler, U., Kaech, A., Becher, B., and Goebels, N. (2011). Cns live imaging reveals a new mechanism of myelination: the liquid croissant model. *Glia*, 59(12):1841–1849.
- [Solly et al., 1996] Solly, S., Thomas, J.-L., Monge, M., Demerens, C., Lubetzki, C., Gardinier, M., Matthieu, J.-M., and Zalc, B. (1996). Myelin/oligodendrocyte glycoprotein (mog) expression is associated with myelin deposition. *Glia*, 18(1):39–48.
- [Song et al., 2003a] Song, J., Carson, J. H., Barbarese, E., Li, F.-Y., and Duncan, I. D. (2003a). Rna transport in oligodendrocytes from the taiep mutant rat. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 24(4):926–938.
- [Song et al., 2003b] Song, J., Carson, J. H., Barbarese, E., Li, F.-Y., and Duncan, I. D. (2003b). Rna transport in oligodendrocytes from the taiep mutant rat. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 24(4):926–938.
- [Song et al., 1999a] Song, J., O’connor, L., Yu, W., Baas, P., and Duncan, I. (1999a). Microtubule alterations in cultured taiep rat oligodendrocytes lead to deficits in myelin membrane formation. *Journal of neurocytology*, 28(8):671–684.
- [Song et al., 1999b] Song, J., O’Connor, L. T., Yu, W., Baas, P. W., and Duncan, I. D. (1999b). Microtubule alterations in cultured taiep rat oligodendrocytes lead to deficits in myelin membrane formation. *Journal of Neurocytology*, 28(8):671–684.

-
- [Song et al., 2012] Song, N.-y., Shi, H.-b., Li, C.-y., and Yin, S.-k. (2012). Interaction between taurine and gabaa/glycine receptors in neurons of the rat anteroventral cochlear nucleus. *Brain research*, 1472:1–10.
- [Soto-Rodriguez et al., 2015] Soto-Rodriguez, G., Gonzalez-Barrios, J.-A., Martinez-Fong, D., Blanco-Alvarez, V.-M., Eguibar, J. R., Ugarte, A., Martinez-Perez, F., Brambila, E., Millan-Perez Pena, L., Pazos-Salazar, N.-G., et al. (2015). Analysis of chemokines and receptors expression profile in the myelin mutant taiep rat. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015.
- [Sowell et al., 1999] Sowell, E. R., Thompson, P. M., Holmes, C. J., Jernigan, T. L., and Toga, A. W. (1999). In vivo evidence for post-adolescent brain maturation in frontal and striatal regions. *Nature neuroscience*, 2(10):859–861.
- [Sun et al., 2007] Sun, D., McGinn, M. J., Zhou, Z., Harvey, H. B., Bullock, M. R., and Colello, R. J. (2007). Anatomical integration of newly generated dentate granule neurons following traumatic brain injury in adult rats and its association to cognitive recovery. *Experimental neurology*, 204(1):264–272.
- [Sun et al., 2012] Sun, M., Zhao, Y., Gu, Y., and Xu, C. (2012). Anti-inflammatory mechanism of taurine against ischemic stroke is related to down-regulation of parp and nf-kb. *Amino Acids*, 42(5):1735–1747.
- [Takebayashi et al., 2002] Takebayashi, H., Nabeshima, Y., Yoshida, S., Chisaka, O., Ikenaka, K., and Nabeshima, Y.-i. (2002). The basic helix-loop-helix factor olig2 is essential for the development of motoneuron and oligodendrocyte lineages. *Current biology*, 12(13):1157–1163.
- [Tasker, 2006] Tasker, R. C. (2006). Changes in white matter late after severe traumatic brain injury in childhood. *Developmental neuroscience*, 28(4-5):302–308.
- [Terrill et al., 2016] Terrill, J. R., Pinniger, G. J., Graves, J. A., Grounds, M. D., and Arthur, P. G. (2016). Increasing taurine intake and taurine synthesis

- improves skeletal muscle function in the mdx mouse model for duchenne muscular dystrophy. *The Journal of physiology*, 594(11):3095–3110.
- [Tsujiimoto, 2008] Tsujiimoto, S. (2008). The prefrontal cortex: Functional neural development during early childhood. *The Neuroscientist*, 14(4):345–358.
- [Turbic et al., 2011] Turbic, A., Leong, S. Y., and Turnley, A. M. (2011). Chemokines and inflammatory mediators interact to regulate adult murine neural precursor cell proliferation, survival and differentiation. *PloS one*, 6(9):e25406.
- [Van Der Spoel et al., 2005] Van Der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A. E., and Berendsen, H. J. (2005). Gromacs: fast, flexible, and free. *Journal of computational chemistry*, 26(16):1701–1718.
- [van Tilborg et al., 2018] van Tilborg, E., de Theije, C. G., van Hal, M., Wagenaar, N., de Vries, L. S., Benders, M. J., Rowitch, D. H., and Nijboer, C. H. (2018). Origin and dynamics of oligodendrocytes in the developing brain: Implications for perinatal white matter injury. *Glia*, 66(2):221–238.
- [Vargas-Castro et al., 2021] Vargas-Castro, V., Gomez-Diaz, R., Blanco-Alvarez, V. M., Tomas-Sanchez, C., Gonzalez-Vazquez, A., Aguilar-Peralta, A. K., Gonzalez-Barrios, J. A., Martinez-Fong, D., Eguibar, J. R., Vivar, C., et al. (2021). Long-term taurine administration improves motor skills in a tubulinopathy rat model by decreasing oxidative stress and promoting myelination. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 115:103643.
- [Verrills et al., 2003] Verrills, N. M., Flemming, C. L., Liu, M., Ivery, M. T., Cobon, G. S., Norris, M. D., Haber, M., and Kavallaris, M. (2003). Microtubule alterations and mutations induced by desoxyepothilone b: Implications for drug-target interactions. *Chemistry & Biology*, 10(7):597–607.
- [Vivar and Van Praag, 2013] Vivar, C. and Van Praag, H. (2013). Functional circuits of new neurons in the dentate gyrus. *Frontiers in neural circuits*, 7:15.

-
- [Vora et al., 2012] Vora, P., Pillai, P., Mustapha, J., Kowal, C., Shaffer, S., Bose, R., Namaka, M., and Frost, E. E. (2012). Cxcl1 regulation of oligodendrocyte progenitor cell migration is independent of calcium signaling. *Exp Neurol*, 236(2):259–67. 1090-2430 Vora, Parvez Pillai, Prakash Mustapha, Joumana Kowal, Cory Shaffer, Seth Bose, Ratna Namaka, Mike Frost, Emma E Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't United States *Exp Neurol*. 2012 Aug;236(2):259-67. doi: 10.1016/j.expneurol.2012.04.012. Epub 2012 Apr 24.
- [Wake et al., 2011] Wake, H., Lee, P. R., and Fields, R. D. (2011). Control of local protein synthesis and initial events in myelination by action potentials. *Science*, 333(6049):1647–1651.
- [Watson et al., 2020] Watson, A. E. S., Goodkey, K., Footz, T., and Voronova, A. (2020). Regulation of cns precursor function by neuronal chemokines. *Neuroscience letters*, 715:134533.
- [Worden and Stipanuk, 1985] Worden, J. A. and Stipanuk, M. H. (1985). A comparison by species, age and sex of cysteinesulfinatase activity and taurine concentration in liver and brain of animals. *Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry*, 82(2):233–239.
- [Wu et al., 2005] Wu, H., Jin, Y., Wei, J., Jin, H., Sha, D., and Wu, J.-Y. (2005). Mode of action of taurine as a neuroprotector. *Brain research*, 1038(2):123–131.
- [Wu et al., 2000] Wu, Q., Miller, R. H., Ransohoff, R. M., Robinson, S., Bu, J., and Nishiyama, A. (2000). Elevated levels of the chemokine gro-1 correlate with elevated oligodendrocyte progenitor proliferation in the jimpy mutant. *Journal of Neuroscience*, 20(7):2609–2617.
- [Yamanaka et al., 1997] Yamanaka, T., Sasa, M., and Matsunaga, T. (1997). Glutamate as a primary afferent neurotransmitter in the medial vestibular nucleus as detected by in vivo microdialysis. *Brain research*, 762(1-2):243–246.

- [Zhao and Ren, 2016] Zhao, X.-b. and Ren, G.-s. (2016). Lncrna taurine-upregulated gene 1 promotes cell proliferation by inhibiting microrna-9 in mcf-7 cells. *Journal of breast cancer*, 19(4):349–357.
- [Zhou et al., 2006] Zhou, M., Schools, G. P., and Kimelberg, H. K. (2006). Development of glast (+) astrocytes and ng2 (+) glia in rat hippocampus ca1: mature astrocytes are electrophysiologically passive. *Journal of neurophysiology*, 95(1):134–143.
- [Zhu et al., 2009] Zhu, C., Qiu, L., Wang, X., Xu, F., Nilsson, M., Cooper-Kuhn, C., Kuhn, H. G., and Blomgren, K. (2009). Age-dependent regenerative responses in the striatum and cortex after hypoxia-ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 29(2):342–354.
- [Zhu et al., 2020] Zhu, X., Wu, Y., Pan, J., Li, C., Huang, J., Cui, E., Chen, Z., Zhou, W., Chai, X., and Zhao, S. (2020). Neuroinflammation induction and alteration of hippocampal neurogenesis in mice following developmental exposure to gossypol. *Int J Neuropsychopharmacol.* 1469-5111 Zhu, Xiaoyan Wu, Yongji Pan, Jiarong Li, Cixia Huang, Jian Cui, Enhui Chen, Ziluo Zhou, Wentai Chai, Xuejun Zhao, Shanting Journal Article England *Int J Neuropsychopharmacol.* 2020 Dec 7:pyaa093. doi: 10.1093/ijnp/pyaa093.