



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS  
ÁREA BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

**Efecto de la administración crónica de taurina  
sobre el aprendizaje-memoria, estrés  
nitrosativo y expresión de quimiocinas en la  
rata *taiep***

Tesis que presentada para obtener el grado el título:  
Maestría en Ciencias

Presenta: Q.C. Ricardo Gómez Díaz

**Directora de tesis:**

D.C. Bertha Alicia León Chávez

*Profesor titular del Área de Bioquímica y Biología Molecular, BUAP*

**Co-Director de tesis:**

Dr. Juan Antonio Gonzales Barrios

*Jefe del Laboratorio de Medicina Genómica, Hospital Regional "1° de Octubre", ISSSTE*

Abril 2017

## **AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA**

*Gracias Dios por permitirme tener un logro más en mi vida, y guiarme de la mejor manera por este camino.*

*Dedico esta tesis principalmente a mis padres que siempre me han apoyado en mis decisiones y me han ayudado a emprender nuevos logros, a mis hermanos que siempre me han alentado a seguir adelante, así como a Rosy y mi hijo Leo que son un motivo para siempre superarme ante cualquier adversidad, y que han estado a mi lado en todo momento.*

*A mis directores de tesis: D.C. Bertha Alicia León Chávez y Dr. Juan Antonio González Barrios, quienes me proporcionaron en todo momento su tiempo, dedicación y conocimiento durante la realización de la tesis, y quienes siempre me brindaron todo su apoyo y su esmero por realizar lo mejor posible el trabajo durante este tiempo.*

*Así como también le agradezco a los miembros de mi comisión revisora: D.C. Eduardo Brambila Columbres, D.C. José Ramón Eguibar Cuenca, D.C. Daniel Martínez Fong, D.C. Guadalupe Soto Rodríguez, Dra. Lourdes Millápor el tiempo que dedicaron en la revisión de este trabajo y haber realizado las correcciones y observaciones precisas para el mejoramiento de la tesis*

*Además, les doy las gracias a mis compañeros de trabajo, que se convirtieron en grandes amigos: Víctor, Tino, Kary, Ale y Lupita, por siempre apoyarme tanto en el trabajo teórico, experimental y en lo personal, que gracias a ellos fue posible cumplir con todos los objetivos en forma y tiempo.*

## INDICE

Resumen .....	1
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>2</b>
<b>1.1 Enfermedades desmielinizantes.....</b>	<b>2</b>
1.1.1 Clasificación .....	3
<b>1.2 Rata <i>taiep</i> .....</b>	<b>6</b>
1.2.1 Aspectos morfológicos.....	9
<b>1.3. Quimiocinas .....</b>	<b>14</b>
1.3.1 Clasificación de las quimiocinas .....	15
1.3.2 Funciones .....	16
1.3.3 Vías de señalización .....	18
CXCL1 y su receptor CXCR2 .....	19
CXCL12 y su receptor CCR4 .....	20
CXCL13 y su receptor CXCR5 .....	23
CCL2 y su receptor CCR2 .....	24
CCL4 y su receptor CCR5 .....	24
Receptor CCR8.....	25
Receptor CCR1.....	25
<b>1.4. Factores de crecimiento.....</b>	<b>26</b>
Factor de crecimiento de fibroblastos tipo 2 (FGF-2) .....	26
Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) .....	27
Factor de crecimiento semejante insulina tipo 1 (IGF-1).....	30
<b>1.5 Estrés oxidativo/nitrosativo.....</b>	<b>31</b>
1.5.1 Sintetasas de óxido nítrico .....	32
Sintasa de óxido nítrico neuronal (nNOS) .....	33
Sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS) .....	34
Sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS).....	35
<b>1.6 Taurina .....</b>	<b>36</b>
1.6.1 Funciones de la taurina .....	37
1.6.2 Mecanismo de liberación de taurina.....	41
1.6.4 Taurina en el desarrollo neuronal .....	42
1.6.5 Taurina en enfermedades neurodegenerativas.....	45
<b>JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>47</b>
<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>48</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>48</b>
4.2 Objetivos específicos.....	48
<b>DIAGRAMA DE TRABAJO .....</b>	<b>49</b>
<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>50</b>

<b>6.1 Animales</b> .....	<b>50</b>
<b>6.2 Administración de taurina</b> .....	<b>50</b>
<b>6.3 Reconocimiento de objetos Novedosos (NOR)</b> .....	<b>50</b>
<b>6.4 Laberinto acuático de Morris</b> .....	<b>51</b>
<b>6.5 Episodios de inmovilidad (EIs) inducidos por agarre</b> .....	<b>51</b>
<b>6.6 Determinaciones bioquímicas</b> .....	<b>52</b>
6.6.1 Cuantificación de proteínas totales .....	52
6.6.2 Cuantificación de malondialdehído (MDA) .....	52
6.6.3 Determinación de nitritos .....	53
6.6.5 Extracción de RNA total.....	54
6.6.6 Retrotranscripción.....	54
6.6.7 PCR en tiempo real.....	54
<b>6.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	<b>56</b>
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>57</b>
<b>Laberinto Acuático de Morris</b> .....	<b>57</b>
<b>Reconocimiento de Objetos Novedosos</b> .....	<b>58</b>
<b>Episodios de inmovilidad</b> .....	<b>60</b>
<b>Estrés nitrosativo</b> .....	<b>61</b>
<b>Quimiocinas y Factores de crecimientos</b> .....	<b>78</b>
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>106</b>
<b>La suplementación de taurina disminuyó los Episodios de inmovilidad</b> .....	<b>108</b>
<b>La suplementación de taurina disminuyó el Estrés nitrosativo</b> .....	<b>108</b>
<b>La suplementación de taurina disminuyó las Sintetas del óxido nítrico y enzimas antioxidantes</b> .....	<b>112</b>
<b>Efecto anti-inflamatorio de la taurina</b> .....	<b>115</b>
<b>CONCLUSIÓN</b> .....	<b>128</b>
<b>PERSPECTIVAS</b> .....	<b>128</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>129</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>130</b>

## Indice de Tablas

Table 1 Clasificación de las enfermedades desmielinizantes en base a su patogenia.....	3
Table 2 Efecto de distintos fármacos sobre los EIs inducidos por manipulación en la rata <i>taiep</i> .....	9
Table 3 Clasificación de quimiocinas según la nueva nomenclatura .....	17
Tabla 4 Lista de sondas taqman que se utilizaron en la PCR tiempo real.....	55

## Indice de Figuras

Figura 1 Estructura de las quimiocinas. ....	15
Figura 2. Estructura de taurina.....	37
Figura 3 Efecto de la administración crónica de taurina sobre el aprendizaje. ....	57
Figura 4 Efecto de la administración de taurina sobre la memoria. ....	58
Figura 5 Efecto de taurina sobre la retención a corto plazo en Reconocimiento de objetos novedosos. ....	59
Figura 6 Efecto de taurina sobre la retención a largo plazo en Reconocimiento de objetos novedosos. ....	60
Figura 7. Efecto de la administración crónica de taurina sobre los episodios de inmovilidad (EIs). ....	61
Figura 8 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en la Medula Espinal en ratas macho.....	62
Figura 9 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en la Médula Espinal en ratas hembra .....	63
Figura 10 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Tallo cerebral en ratas macho.....	63
Figura 11 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Tallo cerebral en ratas hembra .....	64
Figura 12 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Cerebelo en ratas macho.....	65
Figura 13 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Cerebelo en ratas hembra .....	65

Figura 14 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Núcleos subcorticales en ratas macho.....	66
Figura 15 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Núcleos subcorticales en ratas hembra .....	67
Figura 16 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Corteza cerebral en ratas macho.....	68
Figura 17 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Corteza cerebral en ratas hembra .....	68
Figura 18 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de nNOS.....	70
Figura 19 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de eNOS. ....	71
Figura 20 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de iNOS.....	72
Figura 21 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de NF- $\kappa$ B. ....	73
Figura 22 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de SOD1.....	75
Figura 23 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de SOD3.....	76
Figura 24 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de GPX4. ....	77
Figura 25 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CCL2.....	79
Figura 26 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CCR2. ....	80
Figura 27 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CCL4.....	81
Figura 28 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CCR8. ....	82
Figura 29 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CXCL12.....	84
Figura 30 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CXCR4. ....	85
Figura 31 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CXCL13.....	86
Figura 32 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CXCR5. ....	87
Figura 33 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de FGF2.....	89
Figura 34 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de BDNF.....	90
Figura 35 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de IGF-1. ....	91
Figura 36 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de NGF-1. ....	92

Figura 37 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de VEGF. ....	94
Figura 38 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de GDNF. ....	95
Figura 39 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CCL2 y CCR2. ....	97
Figura 40 Efecto de la taurina sobre la expresión de CCL4 Y CCR8. ....	98
Figura 41 Efecto de la taurina sobre la expresión de CCR5 y CCR1. ....	99
Figura 42 Efecto de la taurina sobre la expresión de CXCL1 y CXCR2. ....	101
Figura 43 Efecto de la taurina sobre la expresión de CXCL12 y CXCR4. ....	102
Figura 44. Efecto de la taurina sobre la expresión de CXCL13 y su receptor CXCR5. ....	104
Figura 45 Efecto de la taurina sobre la expresión de FG2 y BDNF. ....	105
Figura 46 Efecto citotóxico de la suplementación de taurina. ....	111
Figura 47 Efecto antioxidante de la suplementación de taurina. ....	112
Figura 48 Efecto dual de la suplementación de taurina. ....	127

## Resumen

La rata *Taiep* es un modelo de una enfermedad desmielinizante y su acrónimo deriva de los principales síntomas motores que lo caracterizan: temblor, ataxia, inmovilidad, epilepsia y parálisis. El temblor es progresivo, de tal forma que aparece al mes de vida con alta frecuencia y disminuye con la edad. La ataxia aparece a los dos meses de edad, los episodios de inmovilidad se inician a los seis meses y muestran una máxima susceptibilidad entre los siete a los ocho meses de edad, siendo mayor su incidencia en los machos que en las hembras. El efecto de taurina pudiera ser controversial en la rata *taiep*, ya que por un lado pudiera disminuir la astrogliosis reactiva típica de la rata *taiep*, el proceso inflamatorio y el estrés nitrosativo, eventos que están incrementados en la rata *taiep*. Sin embargo, el déficit de las quimiocinas: CXCL1, CCR2, CCR5 y el receptor CXCR4 ha sido descrito como uno de los principales mecanismos moleculares que desencadenan la hipomielinización. En este trabajo se realizó la suplementación de taurina (50 ppm, en agua de beber) desde el día E15 hasta los 8 meses de edad a ratas SD y *taiep*. Los animales desde edades tempranas se evaluaron el aprendizaje y memoria por el laberinto acuático de Morris al mes y medio de edad y por el reconocimiento de objetos novedosos (NOR) a los dos meses de edad. Las diferentes regiones cerebrales se le cuantificó los niveles de nitritos por el método de Griess, la lipoperoxidación por el método de Gerard-Monnier, las quimiocinas y factores de crecimiento fueron determinados por su transcripto por RT-qPCR y la proteína por ELISA. La suplementación de taurina desde la gestación tuvo un efecto neuroprotector en la rata *taiep* en las regiones que presentan mayor desmielinización, disminuyendo el estrés nitrosativo (nitritos y lipoperoxidación) dependiente de la región y de la edad, a través de la disminución de las isoformas de NOS y el proceso inflamatorio (CCR2, CCL4, CCR5, CCR1, CXCL12), viéndose reflejado en una disminución en la respuesta al daño por las enzimas antioxidantes (GPx y SOD) en el día 15 de edad, además promover la regulación positiva del ARNm de IGF-1, así como en la expresión de CXCL1, CXCR4 y FGF2 en edades infantiles dependiente de la región, sin observarse un daño en los aspectos cognitivos en edades tempranas. Sin embargo, en la rata control, Sprague-Dawley, la suplementación de taurina desde la gestación causó incremento la lipoperoxidación y la disminución de SOD3 en corteza cerebral-hipocampo, y disminución de factores de crecimiento dependiente de la edad, viéndose reflejado en un déficit en los aspectos cognitivos de referencia no espacial en edades tempranas.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades hipomielinizantes/desmielinizante son un problema de salud, que afecta la capacidad psicomotora de las personas, puede ser a causa de infecciones, procesos isquémicos, metabólicos y genéticos [Brinar V. 2011]. La enfermedad desmielinizante se refiere a cualquier enfermedad del sistema nervioso donde la vaina de mielina en los axones de diferentes tipos neuronales se encuentra dañada. Este afecta la velocidad de transmisión de los impulsos nerviosos a través de los axones de las neuronas, causando un déficit sensoromotor, la cognición, u otras funciones dependiendo en que están implicados los tractos nerviosos. Los estudios que se realizan sobre estas enfermedades son a través de estudios *post-mortem* o en modelos animales inducidos experimentalmente, que permiten estudiar estas enfermedades de forma *in vivo*.

### 1.1 Enfermedades desmielinizantes

El término desmielinización describe una pérdida o una disminución tanto aguda como crónica de la cantidad de mielina, con relativa preservación de los axones. La mielina es una cubierta con múltiples capas de membrana celular compactada producida por oligodendrocitos en el sistema nervioso central (SNC) o por células Schwann en el sistema nervioso periférico (SNP), considerada un aislante eléctrico que incrementa la resistencia y disminuye la capacitancia a través del axón [Aggarwal et al. 2011], evitando las pérdidas de corriente eléctrica regidas por la teoría de cable [Durand D. 1984]. Estas enfermedades donde existe la pérdida de mielina producidas por un agente o un daño, deben distinguirse de aquellos en los que hay un fallo para formar mielina, denominadas dismielinizantes. A pesar de que los axones que se han desmielinizado tienden a atrofiarse y, eventualmente, pueden degenerar. En las enfermedades desmielinizantes se produce la degeneración axonal como mecanismo primario y la degradación de la mielina es secundaria [de Velazquez, 2002].

La clasificación de enfermedades desmielinizantes se realiza en base al agente etiológico, como puede ocurrir de manera genética, por agentes infecciosos, por reacciones autoinmunes y por factores desconocidos [Love 2006].

### 1.1.1 Clasificación

Las enfermedades desmielinizantes del SNC se pueden clasificar en varias categorías en función de su patogenia:

La clasificación de acuerdo a la patogénesis ofrece un marco conceptual que puede ser útil para el diagnóstico preciso (Tab. 1) [Love, 2006.].

*Table 1 Clasificación de las enfermedades desmielinizantes en base a su patogenia*

CLASE	TIPO
<b>Desmielinización debido a Procesos Inflamatorios</b>	Esclerosis Múltiple: Clásica, Aguda, Neuromilitis Óptica y Concéntrica
	Encefalomiелitis Diseminada Aguda
	Leucoencefalitis Hemorrágica Aguda
<b>Desmielinización viral</b>	Leucoencefalopatía Multifocal Progresiva
	Otras virales
<b>Desmielinización causada por trastornos Metabólicos adquiridos</b>	Mielinólisis Pontina
	Mielinólisis Extrapontina
<b>Desmielinización por procesos hipóxico-isquémico</b>	Hipoxia – Isquemia
<b>Desmielinización por Compresión focal</b>	Compresión Nerviosa del Trigémino

*Tomado de S. Love 2006*

En las enfermedades del SNC el blanco del daño se centra en la mielina y en los oligodendrocitos dirigiéndose a una pérdida de mielina, daño axonal y degeneración [Sabo & Cate 2013], existe un mecanismo de reparación llamado remielinización, en el cual los axones son provistos de una nueva capa de mielina más delgada mediante la generación de nuevos oligodendrocitos maduros [Franklin & Ffrench, 2008] protegiéndolos de la degeneración y reparando la conducción y propagación del potencial de acción.

Las células progenitoras de oligodendrocitos (por sus siglas en inglés OPCs: oligodendrocyte progenitor cells) son una fuente endógena para el

reemplazo de los oligodendrocitos [Franklin R.J. et al. 2002], adquiriendo el fenotipo de oligodendrocito y posteriormente diferenciándose a oligodendrocito mielinizante, se han descrito mecanismos moleculares que pueden estar regulando los procesos de remielinización como son las vías de señalización para que se lleve a cabo la diferenciación y la maduración de los oligodendrocitos, las cuales activan factores de transcripción como son Sox5/6 y Hes5 [Emery 2010], mientras que otras vías influyen la migración como es Sonic hedgehog (Shh) y que expresa los factores de transcripción NKX6.1 y NKX6.2 [Briscoe J. et al. 2000]. Además del factor de crecimiento de fibroblastos (por sus siglas en inglés FGF: fibroblast growth factor) y de la proteína ósea morfogénica (POM) que regulan la especificación del destino de las OPCs [Vallstedt A. et al. 2005]. También en los oligodendrocitos postmitóticos hay factores de transcripción como NKX2.2, Olig 1/2, Sox10 y la proteína dedo de zinc 191 (Zfp 191) que se requieren para la expresión de los genes de mielina, pero no para la adquisición del fenotipo o diferenciación, a diferencia de Olig1, que participa completamente en la diferenciación [Emery 2010].

Una vez que se define la línea de oligodendrocitos durante el desarrollo, las OPCs posteriormente migran y proliferan en todo el SNC [Armstrong R. et al. 1991, Miller R.H. et al. 1997]. Esta migración es regulada por moléculas de la matriz extracelular [Frost E. et al. 1996] y por la quimiocina CXCL1 [Tsai H. et al 2002], mientras que la presencia del factor de crecimiento derivado de plaquetas (por sus siglas en inglés PDGF: platelet derived growth factor) mejora su respuesta proliferativa [Fruttiger M. et al. 1999], al igual que la señalización del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (por sus siglas en inglés IGF-1: insulin-like growth factor) [Tsai H..et al 2002]. Las OPCs se detienen y maduran en oligodendrocitos mielinizantes que dependen de la influencia de las señales derivadas de los axones [Nave K.A. & Trapp B.D. 2008]. Estos oligodendrocitos maduros expresan glicoproteína asociada a mielina (por sus siglas en inglés MAG: myelin-associated glycoprotein), la proteína básica de mielina (por sus siglas en inglés MBP: myelin basic protein), proteína proteolípida (por sus siglas en inglés PLP: proteolipid protein), la glicoproteína de mielina de oligodendrocitos (por sus

siglas en inglés MOG: myelin oligodendrocyte glycoprotein) y otros [Miller R.H. 2002], necesarios para la formación de mielina.

La mielina requiere de un remodelamiento de la membrana plasmática del oligodendrocito, puesto que ambos lados de la membrana deberán aproximarse lo suficiente para compactar la vaina de mielina, generando un flujo de los componentes intracelulares que favorece su extensión, por tanto los oligodendrocitos comienzan a extender sus prolongaciones, produciendo galactosilceramida y sulfátido antes de sintetizar PLP y MBP [Aggarwal et al. 2011].

En estas enfermedades desmielinizante presentan procesos recurrentes de desmielinización seguidos de remielinización, los cuales se encuentran determinados por ciclos de activación de los procesos inflamatorios. Estos procesos se caracterizan por la presencia de infiltrados de células T autorreactivas, muchas células mononucleares no patogénico-específicas y una severa afectación de la glía a nivel de SNC (Furlan et al. 2003).

El primer paso en el proceso de remielinización depende de las OPCs que responden a estímulos inflamatorios derivados de la secreción de factores por los astrocitos reactivos y de la microglía activada, dentro de las lesiones desmielinizadas [Franklin R.J. et al. 2002, Franklin & Ffrench, 2008]. Esta respuesta a la desmielinización se produce en dos etapas: 1) la etapa de reclutamiento donde las OPCs proliferan y migran rápidamente hacia el área desmielinizada; y 2) la fase de diferenciación donde las OPCs reclutadas maduran y se unen a los axones, restaurando las vainas de mielina [Armstrong 2007, Watanabe et al. 2002]. Sin embargo, el número de OPCs disminuye gradualmente si la desmielinización es constante [Ludwin 1980], lo cual puede ser una limitante de la remielinización.

La formación de la nueva mielina puede ocurrir en áreas de daño, pero es más delgada y es menos funcional, es por ello que las investigaciones se enfocan en producir el aumento de la capacidad del cuerpo para producir nueva mielina funcional. Por lo que, hasta el momento no se cuenta con una cura para las

enfermedades desmielinizantes, el tratamiento generalmente consiste en disminuir los síntomas o la velocidad de la desmielinización, de esta manera se mejorara la calidad de vida del paciente. Existen pocos modelos de enfermedades demielinizantes innatas y que no sean adquiridas, la rata *taiep* es un modelo idóneo para investigar formas terapéuticas para disminuir o contrarrestar el daño en este tipo de enfermedades.

## 1.2 Rata *taiep*

La rata *taiep* es un modelo animal de enfermedades hipomielinizante-desmielinizante, es una mutante de mielina de tipo autosómica recesiva, con un síndrome motor progresivo caracterizado por: temblor, ataxia, episodios de inmovilidad, epilepsia y parálisis, de los cuales deriva su acrónimo, fue obtenida por investigadores del instituto de fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla [Holmgren et al. 1989]. El temblor se presenta entre los 20 y 30 días de edad a nivel de la cola con alta frecuencia, disminuyendo con la edad. La ataxia aparece a los 4 meses de edad donde son evidentes los cambios en la cinemática de la marcha [Rocha et al. 2012] y los episodios de inmovilidad se inician a los 6 meses; siendo su incidencia mayor en los machos que en las hembras con un pico máximo entre los 8.5 y 9.5 meses de edad [Cortes et al. 2005], la epilepsia progresiva y la parálisis de las extremidades posteriores se presenta después de los 12 meses de edad.

Cada uno de los síntomas se produce de manera progresiva a lo largo de la vida de la rata, el temblor presenta una frecuencia con un pico máximo de  $13.3 \pm 1.2$  Hz al mes de edad, y el cual posteriormente va disminuyendo, donde el pico máximo es desplazado a  $10.5 \pm 0.9$  Hz y un segundo pico aparece a los  $5.7 \pm 0.6$  Hz, el cual permanece constante y produce una clara oscilación que modifica el patrón de locomoción [Holmgren et al. 1989]. El temblor y la ataxia en conjunto pueden ser signos cruciales de algunas enfermedades cerebelares, en la rata *taiep* puede deberse a una alteración en el posicionamiento de las células de Purkinje en el cerebelo [Riboni & Luna 1993], así como también a la alteración de

la función de los canales de sodio en estas mismas células, encontrándose incrementado los niveles de ARNm y la expresión de canales de sodio SNS/PN3 en la etapa adulta contribuyendo a la ataxia que se encuentra presente [Black *et al.* 1999].

Otra de las características clínicas del modelo *taiep* son los episodios de inmovilidad tónica (EIs), que se producen tanto de manera espontánea como de manera inducida al sujetar la rata de la cola o del torax [Cortes *et al.* 2005]; y consisten en un estado repentino de inconsciencia, donde existe una pérdida de la tonicidad muscular acompañada de bradipnea. Esta condición persiste en promedio unos 30 segundos, después los animales se recuperan espontáneamente [Cortes *et al.* 2005].

Los reflejos de inmovilidad se refieren a un estado reversible de profunda inmovilidad y una relativa incapacidad para responder a los estímulos del medio ambiente [Klemm, 1971], cuyo estado puede ser inducido por diversos mecanismos, recibiendo la terminología de acuerdo al tipo de conducta de inmovilidad: 1) conducta catatonía, es aquella que podría entenderse como una respuesta al miedo o como estrategia de defensa que los animales presentan cuando se enfrentan a un peligro inminente, 2) Cataplejía es otro de los términos usado para referirse a la inmovilidad que es producida solo por manipulación, como lo es la sujeción cuando se ponen en decúbito dorsal al sujeto, también llamado inmovilidad tónica, reflejo de inmovilidad o inmovilidad fásica; debido a que este estado dura de pocos segundos a unos minutos [Klemm, 1971], 3) la catalepsia, esta se induce farmacológicamente con drogas, en la cual la persona o el animal permanece largos periodos en una sola postura, impuesta externamente, una región cerebral involucrada para la inducción de estados catalépticos es el sistema nigro estriatal, ya que se induce al administrar antagonistas dopaminérgicos como el haloperidol, y puede bloquearse al administrar cannabinoides [De Ryck *et al.* 1980].

La rata *taiep* ha sido descrita como un modelo de narcolepsia-cataplejía, debido a que durante los EIs la corteza cerebral tiene una actividad eléctrica

desincronizada, mostrando actividad beta con ondas de baja amplitud y alta frecuencia (12-20hz), asociadas al ritmo theta del hipocampo [Prieto et al. 1991, Cortes et al. 2005] y una clara disminución del tono de la musculatura nugal (hipotonía), o incluso ausencia del tono muscular (atonía) con características electrofisiológicas del sueño del movimiento ocular rápido (MOR) [Cortes et al. 2005]. A través de estudios electrofisiológicos se ha demostrado que la mutante *taiep* muestra ondas corticales anormales en forma de huso, las cuales se presentan en todas las áreas corticales [Prieto et al. 1991]. Además, las ratas *taiep* se caracteriza por un ciclo desorganizado de sueño-vigilia con distribución igual de sueño MOR en las fases de luz y oscuridad del ciclo circadiano, que es diferente respecto a las ratas Sprague-Dawley normales, que tenían más sueño MOR en la fase de luz [Cortes et al. 2005]. De hecho, la incidencia de los MOR se incrementa en la *taiep* y se ha propuesto como indicador de desmielinización [Anch and Laposky 2000]. Es por ello que la ausencia de movimiento, el cierre ocular y las características del electroencefalograma (EEG) llevaron a algunos autores a sugerir que el IE puede representar un estado de sueño, similar al trastorno de narcolepsia, caracterizado por episodios irresistibles de sueño que ocurren varias veces al día, separados por intervalos en los que el paciente puede estar alerta o somnoliento, que puede ir acompañado de cataplejía, el cual es una disminución repentina o pérdida de tono muscular ya sea generalizado o confinado a músculos individuales [Cortes et al. 2005].

La rata *taiep* fue propuesta como un modelo adecuado para evaluar el efecto de fármacos sobre los sistemas que podrían estar regulando los IEs, como son las vías dopaminérgicas, noradrenérgico, serotoninérgico y colinérgico sobre los episodios de inmovilidad [Eguibar et al. 2006, Ita et al., 2009] inducidos al sujetar a la rata *taiep* por la cola o el tórax [Cortes et al. 1999; Eguibar et al. 2000]. Los episodios de inmovilidad (IEs) en la rata *taiep* fueron aumentados a través de agonistas adrenoreceptores alfa2 y antagonistas alfa1, y disminuyendo los IEs por antagonistas alfa2 [Eguibar et al., 2006]. La frecuencia de los IEs es reducida por agonistas de los receptores de serotonina 5-HT 1A y 1B, así como agonistas

serotonérgicos 5-HT(2A-2C). Sin embargo, agonistas dopaminérgicos D2 incrementan la frecuencia de cataplejías (Tabla 2) [Eguibar et a., 2010].

**Table 2 Efecto de distintos fármacos sobre los Els inducidos por manipulación en la rata *taiep***

	<b>Droga</b>	<b>µg/kg</b>	<b>Efecto en los Els</b>
Prazosina	Antagonista $\alpha$ 1	25-800	Incrementa
Clordina	Agonista $\alpha$ 2	1-1000	Incrementa
Xilacina	Agonista $\alpha$ 2	1-1000	Incrementa
Yohimbina	Antagonista $\alpha$ 2	1-1000	Disminuye
idazoxán	Antagonista $\alpha$ 2	2-2000	Disminuye
fluoxetina	Inhibidor de recaptura	1-1000	Disminuye
Quinpirole	Agonista D2	3-100	Incrementa

*Tomado de Eguibar 2010*

Además, el EEG de la rata *taiep*, mostró una actividad característica del huso con una descarga en espiga y la frecuencia media en la banda teta (6-7 Hz) [Cortes, et al., 2005]. Este tipo de descargas son similares a las observadas en las crisis de ausencia descritas en seres humanos, en la rata *taiep* ha sido considerado un signo característico de la epilepsia del tipo de las ausencias.

### 1.2.1 Aspectos morfológicos

La rata *taiep* presenta una mutación en el cromosoma 9, en donde se propone el fallo de un gen en la región 5.9-cM alrededor de D9Rat44, entre el telómero y D9Rat88 [Li F.Y. et al. 2003]; alterando las proteínas asociadas a microtúbulos, que con lleva al déficit en el transporte intracelular de las proteínas necesarias para la producción de mielina (hipomielinización), posteriormente presenta una desmielinización que es progresiva e incrementa con la edad, dependiendo de la región cerebral. La principal alteración celular reportada en la rata *taiep* es la acumulación de los microtúbulos en el soma y sobre todo en las prolongaciones distales de los oligodendrocito [Duncan *et al.* 1992], donde los

microtúbulos se organizan con una orientación de polaridad no uniforme, el 20% de los microtúbulos tienen sus extremos positivos dirigidos hacia el cuerpo celular y aproximadamente el 80% tiene sus extremos positivos distales al cuerpo celular [Lunn et al. 1997], interrumpiendo el transporte de las proteínas de la mielina desde el soma celular hacia las vainas de mielina [Couve et al. 1997, Möller et al., 1997], lo cual compromete su síntesis y su mantenimiento; además existe una unión de los microtúbulos con el retículo endoplásmico (RE) de los oligodendrocitos, constituyendo elementos transitorios que pueden impedir el movimiento de proteínas hacia el cara *cis* del-aparato de golgi [Couve et al. 1997], por lo que las proteínas que forman la mielina disminuyen progresivamente, ya que los microtúbulos desempeñan un papel importante en la localización de la proteína de mielina, el transporte del ARNm, y el tráfico intracelular de componentes membranosos (Brophy et al, 1993;. Kaley y Smith, 1994), además que este déficit también es debido a una insuficiencia de la proteína asociada a microtúbulos (por sus siglas en inglés MAPs: microtubule-associated proteins), cinesina, responsable del transporte de ARNm y proteínas desde el núcleo hacia las prolongaciones de los oligodendrocitos, así como un aumento de dineina, la cual se encarga del transporte retrogrado [Song et al. 2003].

Estudios bioquímicos e inmunohistoquímicos han demostrado que en la regiones del SNC existe una disminución general de las principales proteínas que forman la mielina: proteína básica de mielina (PBM), proteína proteolipídica (PLP), 2',3'-ciclo nucleótido-3-fosfodiesterasa (CNP) y la glicoproteína asociada a mielina (MAG) que es la que se encuentra principalmente disminuida en comparación con las demás, junto con la MAG-L son dependientes de su transporte intracelular por microtúbulos y se ha observado que colocalizan en el citoplasma perinuclear del oligodendrocito de la rata *taiep* [Möller et al. 1997; O'Connor et al. 2000], todas las proteínas están presentes en el SNC de la mutante, pero las cantidades se reducen a niveles compatibles con la deficiencia general de mielina, esto debido a la unión de los microtúbulos en el RE, lo que disminuye drásticamente la cantidad de mielina principalmente a un 44% en el cerebro y 88% médula espinal de la rata

*taiep* a los dos meses de edad en comparación con el modelo control, y a los 12 meses de edad en el cerebro contiene solo el 9% de mielina [Möller *et al.* 1992].

En la mutante mielina *taiep*, el inicio de la mielinización parece normal durante la primera semana después del parto. Sin embargo, graves defectos neurológicos se hacen evidentes después de la segunda semana postnatal (Lunn *et al.*, 1995). La mielinización en la mutante comienza al mismo que el tiempo que en la rata normal. Sin embargo, en la rata *taiep*, la cantidad de mielina formada es menor (hipomielinización) que la rata control, y después del mes de edad hay una pérdida de mielina (desmielinización) desde cada región del SNC. En contraste en el sistema nervioso periférico se encuentra mielinizado de manera normal [Lunn *et al.* 1997]. Es importante destacar que las alteraciones de la mielina no son homogéneas porque los tractos blancos que son mielinizados por los oligodendrocitos tipo I-II y mielinizados tempranamente durante el desarrollo son menos afectados, tales como las columnas ventrales o la parte *cuneatus* de las columnas dorsales de la médula espinal. Por otro lado, las fibras más afectadas son de los oligodendrocitos tipo III-IV y que mielinizaron posteriormente, como la vía cortico-espinal en la médula espinal, o la parte *gracilis* de las columnas dorsales y los nervios ópticos [Lunn *et al.* 1997b].

El deterioro progresivo de la mielina en la rata *taiep* se demostró a través de estudios de potenciales evocados sensoriales y electroencefalográficos. En donde las latencias prolongadas y las amplitudes reducidas de los potenciales evocados auditivos, visuales y somatosensoriales se correlacionan con el proceso desmielinizante [Roncagliolo *et al.* 2000; Eguibar *et al.* 2008].

De igual manera se caracterizó esta rata mutante de mielina por medio de estudios electrofisiológicos. Se analizaron las respuestas de los reflejos monosinápticos en la preparación neonatal de la médula espinal que nos permiten analizar con detalle las respuestas mono y poli-sinápticas entre los aferentes del huso del umbral alto (fibras Ia) y los motoneuronas alfa [Fuenzalida *et al.* 2004]. Además, de los potenciales postsinápticos excitatorio (por sus siglas en inglés EPSPs: excitatory postsynaptic potentials) donde se demostró una transmisión

asincrónica registrada en las motoneuronas alfa y la estimulación aplicada por el estímulo bipolar intralaminar [Bonansco *et al.* 2004]. La transmisión asincrónica observada en la médula espinal podría ser un patrón común de alteración de la actividad sináptica en otras regiones del SNC, lo que se demostró entre la colateral de Schaffer y la región CA1 piramidal del hipocampo donde también se encontró este tipo de transmisión [Bonansco *et al.* 2002]. Con estos resultados sugieren un componente presináptico en esta alteración de la función sináptica, debido a que los niveles más altos de calcio extracelular indujeron un aumento de las corrientes sinápticas asincrónicas, lo que sugiere que la asincronicidad es una consecuencia de las alteraciones en los mecanismos presinápticos que regulan la liberación de glutamato [Bonansco *et al.* 2008]; así como también se ha demostrado que hay una sobreexpresión de receptores de glutamato en el hipocampo, como son los receptores metabotrópicos 1 y 5 (mGluR1/mGluR5) localizados de manera postsináptica, mientras que los receptores metabotrópicos de glutamato 2 y 3 (mGluR2/mGluR3) pertenecientes al grupo II y los receptores de tipo 4, 6, 7 y 8 (mGluR4/mGluR6/mGluR7/mGluR8) del grupo III se encuentran de manera presináptica [Bonansco *et al.* 2008]. Estas alteraciones producirían una excitotoxicidad, sugiriendo una desregulación entre axón-glia, conllevando a un incremento de la estimulación de astrocitos [Perea & Araque 2007], produciendo una astrogliosis reactiva, tal y como se lleva a cabo en la rata *taiep* [León-Chávez *et al.* 2002].

La desmielinización progresiva en la rata *taiep* además de las alteraciones electrofisiológicas, también cursa con alteraciones en el estrés nitrosativo e inmunológicas que contribuyen al daño en el SNC. Se ha demostrado que en las regiones de cerebelo y tallo cerebelar de la rata *taiep* existe un incremento de los niveles de nitritos [León-Chávez *et al.* 2006], los cuales están correlacionados con el aumento en la expresión de las diferentes isoformas de sintasas de óxido nítrico (NOS), como son la neuronal (nNOS), la endotelial (eNOS) y la inducible (iNOS), así como también el aumento en los niveles del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de estas enzimas [León-Chávez *et al.* 2003; 2006]. El aumento de la expresión de las diferentes sintasas de óxido nítrico fue dependiente de la región,

en donde se observa que la nNOS se expresa más en la capa granular y en los astrocitos perivasculares, la iNOS tiene una mayor expresión en la capa granular de las células de Purkinje, mientras que la eNOS es altamente expresada en los astrocitos y en la glía de Bergman [León-Chávez et al 2006]. La rata *taiep* presentan un incremento de la producción de NO, el cual ha sido asociado con el aumento de la lipoperoxidación y la apoptosis en el cerebelo y tallo cerebelar [Soto-Rodríguez et al. 2012], que son de las regiones más afectadas por la desmielinización [Duncan et al. 1992]. De acuerdo a lo mencionado anteriormente, el aumento de las isoformas de las sintasas de óxido nítrico expresadas en las células neuronales y gliales podría estar participando en la muerte de éste tipo celular. Por otra parte, los estudios histopatológicos han demostrado zonas de necrosis, mientras que los estudios inmunohistoquímicos contra Caspasa-3 revelan la presencia de células apoptóticas, mientras que el aumento en la expresión de GFAP evidencian astrocitosis reactiva en todas las regiones del SNC [Soto-Rodríguez et al. 2012].

Diversos estudios han demostrado que la astrocitosis reactiva durante el proceso de hipomielinización-desmielinización en la rata *taiep* es dependiente de la edad y de la región cerebral, debido al aumento en el tamaño y no en el número de estas células gliales [Krsulovic et al. 1999; León-Chávez et al. 2001]. Observándose un aumento en la expresión de GFAP en la rata *taiep* en comparación con ratas Sprague-Dawley normales, y la cual también aumento con respecto a la edad en las regiones del SNC evaluadas: cerebelo, tallo cerebelar, hipotálamo y corteza cerebral [León-Chávez et al. 2001; Foote & Blakemore et al. 2005], sin mostrar diferencias en la expresión de GFAP entre ambos sexos [Foote & Blakemore et al. 2005]. Por lo que, estos mecanismos de respuesta ante el daño neuronal se encontrarían impidiendo los procesos de remielinización. Además, la activación de astrocitos conlleva a un incremento del óxido nítrico, así como un incremento de la proteína y el ARNm de la sintasa de iNOS y de citocinas tal como el factor de necrosis tumoral alfa (por sus siglas en inglés TNF- $\alpha$ : tumor necrosis factor  $\alpha$ ), el cual también participa en la desmielinización (Leon-Chavez et al., 2003).

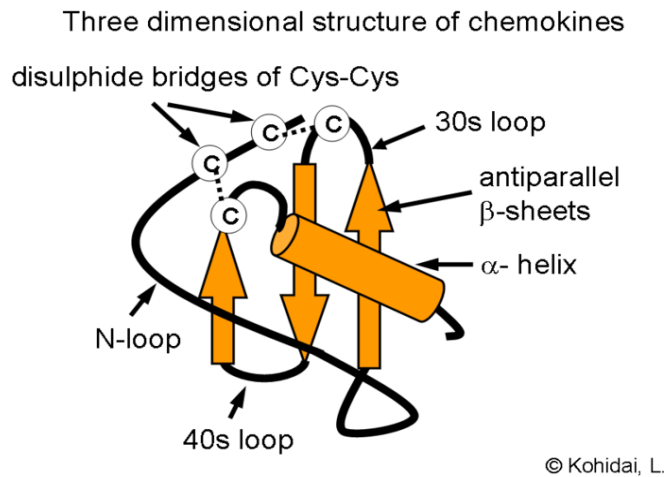
Además, existe una infiltración de células de la microglía y macrófagos a partir de los 6 meses de edad, y de la presencia de células CD4+ (linfocitos T cooperadores), CD5+ (linfocitos T totales y timocitos) y CD8+ (linfocitos T citotóxicos-supresores y células NK) [León-Chávez et al. 2006] indicando la participación de la respuesta inmunológica periférica a partir de esta edad. Es importante mencionar que en la mutante de mielina no ocurre una correcta activación de linfocitos y/o macrófagos, el cual cursa con un proceso neurodegenerativo [Leon-Chavez et al. 2006], donde pueden existir mecanismos tanto de daño como de sobrevivencia, las cuales pueden ser reguladas de manera directa por la participación de las quimiocinas y factores de crecimientos, que se asocian a los procesos inflamatorios y de sobrevivencia. En la rata *taiep* se ha demostrado que uno de los principales mecanismos moleculares que con lleva a la hipomielinización y a la desmielinización es el déficit de quimiocinas como son: CXCL1, CCR2, CCR5 y el receptor CXCR4 [Soto-Rodríguez et al., 2015] que participan en los procesos de migración, proliferación y diferenciación de los OPCs.

La rata *taiep* es una mutante de mielina con larga vida, proporciona un modelo útil para estudiar las consecuencias de la desmielinización parcial y los mecanismos por los cuales las células gliales regulan la organización molecular y la excitabilidad de las membranas axonales durante el desarrollo y la enfermedad [Roncagliolo et al. 2006]. Con todo lo que se ha descrito en modelos que representan enfermedades desmielinizante, se trata de proponer estrategias terapéuticas para disminuir el daño y mejorar la calidad de vida del individuo.

### **1.3. Quimiocinas**

Las quimiocinas son proteínas pertenecientes a la familia de las citocinas. Se llaman de este modo debido a la capacidad que tienen para inducir la quimiotaxis de células inmunológicas, son citocinas quimiotácticas [Luster 1998; Luther & Cystre 2001]. Las quimiocinas presentan una serie de características estructurales comunes, tales como su pequeño tamaño o la presencia de cuatro residuos de cisteína en regiones conservadas (Fig. 1), las cuales son clave para la

construcción de su estructura tridimensional, y se han clasificado de acuerdo con el número y el espaciamiento de los residuos conservados de cisteína en la posición N-terminal. Las quimiocinas son de bajo peso molecular (8-10 kDa), son aproximadamente un 20-50% idénticas entre sí, es decir, comparten homología de secuencia genética y de secuencia de aminoácidos [Murphy et al., 2000].



**Figura 1 Estructura de las quimiocinas.**

*Todas las quimiocinas comparten la estructura de llave griega que es estabilizada por puentes disulfuro entre los residuos de cisteína (tomado de kohidai L. 2005).*

### 1.3.1 Clasificación de las quimiocinas

Los miembros de la familia de las quimiocinas se dividen en cuatro grupos dependiendo de la distancia entre sus dos primeros residuos de cisteína; si tienen dos cisteínas adyacentes (Cis-Cis) cerca de su extremo N-terminal, se denominan quimiocinas CC o  $\beta$  quimiocinas; cuando las dos cisteínas están separadas por un aminoácido (cis-X-cis) se denominan quimiocinas CXC o  $\alpha$  quimiocinas [Fernandez et al., 2002], este grupo se subdivide en dos categorías: 1) aquellos con una secuencia específica de aminoácidos (o motivo) de ácido glutámico-leucina-arginina (ELR) inmediatamente antes de la primera cisteína del motivo CXC (ELR-positivo) y 2) los que no tienen un motivo ELR (ELR-negativo) [Bajetto et al. 2001]. El tercer grupo de quimiocinas es conocido como C quimiocinas o  $\gamma$  quimiocinas, y es distinto de todas las quimiocinas ya que solo presenta dos

cisteínas. Un cuarto grupo cuyos miembros presentan tres aminoácidos entre las dos cisteínas y son llamadas quimiocinas CX3C o  $\delta$  quimiocinas (Tabla. 3) [Fernandez et al., 2002; Bajetto et al. 2001].

### 1.3.2 Funciones

Las quimiocinas ejercen sus efectos biológicos a través de receptores de superficie celular que pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteína G de siete dominios transmembranales (GPCRs). La mayoría de las quimiocinas se unen a varios receptores de quimiocinas y la mayoría de los receptores de quimiocinas reconocen varias quimiocinas [Bacon y Harrison 2000]. La función de las quimiocinas a través de la unión a sus diversos receptores es la migración y comunicación de los leucocitos, y sea de manera fisiológica o patológica [Lezama A. 2006]. Las quimiocinas regulan el tráfico de células inmunológicas y la recirculación de leucocitos entre los vasos sanguíneos, la linfa, los órganos linfoides y los tejidos, siendo este un paso importante en la inflamación aguda y crónica, por lo que un problema en la regulación de la expresión de las quimiocinas se asocia con condiciones de inflamación crónica [Feng, 2000; Murdoch & Finn 2000].

Además de su papel en el sistema inmunológico, las quimiocinas y sus receptores pueden desempeñar un papel importante en los trastornos neurodegenerativos y neuroinflamatorios en el SNC, varias patologías se asocian comúnmente con la liberación de quimiocinas tales como la esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y la demencia asociada al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), [Streit et al. 2001 , Vila et al. 2001 , Lee et al. 2002 , McGeer y McGeer 2004 , Cartier et al. 2005].

**Table 3 Clasificación de quimiocinas según la nueva nomenclatura**

<b>Nombre</b>	<b>Gen</b>	<b>Otro Nombre (s)</b>	<b>Receptor</b>
<b>CC</b>			
CCL1	Scya1	I-309, TCA-3	CCR8
CCL2	Scya2	MCP-1	CCR2
CCL3	Scya3	MCP-1 $\alpha$	CCR1
CCL4	Scya4	MCP-1 $\beta$	CCR1, CCR5
CCL5	Scya5	RANTES	CCR5
CCL6	Scya6	C10, MRP-2	CCR1
CCL7	Scya7	MARC, MCP-3	CCR2
CCL8	Scya8	MCP-2	CCR1, CCR26, CCR5
CCL9/CCL10	Scya9	MRP-2, CCF18, MIP-1	CCR1
CCL11	Scya11	Eotaxina	CCR2, CCR3, CCR5
CCL12	Scya12	MCP-5	
CCL13	Scya13	MCP-4, NNC-1, CK $\beta$ 10	CCR2, CCR3, CCR5
CCL14	Scya14	HCC-1, MCIF, CK $\beta$ 1, NCC-2, CCL	CCR1
CCL15	Scya15	Leukotacstin-1, MIP-5, HCC-2, NCC3	CCR1, CCR3
CCL16	Scya16	LEC, NCC-4, LMC, CK $\beta$ 12	CCR1, , CCR2, CCR5
CCL17	Scya17	TARC, Dendrocina, ABCD-2	CCR4
CCL18	Scya18	PARC, DC-CK1, AMAC-1, CK $\beta$ 7, MIP-4	
CCL19	Scya19	ELC, Exodus-3, CK $\beta$ 11	CCR7
CCL20	Scya20	LARC, Exodus-1, CK $\beta$ 4	CCR6
CCL21	Scya21	SLC, 6CKine, Exodus-2, CK $\beta$ 9, TCA-4	CCR7
CCL22	Scya22	MDC, DC/ $\beta$ -CK	CCR4
CCL23	Scya23	MPIF-1, CK $\beta$ 8, MIP-3, MPIF-1	CCR1
CCL24	Scya24	Eotaxin-3, MIP-4a, IMAC, TSC-1	CCR3
CCL25	Scya25	TECK, CK $\beta$ 5	CCR9
CCL26	Scya26	Eotaxin-3, MIP-4a, IMAC, TSC-1	CCR3
CCL27	Scya27	CTACK, ILC, Eskine, PESKY, Skinkine	CCR10
CCL28	Scya28	MEC	CCR10
<b>CXC</b>			
CXCL1	Scyb1	Gro- $\alpha$ , GRO1, NAP-3, KC	CXCR2
CXCL2	Scyb2	Gro- $\beta$ , GRO2, MIP-2a	CXCR2
CXCL3	Scyb3	Gro- $\gamma$ , GRO3, MIP-2 $\beta$	CXCR2
CXCL4	Scyb4	PF-4	CXCR3B
CXCL5	Scyb5	ENA-78	CXCR2
CXCL6	Scyb6	GCP-2	CXCR1, CXCR2
CXCL7	Scyb7	NAP-2, CTAPIII, $\beta$ -Ta, PEP	
CXCL8	Scyb8	IL-8, NAP-1, MDNCF, GCP-1	CXCR1, CXCR2
CXCL9	Scyb9	MIG, CGR-10	CXCR3
CXCL10	Scyb10	IP-10, CGR-2	CXCR3
CXCL11	Scyb11	O-TAC, $\beta$ -R1, IP-9	CXCR3
CXCL12	Scyb12	SDF-1, PBSF	CXCR4
CXCL13	Scyb13	BCA-1, BLC	CXCR5
CXCL14	Scyb14	BRAK, Bolekine	
CXCL15	Scyb15	Lungkine, WECH	
CXCL16	Scyb16	SRPSOX	CXCR5
CXCL17	Scyb17	DMC, VCC-1	
<b>C</b>			
XCL1	Scyc1	Lymphotactin $\alpha$ , SCM-1 $\alpha$ , ATAC	XCR1
XCL2	Scyc2	Lymphotactin $\beta$ , SCM-1 $\beta$	
<b>CX3C</b>			
CX3CL1	Scyd1	Fractalkine, Neurotactin, ABCD-3	CXCR1

Tomado de Elías L. 2017

En el sistema nervioso central, las quimiocinas son producidas por las células endoteliales, astrocitos, microglía, oligodendrocitos y neuronas [Dorf et al., 2000; Van der Meer et al., 2000], tanto en condiciones fisiológicas como en condiciones patológicas, y además de intervenir como reguladores de los procesos inflamatorios, regulan la migración de células neuronales durante el desarrollo [Bolin et al., 1998; Lazirini et al., 2000], como ya se han demostrado en estudios *in vitro* que la regulación de la proliferación de astrocitos es mediada por CXCL12/SDF-1 [Bajetto et al., 2001a], CCL5/RANTES [Bakhiet et al., 2001], CCL2/MCP-1 y CCL3/MIP-1 $\alpha$  [Rezaie et al., 2002]; por otra parte en la migración, proliferación y diferenciación sobre los oligodendrocitos intervienen quimiocinas como CXCL12, IL-8, GRO- $\alpha$  y RANTES/CCL5; y de igual manera CXCL12, IL-8, RANTES son necesarias para el proceso de mielinización [Tsai H. et al., 2002; Kadi et al., 2006].

### 1.3.3 Vías de señalización

La unión de las quimiocinas (ligando) con su receptor, desencadena la activación de diversas vías de señalización que llevan a la transcripción de genes tales como: factores de crecimiento, en respuesta a diversos estímulos. Una de las principales vías de señalización que se activa es la de fosfolipasa C, la cual lleva a la generación de inositol trifosfato y una elevación transitoria en la concentración de Ca<sup>2+</sup> citosólico; esta activación también con lleva a la formación de diacilglicerol y una subsecuente activación de la proteína cinasa C [Bokoch, 1995; Premack & Schall, 1996]. Las quimiocinas activan múltiples vías intracelulares, donde también participan la vía de fosfoinositol 3 cinasa (PI-3k) y la subsecuente activación de Akt; la proteína cinasa activada por mitógeno (por sus siglas en inglés MAPK: mitogen-activated protein kinase); una de las principales vías activada por las quimiocinas es la de cinasa regulada por señal extracelular 1 y 2 (por sus siglas en inglés ERK1/2: Extracellular signal-regulated kinases); también se llevan a cabo activación de vías como la fosforilación de la cinasas asociadas al citoesqueleto, cinasas de adhesión focal y la proteína tirosin cinasa 2 [Bacon & Harrison 2000; Bajetto et al., 2001].

Algunos patrones moleculares asociados a eventos de daño o a patógenos inducen la transcripción de genes que codifican para citocinas y quimiocinas a través de la activación de la vía de NF- $\kappa$ B, las citocinas inducidas estimulan a su vez a las células cercanas para producir quimiocinas proinflamatorias, amplificando así la respuesta [Stamatovic et al., 2005; Evans et al., 2012] y todo esto conllevando también a la expresión de factores de crecimiento y reclutamiento de células madres que pueden favorecer el proceso neuroregenerativo [Fortin et al., 2005; Ransohoff, 2009]; es por esto que se desea conocer la participación que tienen las quimiocinas y factores de crecimiento, que se detallan a continuación, en las enfermedades desmielinizantes, y como pueden ser regulados por uno de los aminoácidos más abundantes del cerebro llamado taurina.

### **CXCL1 y su receptor CXCR2**

La quimiocina CXCL1, también conocida como GRO $\alpha$  o como proteína estimulante de la actividad de crecimiento del melanoma humano; de manera inicial se aisló de fibroblastos estimulados con factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), regula el crecimiento de los melanocitos y actúa como quimioatrayente para las células T y los neutrófilos [Robinson et al., 1998; Baggiolini, 1998]. Puede tener 3 isoformas de esta proteína dependiendo del sitio de corte en el proceso proteolítico que son: GRO $\alpha$  4-73, GRO $\alpha$  5-73 y GRO $\alpha$  6-73, estos genes contienen una región promotora que es de tipo inducible y contiene sitios de unión para promotores de la transcripción como NF- $\kappa$ B, STAT1 y CREBP $\beta$  [Amiri et al., 2006].

CXCL1 se une al receptor CXCR2, el cual activa vías de señalización que conllevan a cumplir funciones como regulación del crecimiento, viabilidad y motilidad celular, modula también la inflamación, la angiogénesis, la recuperación de las heridas y causa un incremento de calcio intracelular [Tsai H. et al., 2002. Vries et al. 2015. Devalaraja et al., 2000]. Además, regula el reclutamiento de granulocitos hacia el SNC [Roy et al. 2012], por lo que su expresión se correlaciona con la intensidad de la inflamación [Glabinski et al. 1998].

El receptor CXCR2, al cual tiene alta afinidad, se ha encontrado en las OPCs en el cerebro y la medula espinal [Robinson et al., 1998; Nguyen & Stangel, 2001; Linder et al. 2008], neuronas [Horuk et al. 1997], microglía y astrocitos [Lee et al., 2012], y a través de su activación también promueve la oligodendrogénesis en el SNC [Tsai H. et al., 2002; Wu et al., 2000], es decir promueve la proliferación, aunque por otra parte regula la migración de los progenitores de oligodendrocitos *in vitro* [Robinson et al., 1998] esto a través de la inhibición de PDGF [Tsai H. et al., 2002]. También se ha reportado que expresan durante la gestación, primordialmente entre la semana 19-22, tanto en los progenitores de oligodendrocitos y la microglía/macrófagos activados, sugiriendo su participación en los procesos de mielinización en el cerebro [Filipovic et al., 2003]. Además, CXCR2 disminuye la apoptosis en cultivos celulares de oligodendrocitos. En conjunto, esto indica que en el SNC, la interacción de CXCL1-CXCR2 posiblemente impide la apoptosis de los oligodendrocitos [Tirota et al., 2011] y controla el posicionamiento y la proliferación de las OPCs en la médula espinal y el cerebro desde el desarrollo a través de su acción reguladora sobre PDGF [Robinson et al., 1998].

CXCL1 y CXCR2 se ha implicado en las Enfermedades desmielinizantes como es Esclerosis múltiple (EM), la expresión de CXCL1 por astrocitos reactivos ha sido reportado en los bordes de la lesión, y mediciones de los niveles en suero en pacientes con EM mostrando la regulación positiva de CXCL8, lo que sugiere un papel del sistema inmune innato, y más específicamente CXCR2 en EM [Glabinski et al., 1998; Lund et al., 2004].

#### **CXCL12 y su receptor CCR4**

CXCL12 o Factor derivado de células estromales (SDF), la proteína tiene 3 isoforma: SDF-1 $\alpha$ , SDF-1 $\beta$ , and SDF-1 $\gamma$ , las cuales surgen por el splicing alternativo del ARNm [Gleichmann et al., 2000; Pillarisetti and Gupta, 2001; Stumm et al., 2002]. Además, de SDF-1delta, SDF-1epsilon y SDF-1phi en el humano [Yu et al., 2006,]. La isoforma SDF-1 $\beta$  se expresa selectivamente por las células endoteliales de los microvasos cerebrales y podría estar implicada en la

infiltración cerebral de leucocitos portadoras de CXCR4, mientras que las neuronas sintetizan ARNm de SDF-1 $\alpha$  [Stumm et al., 2002].

La expresión de CXCL12 y su receptor CXCR4 se ha demostrado en diferentes tipos de células del cerebro adulto incluyendo células endoteliales, glial, y neuronas [Ohtani et al., 1998; Bajetto et al., 1999a; Lazarini et al., 2000; Stumm et al., 2002; Heinisch y Kirby, 2010]. Estudios de hibridación *in situ* demostraron que la expresión neuronal de CXCR4 se encuentra en diferentes áreas del cerebro, principalmente en la corteza cerebral, globo pálido [Banisadr et al., 2002], núcleos hipotalámicos supraóptico y paraventricular [Banisadr et al., 2003], el hipotálamo lateral [Guyon et al., 2005a], núcleo del tálamo ventromedial y la sustancia *nigra* (SN) donde CXCR4 se expresa en las neuronas dopaminérgicas de la *pars compacta* [Banisadr et al., 2002], además, en las neuronas GABAérgicas de *pars reticulata* (Guyon et al., 2006), en el núcleo dorsal de Rafé (en neuronas serotoninérgicos y no serotoninérgicos) [Heinisch y Kirby, 2010] y en el cerebelo (donde se expresa tanto en las neuronas de Purkinje, células granulares y en las fibras radiales gliales) [Ragozzino, 2002].

En el sistema inmune, la unión de CXCL12-CXCR4 induce la señalización a través de varias vías divergentes que inician las señales relacionadas con la quimiotaxis, la supervivencia celular y/o proliferación, aumento en el calcio intracelular, y la transcripción de genes intracelular. CXCR4 se expresa en varios tipos de células incluyendo linfocitos, células madre hematopoyéticas, células endoteliales y epiteliales, y células cancerosas [Adler y Rogers, 2005].

En el SNC, CXCL12 es una quimiocina importante que juega un papel clave en la neurogénesis [Ma et al., 1998; Zou et al., 1998; Lu et al., 2002] que controla la orientación axonal y el crecimiento de neuritas [Xiang et al., 2002; Pujol et al., 2005]. CXCL12/CXCR4 han demostrado que regulan la migración y la orientación de los procesos en las neuronas dopaminérgicas [Yang et al., 2013]. CXCL12 también juega un papel importante en la neuroinflamación, como mediador local de la respuesta inmunológica, así como la atracción de leucocitos los cuales se

creo que migran a lo largo de un gradiente de concentración de quimiocinas a través de la barrera hematoencefálica a su destino [Engelhardt y Ransohoff, 2012].

La estimulación de CXCR4 por CXCL12 activa las proteínas G sensibles a la toxina *pertussis* (PTX) que activan al menos dos vías de señalización distintas. La primera vía, involucrando PI-3K y ERK 1/2, se ha descrito en los astrocitos, progenitores neuronales y neuronas corticales [Bacon y Harrison, 2000; Lazarini et al., 2000; Bajetto et al., 2001; Bonavia et al., 2003]. La otra vía consiste en la fosfolipasa C $\beta$  cuya activación conduce a un aumento en el calcio intracelular en astrocitos, neuronas corticales y células granulares del cerebelo, así como en las neuronas fetales y microglía [Bajetto et al., 1999b; Klein et al., 1999; Zheng et al., 1999]. El aumento en el calcio conduce a la activación de la tirosina cinasa rica en prolina (PYK2), que puede a su vez conducir a la activación de ERK1/2. La estimulación de CXCR4 puede modular directamente a los canales iónicos de la membrana plasmática en las neuronas, en particular de los canales de calcio de alto umbral [Guyon et al., 2008b], y esto podría también dar lugar a un aumento del calcio intracelular y la activación de PYK2 [Lazarini et al., 2003].

La activación de CXCR4 por CXCL12 aumenta la liberación presináptica de neurotransmisores de GABA, glutamato y dopamina en particular en poblaciones neuronales que se encuentran en la región CA1 del hipocampo, células de Purkinje y granulares del cerebelo [Guyon y Nahon, 2007; Bhattacharyya et al., 2008; Qu et al., 2008]. GABA a su vez puede bloquear los efectos de CXCL12, esto podría representar una retroalimentación negativa para la liberación de quimiocinas presináptica. La activación de CXCR4 en los astrocitos por la unión de CXCL12 es una larga cadena de eventos intracelulares y extracelulares incluyendo la liberación de citocinas proinflamatorias: TNF- $\alpha$  y prostaglandinas que conducen a la liberación de glutamato [Cali et al., 2008; Cali y Bezzi, 2010].

Con todo esto descrito, CXCL12 puede participar en los procesos neuroinflamatorios, por lo que una inflamación prolongada, produce mayores niveles de CXCL12 incluso podría dar lugar a neurotoxicidad y neurodegeneración

[Gerashchenko y Shiromani, 2004], por lo que su regulación es crucial en diversas enfermedades neurodegenerativas.

### **CXCL13 y su receptor CXCR5**

CXCL13 es una proteína quimioatrayente de linfocitos B, se identificó originalmente en células del estroma en los folículos linfoides [Ansel K.M. et al., 2000; Foster R. et al., 1996]. CXCL13 no se expresa en el SNC sano, pero es regulado positivamente en el cerebro y la médula espinal en condiciones patológicas, tales como desmielinización autoinmune y el linfoma primario del SNC [Bagaeva L.V et al., 2006; Smith J.R. et al., 2003]. CXCR5 es el receptor para CXCL13 y se expresa en todas las células B y un subconjunto de células T en sangre, tejido linfático, y el líquido cefalorraquídeo (LCR) [Kim C. et al., 2001; Krumbholz M. et al., 2006]. En diversos estudios han demostrado que los niveles de CXCL13 se correlacionan directamente con el número de células B en el tejido cerebral [Krumbholz M. et al., 2006], de hecho, el éxito del tratamiento de esclerosis múltiple se asocia con una disminución paralela de los niveles de CXCL13 y el recuento de células B [Sellebjerg F. et al., 2009; Ljostad U. et al., 2008; Fischer L. et al., 2009].

Esta quimiocina es expresada en forma patológica por células neuronales de médula espinal después de la ligación del nervio espinal, y es regulada negativamente por el miRNA: miR-186-5p; mientras que su receptor se encuentra mayormente en astrocitos y de forma parcial en neuronas espinales. La activación de receptores NMDA produce la regulación negativa de miR-186-5p, que conlleva al aumento en la expresión de CXCL13, el cual al activar el receptor CXCR5 produce la activación rápida de células gliales como astrocitos mediante la vía de señalización ERK, y la activación microglial de forma tardía [B. Chun-Jiang et al., 2016]. Con lo que se podría decir que CXCL13 es un regulador de las interacciones neurona-glía en un proceso neuroinflamatorio.

## **CCL2 y su receptor CCR2**

La quimiocina CCL2, también conocida como proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1), es una de las quimiocinas vitales que controlan la migración e infiltración de monocitos/macrófagos [Van Coillie et al., 1999]. CCL2 y su receptor CCR2 son inducidos en diversos trastornos neurodegenerativos incluyendo la enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, y lesión isquémica cerebral. Pueden ser producidas por una gran variedad de tipos celulares dentro de las que se encuentran: células endoteliales, epiteliales, fibroblastos, musculo liso, mesangial, monocítica, astrocitos y microgliales [Brown et al., 1992; Barna et al., 1994], ya sea constitutivamente o después de la inducción por el estrés oxidativo, citocinas o factores de crecimiento [Beall et al., 1996]. Se ha demostrado que CCL2 participa en el desarrollo del SNC [Geppert, 2003], sin embargo una sobreexpresión de CCL2 puede estar implicada en enfermedades, como EM [Sonrense et al., 2004], artritis reumatoide [Hayashida et al., 2001] y arterosclerosis [kusano et al., 2004].

CCL2 media sus efectos a través de su receptor CCR2, y a diferencia de CCL2, la expresión de CCR2 es relativamente restringida a ciertos tipos de células. Es importante señalar que CCR2 tiene un papel doble y tiene tanto acciones proinflamatorias y anti-inflamatorias. El papel proinflamatorio de CCR2 depende de células presentadoras de antígeno (APCs) y células T, mientras que el papel antiinflamatorio de CCR2 depende de la expresión de CCR2 en células T reguladoras. La sobreexpresión de CCL2 puede estar regulada por IL-1 $\beta$ , IL-6, BDNF y particularmente por TNF- $\alpha$  [Milligan et al., 2003; Twining et al., 2004; Jung et al., 2008].

## **CCL4 y su receptor CCR5**

CCL4 también llamada proteína inflamatoria de macrófagos (MIP-1 $\beta$ ), es un factor multifuncional secretado por los linfocitos T y monocitos en un complejo con MIP-1 $\alpha$ ; se expresa primordialmente en astrocitos reactivos en los cerebros de pacientes con Alzheimer, pero solo débilmente o no se expresa en cerebros normales [Xia M.Q. et al., 1998]. Es una quimiocina proinflamatoria que tanto promueve la acumulación de leucocitos en varias condiciones inflamatorias y

contribuye a la inmunidad protectora contra el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) [Cocchi F. et al., 1995]. En conjunto con otras quimiocinas como son: CCL3 (MIP-1 $\alpha$ ) y CCL5 (RANTES) inducen la migración de la microglía [Flynn G. et al., 2003]. CCL4 actúa a través de la unión con el receptor CCR5, la cual produce el aumento de la activación de la microglía y los astrocitos, por lo que se sugiere que CCL4/CCR5 esté también implicado en los procesos neuroinflamatorios. Los estudios de MIP-1 $\beta$  recombinante han demostrado que esta proteína de longitud completa induce la señalización de Ca<sup>2+</sup> intracelular, ejerce su actividad quimiotáctica, e inhibe la infección por VIH-1 a través de la interacción con el receptor de quimiocina CCR5 [Cocchi F. et al., 1995; Verani A et al. 1997].

### **Receptor CCR8**

CCR8 es el receptor para la quimiocina CCL1, pero también es capaz de interactuar a través del ligando CCL4. Se ha reportado que tanto CCL1 y CCR8 es altamente expresado en el SNC de ratones con encefalomiелitis autoinmune (EAE) y esta regulación es totalmente contingente sobre la expresión de TNF- $\alpha$  por la infiltración de leucocitos [Fischer F.R. et al., 2000; Godiska R. et al., 1995]. La microglía fue la fuente celular primordial de CCL1 en cerebros de ratones con EAE, lo que sugiere una señalización autócrina de estas células a través de CCR8. Los receptores CCR8 se encontraron expresados en macrófagos fagocíticos y en la microglía activada, la cual se encontró correlacionado directamente con procesos desmielinizantes activos en pacientes con esclerosis múltiple; la expresión en los macrófagos es transitoria, aumenta durante la fagocitosis activa de mielina en lesiones de EM [Corinna T. et al., 2003].

### **Receptor CCR1**

Es un miembro de la familia de los receptores de quimiocinas beta, que pertenece a los receptores acoplados a la proteína G. Los ligandos de este receptor incluyen CCL1, CCL3 (o MIP-1 alfa), CCL5 (RANTES o), CCL7 (o MCP-3), y CCL23 (o MPIF-1). Las quimiocinas y sus receptores, que median la transducción de señales son críticos para el reclutamiento de efectores de células

inmunitarias al sitio de la inflamación. Las quimiocinas CCL1, MIP-1 $\alpha$  y RANTES (reguladas en la activación de células T) han sido implicadas en la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple, sus efectos están mediados a través del receptor de quimiocinas CCR1, por lo tanto es por ello que es un objetivo terapéutico primordial. La activación del receptor CCR1 producida por MIP-1 $\alpha$  o RANTES provoca un aumento en la concentración de Ca<sup>2+</sup> libre citosólico [Neote K. et al., 1993].

#### **1.4. Factores de crecimiento**

Además de las quimiocinas que participan en los procesos inflamatorios y de reparación, también debe de haber la expresión de factores de crecimiento, cuya función es llevar a cabo una adecuada reparación celular:

##### **Factor de crecimiento de fibroblastos tipo 2 (FGF-2)**

En mamíferos hay 18 factores de crecimiento de fibroblastos (por sus siglas en inglés FGF: fibroblast growth factor) (FGF1-FGF10 y FGF16-FGF23), los cuales son agrupados en 6 subfamilias basados en la homología de sus secuencias y a sus diferencias filogenéticas [Itoh N. & Ornizt D. 2009]. FGFs son considerados como factores parácrinos y conocidos por su función en la organogénesis durante la embriogénesis [Fu L. et al., 2004], estas funciones las realiza a través de la activación de los receptores de FGF (FGFR) perteneciente a la familia de receptores de tirosina cinasa [Mohammadi & Olsen S. 2005]; hasta el momento se han determinado 4 diferentes receptores: FGFR-1 al FGFR-4, a los cuales pueden unirse diferencialmente la mayoría de esta familia de factores [Zechel et al. 2010].

FGF-2 es un potente factor angiogénico que puede estimular la hematopoyesis y tener un importante papel en el desarrollo y función del SNC, la cual determina la diferenciación de las células neuroprogenitoras, y es expresada principalmente por astrocitos, actuando sobre estas mismas células y sobre oligodendrocitos [Rottlaender et al., 2011].

FGF-2 junto con el factor de crecimiento epidermal estimula la proliferación de células neuroprogenitoras en cultivo [Temple S. & Quian X. 1995], y mediante su interacción con la neurotrófina 3 y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) promueve la proliferación y diferenciación en neurona y glía, principalmente en el hipocampo del cerebro adulto, en respuesta a un daño [Ray J. et al., 1993; Shinichi Y et al., 2001; Vicario & Schimmang]. Por lo que, la sobreexpresión de FGF-2 está relacionada con el aumento de la neurogénesis, facilitando la reparación y sobrevivencia neuronal al inhibir la apoptosis [Molteni et al., 2001].

FGF-2 regula la proliferación de los oligodendrocitos durante el desarrollo posnatal, inhibe la diferenciación terminal e induce la proliferación de los OPCs en la etapa adulta, regulando así también la remielinización [Mckinnon et al. 1990]. EL FGF2 regula otras respuestas de los OPCs como la migración y su diferenciación hacia oligodendrocitos mielinizantes, potenciando el mecanismo endógeno de la reparación de mielina [Clemente et al., 2001; Murtie et al., 2005]. Pero de manera contraria, niveles elevados de FGF-2 inducen una severa disrupción de los oligodendrocitos maduros y una marcada pérdida de mielina, ya que se ha observado que la administración de FGF-2 conlleva a una acumulación aberrante de oligodendrocitos inmaduros con un fenotipo premielinizante [Armstrong et al., 2006]. Las funciones que se han descrito de FGF-2 son a través de la unión del ligando con el FGFR-1, induciendo autofosforilación del receptor sobre diversos residuos de tirosina, que a su vez activa moléculas efectoras río abajo, dirigiendo a la activación de la cascada de MAPK [Schlessinger J. et al., 2004]. Esta cascada promueve la translocación de MAPK hacia el núcleo, donde ellos fosforilan y activan directamente proteínas específicas, incluyendo factores de transcripción.

### **Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF)**

El BDNF es el segundo miembro de la familia de factores neurotróficos, promueve la sobrevivencia de una subpoblación de neuronas ganglionares de la raíz dorsal [Barder et al., 1982]. El BDNF ejerce algunos de sus efectos biológicos mediante su unión y activación del receptor trkB [Barbacid, 1994]. La expresión de

BDNF puede alterarse a diversos estímulos tanto en estados fisiológicos como patológicos [Lindholm et al., 1994], teniendo efectos en la excitabilidad neuronal [Scharfman et al., 2003].

BDNF y su receptor tienen una amplia distribución en el SNC, pero es particularmente elevada en el hipocampo, donde las fibras axonales de las células granulares del giro dentado muestran inmunoreactividad a BDNF [Conner et al., 1997]. BDNF está asociado con vesículas de terminales sinápticas [Fawcett et al., 1997; Conner et al., 1997], que son el sitio principal para el almacenamiento del neuropéptido y se libera desde las terminales nerviosas, apoyando así la hipótesis del transporte anterógrado [Fawcett et al. 1997, 2000]. La evidencia indica que las neurotrofinas son liberadas de forma aguda después de la despolarización neuronal [Griesbeck et al., 1999; Mowla et al., 1999; Goggi et al., 2003].

Este factor neurotrófico tiene acciones en el desarrollo neuronal al tener efectos sobre la morfología dendrítica [Horch & Katz, 2002; Tolwani et al., 2002], y funciones de supervivencia y promotoras del crecimiento en neuronas, incluyendo las del hipocampo y las neuronas corticales [Huang & Reichardt, 2001]. También en los procesos desmielinizantes, la regeneración mejorada se asoció con aumentos en la expresión neuronal de BDNF y su receptor trkB [Al-Majed A. et al., 2000]

El BDNF ejerce efecto también sobre la transmisión sináptica, mostrando un aumento de la frecuencia de las EPSCs en cultivo de *Xenopus* [Lohof et al., 1993], además de que la exposición de BDNF a neuronas hipocámpales produjo una potenciación de larga duración de los impulsos aferentes a células piramidales del hipocampo [Kang & Schuman, 1995]. La potenciación sináptica inducida por BDNF puede producirse ya sea por una acción presináptica (mediante la mejora de la liberación de glutamato) o postsináptica (a través de la fosforilación de receptores a neurotransmisores) [Schinder & Poo, 2000]. Subsecuentemente, BDNF inhibe la transmisión sináptica inhibitoria (GABAérgica) [Tanakaer et al., 1997; Frerking et al., 1998; Wardel & Poo, 2003], tal vez en parte, a través de la modulación de la

fosforilación del receptor GABA<sub>A</sub> [Jovanovic et al., 2004] o por la modulación de los co-transportadores de Cl<sup>-</sup> y K<sup>+</sup> [Riviera et al., 2002].

BDNF aumenta el número de neuronas en el bulbo olfatorio, cuerpo estriado y el tálamo promoviendo la neurogénesis [Benraiss et al., 2001; Pencea et al., 2001], a través de la activación de vías de señalización como la MAPK y la PI3K [Barnabe-Heider & Miller, 2003].

Dado que BDNF parece estar implicado en la plasticidad sináptica y su papel en el aprendizaje y la memoria [Yamada & Nabeshima, 2003], debido a que incrementa la expresión de BDNF en el hipocampo durante el aprendizaje [Hall et al., 2000]; un déficit o Knockout de este factor o de su receptor disminuye la capacidad del aprendizaje espacial [Minichiello et al., 1999].

Debido a la diversidad de funciones que cumple el factor neurotrófico, una desregulación de este puede estar implicado en enfermedades neurológicas, como la Epilepsia. BDNF ha sido implicado en la cascada de cambios electrofisiológicos y de comportamiento que se basa el estado epiléptico. El ARNm de BDNF, así como la proteína es regulado positivamente en el hipocampo por la actividad epiléptica en modelos animales [Ernfors et al., 1991; Isackson et al., 1991; Lindvall et al., 1994; Nibuya et al., 1995]. Mientras que la infusión de agentes anti-BDNF en ratones [Binder et al., 1999b] o el uso de Knockout de BDNF [Kokaia et al., 1995] o la sobreexpresión de trkB truncados [Lähteinen et al., 2002] inhibe la epileptogénesis en modelos animales. Por el contrario, la aplicación directa de BDNF induce hiperexcitabilidad *in vitro* [Scharfman, 1997; Scharfman et al., 1999], la sobreexpresión de BDNF en ratones transgénicos conduce a ataques espontáneos [Croll et al., 1999] y la infusión intrahipocampal de BDNF es suficiente para producir la actividad epiléptica *in vivo* [Scharfman et al., 2002].

Por otra parte, en las enfermedades neurodegenerativas pueden deberse al aporte insuficiente de factores neurotróficos, como lo es una disminución de BDNF [Murer et al., 2001] en el hipocampo en especímenes con la enfermedad de

Alzheimer [Phillips et al., 1991; Ferrer et al., 1999], así como también existe una disminución en la sustancia *nigra* en la enfermedad de Parkinson [Howells et al., 2000]. Curiosamente, se ha reportado un incremento de BDNF en la enfermedad de Huntington, que conduce a la pérdida de la proteína de Huntington (Huntingtina), y por tanto a la pérdida del soporte trófico para las neuronas del cuerpo estriado [Zuccato et al., 2001]. Con todas estas evidencias, observamos la importancia que tiene BDNF en el desarrollo neuronal y la supervivencia celular; además, de ser esencial en los mecanismos moleculares de la plasticidad sináptica, donde una disrupción en sus niveles basales conlleva a estados patológicos.

### **Factor de crecimiento semejante insulina tipo 1 (IGF-1)**

IGF-1 es un factor neurotrófico que desempeña un papel decisivo en el desarrollo y maduración del SNC, como neuroprotector y neuroproliferativo [Russo et al., 2005]. Tiene efectos potentes sobre la plasticidad sináptica, la supervivencia neuronal y la diferenciación en el sistema nervioso [Rabinosvky, 2004; Benarroch, 2012]. La señalización de IGF-1 es asociada con la morfogénesis celular y con el complejo y largo de la arborización dendrítica neuronal [Jaworski J. et al., 2005; Niblock M. & Brunso-Bechtold, 2000], además de estimular el crecimiento de los axones de las neuronas [Ozdinler & Macklis, 2006], aunque no todas las neuronas muestran la misma sensibilidad a IGF-1 [Scolnick J. et al., 2008; Hollis et al., 2009], esta señalización implica la activación de la vía PI3K/Akt, debido a unión de IGF-1 con el receptor IGF-1 (IGF-1R), en las neuronas piramidales del hipocampo embrionario [Laurino L. et al., 2005; Pfenninger K.H. et al., 2003; Bernis M. et al., 2013]. Mientras que una activación de ERK/MEK por parte de IGF-1 se ha asociado a una síntesis local de proteínas y la regulación de genes de transcripción [Liu C. et al., 2012; Lonze B. et al., 2002], esto lleva a sugerir que el efecto específico dependerá del tipo celular en el que actúe.

En el cerebro adulto la expresión de IGF-1 es muy baja y solo en regiones muy específicas, por lo que se considera que la mayoría de IGF-1 a nivel cerebral tiene un origen periférico, ya que sus receptores son altamente expresados en las

células que forma la barrera hematoencefálica (BHE) [Carro & Torres-Aleman, 2006], así los niveles de IGF-1 en suero son muy altos [Adamis & Meagher, 2011] y están alterados en esclerosis lateral amiotrófica (ALS) y en esclerosis múltiple (EM).

IGF-1 también influye sobre el balance en la actividad cerebral de los principales sistemas de neurotransmisores, ya que inhibe la liberación de GABA, y aumenta la liberación de glutamato, así el rango de excitación en el hipocampo es bajo cuando el nivel sérico de IGF-1 es bajo, esto reduce la plasticidad sináptica en el hipocampo, lo que sugiere que los niveles séricos de IGF-1 modulan la transmisión glutamatérgica [Aleman & Torres-Aleman, 2009]; su papel es crucial en una amplia variedad de funciones a nivel del SNC.

Durante el desarrollo del SNC, IGF-1 se expresa primordialmente por las neuronas y en menor medida por las células gliales. Además, promueve la proliferación, sobrevivencia y desarrollo de los oligodendrocitos [Ye & D'Ercole 1999]. Se ha demostrado que se requiere de la señalización de IGF-1 para la formación de mielina a través de su receptor, IGF-1R [D'Ercole et al., 2002; Zeger et al., 2007], conllevando a la activación de la cascada de señalización PI3K/Akt, como se mencionó anteriormente, que también participa en la mielinización del SNC y la diferenciación de los OPCs [Flores et al., 2008; Tyler et al., 2009]; una sobreexpresión genera un incremento en el contenido de mielina (un 130% más), en el número de oligodendrocitos y de sus precursores, incrementando también el ARNm de la PBM y PLP de 2 a 3 veces más en cada oligodendrocito [Zechel et al., 2010]. Con todo esto podemos observar que IGF-1 es un factor importante y crucial durante el desarrollo, así como, en la respuesta ante una alteración del SNC.

### **1.5 Estrés oxidativo/nitrosativo**

Una de las causas por la que puede ocurrir la desregulación de quimiocinas y factores de crecimiento, es debido al aumento del estrés oxidativo/nitrosativo el cual produce activación de vías de señalización que con llevan a la expresión de

estas proteínas, que es característico de las enfermedades neurodegenerativas, es por ello la importancia del estudio de la producción de especies reactivas, así como de las enzimas encargadas de su producción.

### 1.5.1 Sintetasas de óxido nítrico

El óxido nítrico (de sus siglas en inglés NO: nitric oxide) es una molécula que regula diversas funciones como la neurotransmisión [O'Dell et al., 1991; Schuman & Madison 1991] y tono muscular [Förstermann et al., 1986], mediante la estimulación de guanilil ciclasa sensible a NO; regula la transcripción de genes [Khan B. et al., 1996; Gudi et al., 1999] y la traducción del ARNm, por la unión a elementos sensibles al hierro [Pontopulos et al., 1995; Liu et al., 2002]; y también puede producir modificaciones post-traduccionales de las proteínas, por ejemplo la ribosilación de ADP [Pozdnyakov et al., 1993; Brune B. et al., 1994]. Una manera importante de inactivar el NO es a través de su reacción con el anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) para formar peroxinitrito ( $ONOO^-$ ). Este compuesto puede causar daño oxidativo, nitración y S-nitrosilación de biomoléculas incluyendo proteínas, lípidos y ADN [Mikkelsen R. et al., 2003; Lee et al., 2003].

El NO puede ser generado por tres diferentes isoformas de la enzima sintasa NO; las que se conocen como: sintasa de óxido nítrico neuronal (de sus siglas en inglés nNOS: neuronal nitric oxide synthase o NOS1), inducible (de sus siglas en inglés iNOS: inducible nitric oxide synthase o NOS2) y la endotelial (de sus siglas en inglés eNOS: endotelial nitric oxide synthase o NOS3). Todas las isoformas de NOS utilizan L-arginina como sustrato, el oxígeno molecular y fosfato dinucleótido adenin nicotinamida reducido (NADPH) como co-sustratos; Dinucleótido de flavina-adenina (FAD), mononucleótido de flavina (FMN) y 5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina ( $BH_4$ ) son cofactores para las 3 isoformas de NOS. Las NOS actúan por la transferencia de electrones desde NADPH, a través de las flavinas: FAD y FMN en el dominio reductasa en el carboxil-terminal, al grupo hemo en el dominio oxigenasa del amino-terminal. El dominio oxigenasa también se une al cofactor  $BH_4$ , al oxígeno molecular y al sustrato L-arginina. En el sitio hemo, los electrones se utilizan para reducir y activar  $O_2$  y para oxidar L-arginina a

L-citrulina y NO, de igual forma las 3 isoformas se unen a calmodulina [Crane et al., 1998; Alderton et al., 2001].

En la nNOS y eNOS, la unión a calmodulina es causada por un aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, mientras que en iNOS la unión a calmodulina es a bajas concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, debido a una estructura de aminoácidos diferentes al sitio de unión de calmodulina [Cho H. et al., 1992; Hemmens & Mayer 1998].

El NO formado por NOS puede actuar sobre una serie de enzimas diana y proteínas. La vía de señalización fisiológica más importante estimulada por NO es la activación de la guanilil ciclasa soluble y la generación de GMP cíclico. [Förstermann et al., 1986; Furchgott et al., 1984; Garthwaite J., 1991].

### **Sintasa de óxido nítrico neuronal (nNOS)**

La nNOS se expresa constitutivamente en neuronas, astrocitos y microglia [Zhou & Zhu, 2009]. La actividad enzimática se regula por  $\text{Ca}^{2+}$  y calmodulina. La localización subcelular diferencial de nNOS podría contribuir a sus diversas funciones. Además de tejido cerebral, nNOS se ha identificado por inmunohistoquímica en la médula espinal, en los ganglios simpáticos y de las glándulas suprarrenales, así como en el músculo liso vascular [Förstermann et al., 1994]. En los mamíferos, la mayor fuente de nNOS en términos de masa de tejido es el músculo esquelético [Förstermann et al., 1994; Nakane M. et al., 1993].

Se ha demostrado la importancia de nNOS en una variedad de eventos de señalización sináptica, ya que ha sido implicado en la modulación de las funciones fisiológicas tales como el aprendizaje, la memoria y la neurogénesis [Zhou & Zhu, 2009]. En el SNC, se encarga de la regulación a largo plazo de la transmisión sináptica, también llamada potenciación a largo plazo (de sus siglas en inglés LTP: long-term potentiation) [O'Dell et al., 1991; Izumi Y. et al., 1992; 1993]; hay evidencia que los inhibidores de NOS afectan el aprendizaje y producen amnesia en modelos animales [Holscher & Rose, 1992; Bohme et al., 1993]. El NO formado en el SNC por nNOS también está implicado en la regulación central de la presión

arterial [Togashi H. et al., 1992; Elkarib et al., 1993], ya que un bloqueo de la actividad de nNOS en el bulbo raquídeo y el hipotálamo provoca una hipertensión sistémica [Toda N. et al., 2009]. El óxido nítrico producido por nNOS en los nervios nitroxiérgicos puede ser visto como un neurotransmisor inusual que estimula la adenilato ciclasa sensible a NO en sus células efectoras, disminuyendo así el tono de los vasos sanguíneos [Förstermann U., 2000], con lo que podríamos decir que nNOS juega un papel importante en la regulación del tono vascular, independiente de los efectos que tiene en el SNC.

La señalización incrementada de NO puede contribuir a una variedad de patologías neurodegenerativas tales como la excitotoxicidad observada después del accidente cerebrovascular, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer y enfermedades de Parkinson [Steinert et al., 2010]. Una hiperactividad de NO, estimulada por el flujo masivo de  $\text{Ca}^{2+}$  dentro de las células neuronales, ha sido implicado en la muerte neuronal mediada por receptores NMDA en la enfermedad cerebrovascular [Lipton et al., 1993]. Los altos niveles de NO también pueden producir agotamiento de la energía, debido a la inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial y por consiguiente la inhibición de la glicólisis [Brown G., 2010].

### **Sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS)**

La expresión de iNOS puede ser inducida por lipopolisacáridos bacterianos, citocinas y otros agentes. Aunque fue identificado principalmente en los macrófagos. Una vez expresada, la iNOS se encuentra activa constantemente y no es regulada por las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular [Förstermann U. et al., 1994; Förstermann U., 2000].

Cuando se induce en los macrófagos produce grandes cantidades de NO, que representan un principio citotóxico principal de estas células [Nathan & Hibbs, 1991]. Debido a su afinidad con el hierro unido a proteínas, NO puede inhibir enzimas claves que contienen hierro en sus centros catalíticos; estos incluyen enzimas dependientes de hierro-azufre (complejos I y II) involucrados en el transporte de electrones mitocondrial, la ribonucleótido-reductasa, que es la enzima limitante de la velocidad en la replicación de ADN, y la *cis*-aconitasa, una

enzima clave en el ciclo del ácido cítrico [Nathan & Hibbs, 1991]. Las células no inmunes también pueden ser inducidas por citocinas para liberar cantidades de NO capaces de afectar células vecinas. *In vivo*, las células y el daño tisular puede estar relacionado con su propio radical de NO o en una interacción de NO con  $O_2^{\cdot-}$  conduce a la formación de  $ONOO^-$ . La gran mayoría de las lesiones inflamatorias y autoinmunes se caracterizan por una abundancia de macrófagos y neutrófilos activados, por lo tanto cantidades significativas de NO pueden ser secretadas por las células, produciendo apoptosis en el tejido circundante [Fhsel K. et al., 1993; Kröncke et al., 1991].

### **Sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS)**

La eNOS se expresa principalmente en las células endoteliales. Sin embargo, esta isoenzima también se ha detectado en los miocitos cardíacos, plaquetas, ciertas neuronas del cerebro y células epiteliales tubulares del riñón [Förstermann U. et al., 1994; Förstermann U., 2000]. Al igual que en nNOS, calmodulina es activado por incremento de  $Ca^{2+}$ . La eNOS sintetiza NO de manera pulsátil, con el aumento de la actividad de eNOS se produce con un aumento de  $Ca^{2+}$  intracelular.  $Ca^{2+}$  induce la unión de calmodulina a la enzima [Hemmens & Mayer 1998]. Sin embargo, la eNOS también puede ser activada por estímulos que no producen aumento de  $Ca^{2+}$  intracelular, pero aun así inducen una liberación de larga duración de NO. Esta activación esta mediada por la fosforilación de la enzima [Fulton et al., 1999; Fleming & Busse, 2003]. La proteína eNOS es fosforilado en varias serina (Ser), treonina (Thr), y residuos de tirosina (Tyr). La fosforilación de Ser1177 estimula el flujo de los electrones dentro del dominio reductasa de eNOS con lo que se aumenta su sensibilidad al  $Ca^{2+}$ , y representa un mecanismo adicional e independiente de la activación de la eNOS [Fleming & Busse, 2003; McCabe et al., 2000]. Los estrógenos y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) inducen la fosforilación de eNOS principalmente a través de Akt cinasa Ser/Thr, la insulina probablemente activa tanto Akt y la proteína activada por AMP cinasa (AMPK), la fosforilación inducida por bradicinina de Ser1177 está mediada por proteína cinasa II dependiente de

Ca<sup>2+</sup>/calmodulina (CaMKII), y la tensión de cizallamiento provoca la fosforilación principalmente mediante la activación de la proteína cinasa A (PKA). Esto se ha demostrado a través de knockout de Akt1 en ratones [Schleicher et al., 2009].

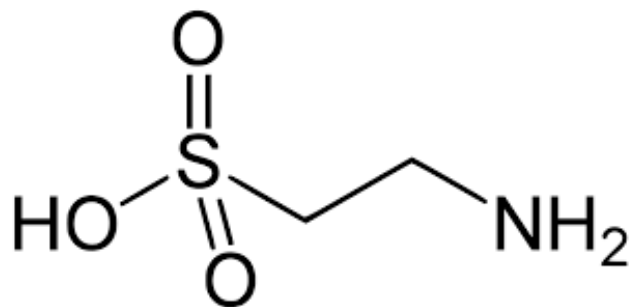
eNOS es un regulador homeostático de numerosas funciones cardiovasculares esenciales, El NO derivado de la actividad enzimática de eNOS dilata los vasos sanguíneos mediante la estimulación de la guanilil ciclasa soluble y el consecuente aumento de GMP cíclico en las células musculares lisas [Ignarro et al., 1986; Förstermann et al., 1986]. Esta isoenzima también regula la expresión de genes implicados en la aterogénesis. El óxido nítrico disminuye la expresión de la proteína quimiotáctica; MCP-1 (CCL2), también puede inhibir la adhesión de leucocitos a la pared del vaso, ya sea por interferir con la capacidad de la molécula de adhesión de leucocitos CD11/CD18, para unir a la superficie de células endoteliales o mediante la supresión de la expresión de CD11/CD18 en leucocitos [Amdt H. et al., 1993; Kubes et al., 1991]. Además, controla la proliferación del músculo liso vascular [Garg & Hassid, 1989], estimula la angiogénesis por el NO derivado de esta tipo de sintasa [Dimmeler & Zeither, 1999], así como también produce la activación de las células progenitoras endoteliales [Aicher et al., 2003]. Es por esto que una alteración en la expresión de eNOS puede ser un factor de riesgo en patologías cardiovasculares, tales como la hipertensión, la hipercolesterolemia, la diabetes mellitus; que también se asocian en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) [Mueller et al., 2005].

En contraste, tenemos a la taurina uno de los aminoácidos más abundantes en el cerebro que se encuentra regulando procesos como el estrés oxidativo/nitrosativo, así como los procesos inflamatorios que están presentes en diversas patologías..

## 1.6 Taurina

Taurina o ácido 2-aminoetanolsulfónico (Fig. 3), es un ácido sulfónico, el cual deriva de la cisteína. Esta extensamente distribuido en tejidos animales y uno de los aminoácidos más abundantes en el cerebro de mamíferos [Hussy et al., 2000]. La síntesis de taurina es realizada por medio de la enzima cisteína ácido

sulfúrico descarboxilasa (CASD), en el cerebro fue primero identificada y purificada [Wu, 1982] y localizada en el hipocampo [Taber et al. 1986], cerebelo [Chan-Palay et al., 1982b] y la retina [Chan-Palay et al., 1982b; Chan-Palay et al., 1982a; Wu et al., 1985]. Es distribuido en diversos tejidos a través de los transportadores de taurina, los cuales se expresan en uno de los tejidos incluyendo la barrera hematoencefálica [Tamai et al., 1995]. Además, la taurina cumple la mayoría de los criterios como un neurotransmisor, debido a que la molécula es liberada desde las neuronas de manera dependiente de calcio y puede unirse a receptores postsinápticos específicos [Lin et al. 1985a; Wu and Prentice, 2010].



*Figura 2. Estructura de taurina.*

*Similar a la de un aminoácido pero en lugar de tener un grupo carboxilo presenta un grupo sulfuro.*

### **1.6.1 Funciones de la taurina**

La taurina juega diversas funciones cruciales incluyendo modulación de la señalización de calcio, osmoregulación y estabilización membranal, así como neuroprotección [Hussy et al. 2000; Timbrell et al. 1995; Tanabe et al. 2010]. Sin embargo, los mecanismos de acción de la taurina no han sido clarificados.

#### **Neuroprotector**

La taurina podría ser de gran interés por su alto potencial neuroprotector, ya que previene la excitotoxicidad causada por glutamato, el cual es el mayor neurotransmisor excitatorio en el SNC. Parte de este efecto lo realiza por la prevención de entrada de calcio en las neuronas a través de su acción sobre

canales de calcio de tipo L, P/Q y N, y sobre los canales de calcio de tipo NMDA [Wu et al. 2005]. El mecanismo por el cual taurina podría modular los canales de calcio dependientes de voltaje puede involucrar la unión a receptores GABA/glicinérgicos, produciendo hiperpolarización. Taurina actúa como un agonista de receptores de GABA y glicina, incrementando la duración de la conductancia del canal de cloro [Wu and Prentice 2010]. Además de la unión a estos receptores, se ha reportado que hay receptores específicos de taurina [Wu et al. 1992]. En estudios previos han reportado que la taurina regula receptores de glutamato permeables a  $Ca^{2+}$  y a los canales de  $Ca^{2+}$  dependientes de voltaje de manera dosis-dependiente.. A través de CaMKII y de la activación de las vías intracelulares dependiente de PKA [Bulley & Shen 2010]. La taurina es también importante para la regulación del estrés osmótico, una respuesta celular que se reduce a través de la acción de la taurina sobre el bloqueo de intercambiadores de sodio/calcio, canales K (ATP), canales de calcio dependientes de voltaje y canales de sodio de acción rápida [Takatani et al. 2004a]. Además de su acción sobre vías glutamatérgicas y GABAérgicas, la taurina tiene la capacidad de incrementar la liberación de dopamina en los núcleos accumbens, por un mecanismo similar a la vía de etanol [Ericson et al. 2013].

### **Antioxidante**

Por otro lado, ha sido demostrado que taurina es un regulador de los niveles de la producción de superóxido y de la fosforilación oxidativa ya que una deficiencia de taurina resulta en estrés oxidativo en la mitocondria, a través de la discapacidad de la cadena respiratoria. Además, de preservar la función mitocondrial y prevenir la muerte celular apoptótica mitocondrial [Sun et al. 2011], también es capaz de reducir el estrés del retículo endoplásmico (RE) en un gran número de sistemas neuronales, incluyendo cultivo de células PC12, cultivo neuronal primario y en la línea celular de neuroblastoma humano. La taurina ejerce su efecto neuroprotector en parte por la restauración de la integridad de la estructura y función del RE; el tratamiento con taurina bajo condiciones de estrés oxidativo, excitotoxicidad o estrés hipóxico, resulta en una disminución en los niveles de expresión de proteínas apoptóticas producidas por estrés del RE,

Bax/Bcl2. [Pan et al. 2011; Pan et al. 2010]. Hay tres vías de señalización para el estrés del RE, identificado por: proteína cinasa activada por componentes de ARN de doble cadena (PKR) como son cinasas del retículo endoplásmico (PERK), factor de transcripción activado 6 (ATF6) e IRE-1, de los cuales se ha demostrado que taurina disminuye la expresión de ATF6 y de IRE-1, sin tener efecto sobre la vía de PERK, esto en cultivo neuronal primario [Pan et al. 2011]. Además de aumentar la acción antioxidante celular; al incrementar la actividad de la superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa [Taranukhin et al. 2010], así la taurina contribuiría a prevenir el estrés celular.

### **Anti-inflamatorio**

Taurina también está involucrada en la regulación de los procesos inflamatorios [Janusz M. & Ewa K. 2012]. Esta acción puede ser regulada mediante la formación de biomoléculas compuestas que son estructuralmente similares a la taurina llamadas haloaminas de taurina, como es la cloramida-taurina (TauCl), la cual se forma por la condensación de ácido hipocloroso (HOCl) con la taurina, y la bromoamina de taurina (TauBr) que se forma a partir de ácido hipobromoso (HOBr) que son producidos por los macrófagos [Gaut et al. 2001]; La formación de TauCl es la que atenúa los efectos tóxicos de HOCl/OCl y es capaz de inhibir la vía de señalización NF- $\kappa$ B, disminuyendo la expresión de citocinas y quimiocinas que participan el proceso inflamatorio [Barua et al. 2001]. La activación de mediadores inflamatorios mediado por estrés nitrosativo, es un importante factor de desórdenes relacionados con la inflamación. Especies reactivas de oxígeno (por sus siglas en inglés ROS: reactive oxygen species) y nitrógeno (por sus siglas en inglés RNS: reactive nitric species) son capaces de causar daño a varios constituyentes celulares, tales como ácidos nucleicos, proteínas y lípidos. Conllevando a la formación de 8-hidroxildesoxiguanosina (8-OHdG) y 8 nitroguanina, dos productos marcadores de la inflamación, así como factores potencialmente mutagénicos [Yermilov et al. 1995; Ma et al. 2004].. Las especies reactivas que producen el estrés celular, que dirigen al daño y a la muerte celular, son regulados por un sistema de defensa intracelular dirigidos por enzimas antioxidantes tales como catalasa, superóxido dismutasa (SOD) [Silva et

al. 2011] y glutatión peróxidasa (GPX) [Sen et al. 1997], se ha demostrado que taurina mejora la efectividad de este sistema antioxidante aumentando la expresión de GPX y catalasa [Jang et al. 2009; Kim et al. 2010a], además de disminuir la producción del NO, a través de la disminución de la expresión de iNOS, por la inhibición de la vía de señalización NF-kB mediada por TauCl en células del músculo esquelético [Barua et al. 2001; Sugiura et al. 2013]. Además, puede inhibir otros mediadores inflamatorios como:  $O_2^-$ , TNF- $\alpha$ , interleucinas, prostaglandinas y enzimas proteolíticas incluyendo metaloproteínas (MMP)-1 y 13 [Park et al. 1995; Kim et al. 1996; Marcinkiewicz et al. 1995, 1999; Kim and Kim 2005; Kim et al. 2007, 2010b]. La otra Haloamina de taurina, la TauBr ejerce efectos similares a la TauCl como antiinflamatorio y propiedades antimicrobianas, teniendo un efecto microbicida mayor [Gaut et al. 2001; Marcinkiewicz et al. 2006].

En un modelo de compresión de la médula espinal, en cual ocurre un daño produciendo la migración de neutrófilos hacia el sitio lesionado, la taurina inhibe la expresión de la citocina proinflamatoria IL-6 y disminuye la fosforilación de STAT3 así como la expresión de COX2 [Nakajima et al. 2010]. Además de disminuir mediadores del proceso inflamatorio como lo es NF-kB, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , iNOS y la molécula de adhesión intracelular-1 [Sun et al. 2012].

### **Antiapoptótico**

La taurina regula negativamente diversas moléculas que desencadenan apoptosis, puede ejercer este efecto a través de moléculas intermedias que se dan en la síntesis de taurina a partir de cisteína como son hipotaurina y thiotaurina, las cuales pueden regular la respuesta leucocitaria e inhibe a la caspasa-3, con lo que disminuye la apoptosis en neutrófilos, esto mediante la liberación de grupos sulfuros ( $H_2S$ ) [Capuozzo et al. 2013]. La taurina disminuye los niveles de Bax en relación a Bcl2 en cultivos de células neuronales expuestos a glutamato [Leon et al. 2009]. Esto puede deberse a que la taurina disminuye el calcio libre intracelular a través de la inhibición de diferentes tipos de canales de calcio [León et al. 2009] y también por el incremento de niveles de calcio en la mitocondria [Taranukhin et al. 2010]. También hay evidencias de que taurina actúa sobre componentes apoptóticos; disminuyendo la expresión de caspasa-3 y calpains, atenúa la

expresión de caspasa-8 y caspasa-9 [Taranukhin et al. 2008; Leon et al. 2009], ayudando así a la disminución del estrés mitocondrial y por lo tanto a la disminución de la liberación del citocromo c, previniendo la activación de la vía de las caspasas [Takatani et al. 2004b].

La taurina en modelos de isquemia cerebral puede proteger de manera dosis dependiente, a través de mecanismos que incluye la regulación positiva de calpastatina y una regulación negativa de calpaina y caspasa-3 [Sun et al. 2009],

### **1.6.2 Mecanismo de liberación de taurina**

Taurina tiene las mismas propiedades ya sea liberada tanto de forma endógena como exógena [Saransaari and Oja 1998, 2000a], la liberación basal de taurina es significativamente mayor en ratones adultos, actuando como agonista del desarrollo, sin embargo, la despolarización de la membrana a través de la estimulación de K<sup>+</sup> y en condiciones de daño celular aumenta la liberación de la taurina [Kontro and Oja 1987; Saransaari and Oja 1998]. Taurina es liberada en las interneuronas e inhibe a las principales neuronas piramidales del hipocampo, miembros del circuito excitatorio glutamatérgico [Taber et al. 1986]. La liberación de taurina es potenciada por la activación de los receptores de neurotransmisores, como es el receptor GABA<sub>A</sub>, mientras que los antagonistas de los receptores GABA<sub>B</sub> y GABA<sub>C</sub> disminuyen su liberación [Saransaari and Oja 2000a], otro de los receptores que participa en la potenciación de la liberación de taurina son los receptores de adenosina A<sub>1</sub>, por lo tanto los agonistas de estos receptores aumentan la liberación de taurina durante el desarrollo de ratones y en ratones adultos depresivos [Saransaari and Oja 2000b]. Uno de los mecanismos principales por lo que se produce una mejora en la liberación de taurina es a través de la activación de los tres receptores de glutamato ionotrópicos tanto en el desarrollo como en la etapa adulta de ratones. Siendo mayor el aumento de la liberación de taurina en la activación de los NMDA, comparado con los AMPA/kainato, en la región del hipocampo y corteza cerebral [Magnusson et al. 1991; Saransaari & Oja 1991]. También se ha descrito la participación de los receptores de glutamato metabotrópicos en la liberación de taurina [Saransaari

and Oja 1999a]. La activación de los receptores NMDA, permiten la entrada masiva de  $\text{Ca}^{2+}$  a las células, lo que activa a las Sintetas de NO dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$  [Bredt et al. 1992] produciendo un aumento en los niveles de NO, que a su vez estimula la actividad enzimática de la guanilato ciclasa soluble e incrementa la producción de GMPc [Schuman and Madison 1994], lo que aumentan la liberación de taurina en el hipocampo de ratón [Saransaari and Oja 2002].

### 1.6.3 Vías de señalización mediadas por taurina

Además de actuar como un neurotransmisor, la taurina es capaz de modificar la expresión de moléculas de señalización que intervienen en diversos procesos tanto fisiológicos como patológicos. En estudios realizados por Atsushi & Toyoda, describe que una administración de taurina en altas concentraciones (45 mmol/kg) a largo plazo (durante 4 semanas), produce un incremento en la fosforilación de ERK1/2, Akt (Thr-308), GSK3 $\beta$  (Ser-9), CREB (Ser-133) y CaMKII (Thr-286) en el hipocampo. Estos cambios dependieron de la concentración y del tiempo de administración. La Serotonina (5-HT) y el BDNF activan CREB que es una molécula activada rio abajo por MAPK, los cuales juegan papeles importantes en desórdenes neuropsiquiátricos como la depresión [Tsankova et al. 2006]. Así pues el BDNF activa tanto ERK1/2 como a CREB, ambas moléculas son reguladas positivamente por los antidepresivos, un efecto similar se observa con la administración crónica de taurina. [Galarreta et al. 1996].

### 1.6.4 Taurina en el desarrollo neuronal

La taurina además de actuar sobre receptores ionotrópicos, también es capaz de activar receptores metabotrópicos que regulan una amplia gama de mecanismos a través de segundo mensajeros intracelulares y vías sensibles a proteína G, aunque no existe evidencia molecular directa de una vía metabotrópica sensible a taurina [Wu et al. 2005]. Los efectos metabotrópicos de taurina tienen un papel dual, mejorando la actividad de canales de K tardíos y dependientes de voltaje, mientras que suprime la actividad de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje en las neuronas de la retina [Matthew J. et al. 2013].

Los niveles adecuados de taurina en la etapa neonatal o embrionaria son indispensables, en donde su concentración excede a la de los otros aminoácidos [Saransaari & Oja 2008], ya que lleva a cabo la maduración del sistema nervioso, particularmente actúa como regulador central del sistema nervioso central debido a que la taurina activa la vía corticoestriatal, comportándose como un ligando de los receptores de glicina [Chepkova et al. 2002]. Durante el desarrollo del sistema nervioso, GABA es excitatorio, y taurina podría tener un rol crítico como un regulador de la excitabilidad neuronal, a través de la modulación de calcio y de este modo compensar la pérdida de la inhibición neuronal mediada por el receptor [El Idrissi and Trenkner 2004]. En contraste, la suplementación crónica de taurina en el agua de beber incrementa la excitabilidad cerebral en ratones, el cual ocurre principalmente a través de la alteración en el sistema GABAérgico inhibitorio [L'Amorreux et al. 2010]. Esta administración induce una regulación negativa de la expresión de receptores GABA<sub>A</sub>, debido a una interacción sostenida entre taurina y receptores GABA<sub>A</sub>, donde taurina reduce la expresión de la subunidad β del receptor en la región del hipocampo [El Idrissi 2006]. También taurina puede aumentar la expresión de las dos isoformas de GAD (65 y 67 kDa) y a la somatostatina, así como en el número de neuronas positivas a somatostatina, y produce un incremento en la amplitud y duración de las espigas de la población desde la CA1 en respuesta a la estimulación de la colateral de Schaefer. Estas alteraciones específicas del sistema inhibitorio causado por el tratamiento de taurina se oponen a los efectos producidos por el envejecimiento, sugiriendo un rol protector en estos procesos, así como en la memoria y el aprendizaje. Aunque en múltiples estudios se ha demostrado que la suplementación de taurina en la etapa perinatal y que continua a lo largo del desarrollo postnatal, puede retrasar el aprendizaje posterior en la vida de animales sanos, debido a las interrupciones en los periodos críticos y sensibles del desarrollo neurológico [Franconi et al. 2004. Suge et al. 2007]. también puede producir otras disfunciones cardiovasculares, como hipertensión y diabetes mellitus [Aerts & Van Assche 2002]. Un exceso o una deficiencia de taurina en la etapa neonatal puede producir alteraciones en el

sistema nervioso central y en la función renal en animales adultos [Sawita et al. 2013].

Por otra parte, la taurina reduce la frecuencia y la amplitud de las corrientes postsinápticas excitatorias (EPSCs), de las células ganglionares retinales, reflejando la liberación vesicular espontánea de glutamato desde las neuronas presinápticas [Zheng et al., 2013], taurina suprime los eventos de liberación de glutamato presináptica, por su acción agonista que tiene taurina sobre receptores que son permeables a  $Cl^-$ , como son  $GABA_A$ , hiperpolarizando la membrana postsináptica y además reduce la excitabilidad [Frosini et al. 2003, El Idrissi and Trenkner 2004] y posiblemente exista un receptor específico de taurina o actúe sobre un receptor metabotrópico, el cual también esté regulando este mecanismo [Zheng et al., 2013].

Además de tener un efecto anti-excitatorio en edades adultas, taurina también puede estar regulando la conducta motora, a través de su efecto agonista sobre los receptores  $GABA_A$  [Quinn and Miller 1992]. La coordinación motora es controlada por interacciones entre el área motora de la corteza parietal prefrontal, ganglios basales y cerebelo [Rustay et al. 2003]. Los ganglios basales están involucrados en la ejecución automática de las tareas motoras aprendidas y en la preparación del movimiento [Afifi 2003]. Cuando las señales corticales son recibidas y procesadas por los sistemas de los ganglios basales, la supresión de los programas motores que compiten, se produce cuando el neurotransmisor GABA inhibe los núcleos talámicos, ya que éstos proporcionan el enlace entre los ganglios basales y la corteza motora; motora suplementaria, premotora, prefrontal y con la corteza límbica [Afifi 2003]. Por otro lado, cerebelo influye en los movimientos, principalmente por la modificación de los patrones de actividad de las motoneuronas superiores situadas en la corteza cerebral. La principal función del cerebelo es detectar la diferencia o error motor entre un movimiento intentado y el movimiento actual, y a través de su influencia sobre las motoneuronas superiores reduce el error de la ejecución [Purves et al. 2008]. Además, el cerebelo es el fundamental centro de procesamiento requerido para el aprendizaje

de movimientos compuestos. El circuito cerebelar está muy conectado en la integración sináptica derivada de la inhibición mediada por GABA. Por lo que, la taurina podría regular la conducta motora a través de su unión con receptores GABAérgicos, si ocurren cambios en el sistema GABAérgico, la administración de taurina puede ser un posible mecanismo compensatorio.

### 1.6.5 Taurina en enfermedades neurodegenerativas

En enfermedades como lo es la epilepsia, se encuentra un desbalance en el contenido de aminoácidos, que se caracteriza por concentraciones bajas de glutamato y taurina, y altos niveles de glicina [Guilarte 1989]. Efectos secundarios inducidos por antipsicóticos como catalepsia, como resultado de cambios complejos en una variedad de funciones de neurotransmisores estriatales incluyendo glutamato y dopamina [Agovic et al. 2008]. la catalepsia es inducida por haloperidol debido al aumento de la transmisión glutamatérgica mediada por NMDA, inhibición de la transmisión de dopamina mediada por D2, y sin cambios en la transmisión mediada por receptores de dopamina D1 en los ganglios basales, siguiendo un tratamiento crónico de haloperidol [Agovic et al., 2008]. La degeneración de neuronas dopaminérgicas causa una disminución en los niveles de dopamina endógena y de la actividad de tirosin hidroxilasa, además de incrementar la densidad de los receptores D2 en el ganglio basal, conllevando a la catalepsia. Diversos estudios reportan que la administración de taurina puede revertir los síntomas epilépticos [Junyent et al. 2011; Junyent et al. 2010, Lidsky et al. 1995]; la elevación del calcio en las neuronas está fuertemente ligado a la actividad convulsiva, la taurina al regular estas concentraciones de calcio intracelular, disminuirá la actividad epiléptica. Además, que taurina inhibe la actividad CaMKII en el hipocampo, el cual podría estar también relacionado con su efecto neuroprotector [Junyent et al. 2010], por la inhibición principalmente de las vías glutamatérgicas, disminuyendo la excitotoxicidad inducida por glutamato a través de la activación del receptor GABA<sub>A</sub> o receptores de glicina sensibles a esticnina y por su efecto antagonista de los receptores NMDA [Yarbrough et al. 1981; Okamoto et al. 1983a, b. Lidsky and Banerjee 1995].

Basado en todos los antecedentes, la taurina por su habilidad para prevenir apoptosis y de actuar como antioxidante es un agente terapéutico prometedor para diversos desórdenes neurológicos, incluyendo enfermedades desmielinizantes como: Esclerosis múltiple, Enfermedad de Huntington; Enfermedad de Alzheimer así como para enfermedades cerebrovasculares. Es por ello que proponemos evaluar si la administración crónica de taurina en la rata *taiep* tiene efecto terapéutico ante la desmielinización progresiva.

## JUSTIFICACIÓN

La rata *taiep* presenta déficit en el proceso de mielinización y remielinización en el sistema nervioso central que aumenta a medida que avanza la edad, al igual que se producen episodios de inmovilidad y catalepsia hasta llegar a una parálisis. Además, el estrés nitrosativo se ve involucrado en el proceso desmielinizante en un microambiente inflamatorio crónico. En este trabajo se evaluó el efecto terapéutico que tiene la administración de taurina sobre la patología *taiep*. En estudios previos se ha mostrado que la taurina tiene un efecto antioxidante ante el estrés nitrosativo, teniendo un efecto citoprotector. Por otro lado se ha observado que la administración de taurina en ratas diabéticas disminuye la lipoperoxidación generada por la glicocilación de proteína (Agca et al., 2014). La administración crónica de taurina disminuye la degeneración inducida por el envejecimiento, mejorando la condición cognitiva ya que: 1) incrementa la síntesis de neurotransmisores GABA y disminuye la biodisponibilidad de glutamato, 2) incrementa la expresión de las isoformas 65 y 67 de GAD y la somatostatina, 3) en el hipocampo disminuye la expresión de la subunidad  $\beta 3$  del receptor GABA, 4) incrementa el número de espigas registradas del CA1 en respuesta del estímulo de la colateral de Schaefer, 5) incrementa la facilitación de pulsos pareados en el hipocampo; además también se ha demostrado que 6) tiene un efecto anti-cataléptico debido a sus propiedades agonistas de los receptores dopaminérgicos de tipo 2 (DRD2) e inhibidor de receptores de glutamato (NMDA) [Lidsky et al. 1995].

En base a todos estos antecedentes se puede establecer que la administración crónica de taurina podría actuar como un agente antioxidante que disminuya el estrés nitrosativo y la degeneración en la rata *taiep*, proporcionando una estrategia para disminuir el deterioro en la rata *taiep*.

## HIPÓTESIS

La taurina tiene efecto neuroprotector en la rata *taiep*, disminuyendo el estrés nitrosativo, la frecuencia y duración de los episodios inmovilidad y regulando la expresión de quimiocinas.

## OBJETIVOS

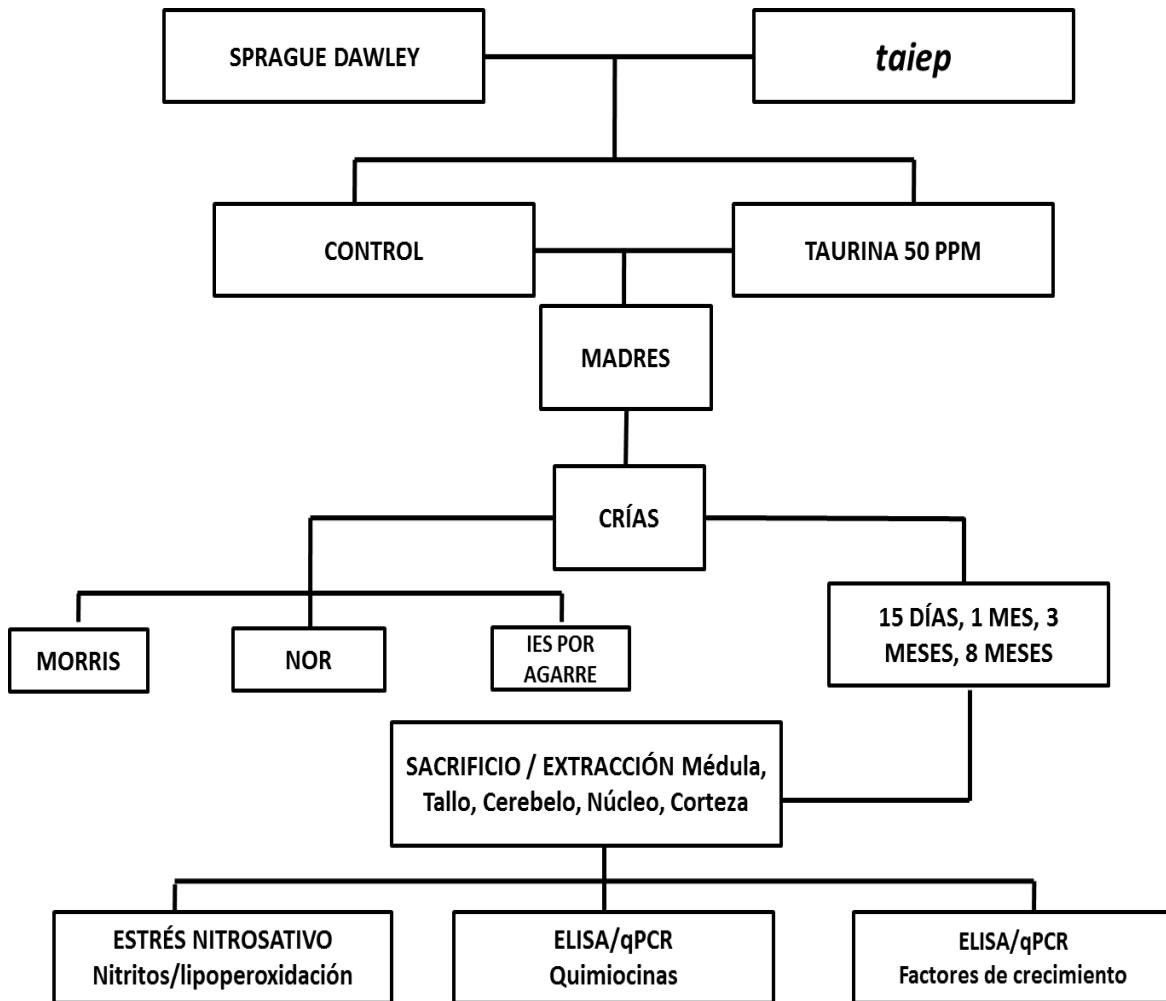
### 4.1 Objetivo General

- Evaluar el efecto de la administración de taurina sobre aspectos cognitivos, el estrés nitrosativo y la expresión de quimiocinas ratas *taiep*.

### 4.2 Objetivos específicos

- Evaluar sí la administración crónica de taurina tiene efecto sobre el aprendizaje-memoria de referencia espacial en ratas *taiep* de mes y medio de edad
- Evaluar sí la administración crónica de taurina tiene efecto sobre la memoria de referencia no espacial en ratas *taiep* de dos meses de edad
- Evaluar sí la administración crónica de taurina disminuye la frecuencia de los episodios de inmovilidad inducido por sujeción en las ratas *taiep* de 6 a 8 meses de edad
- Evaluar sí la administración crónica de taurina disminuye el estrés nitrosativo de ratas *taiep* a los 15 días, 1, 3, y 8 meses de edad
- Evaluar sí la administración crónica de taurina modifica la expresión de quimiocinas en ratas *taiep* a los 15 días, 1, y 8 meses de edad

## DIAGRAMA DE TRABAJO



## **METODOLOGÍA**

### **6.1 Animales**

Se utilizaron ratas *taiep* obtenidas del bioterio del Instituto de Fisiología, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) como grupo problema y como grupo control se emplearon ratas de la cepa Sprague-Dawley provenientes del bioterio CINVESTAV-IPN. Los animales se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura ( $23 \pm 1$  °C) y humedad ( $45 \pm 2\%$ ), ciclos de luz-oscuridad de 12 h. Alimento y agua se proporcionan ad libitum. Los animales se sacrificaron evitando el sufrimiento, se realizó la extracción de cerebros, efectuando una disección de las regiones cerebrales: corteza, cerebelo, núcleos, tallo y médula espinal.

### **6.2 Administración de taurina**

La administración de taurina vía oral se inició a las 2 semanas de gestación, administrada en el agua en una concentración de 50 µg/L. administrándola de manera diaria en el agua de tomar y posteriormente a las crías de la misma manera.

### **6.3 Reconocimiento de objetos Novedosos (NOR)**

Las funciones cognitivas se evaluaron a través del reconocimiento de objetos novedosos (NOR) en las crías, se realizó en una caja de madera con medidas de 60x60x60, donde se introdujo los objetos y a los animales midiendo la diferencia del tiempo de exploración (el período durante el cual el animal toca el objeto con las patas delanteras a una distancia menor o igual a 1 cm) de un objeto nuevo contra uno conocido. La prueba de NOR consta de 3 etapas: Día 1.- habituación: se coloca el animal en la caja sin ningún objeto y se deja transcurrir un tiempo variable (15 minutos) para que se familiarice con el entorno. Día 2.- Familiarización: A las 24 horas se realiza el entrenamiento, para lo cual se

colocan dos objetos idénticos (objetos A) en distinta posición y se deja el animal en el interior de la caja durante 15 minutos, en los que se contabiliza el tiempo de exploración (T) y 3 horas después la memoria a corto plazo: se deja un objeto A (que llamaremos objeto familiar) y se coloca en la otra posición un objeto nuevo (objeto B) anotando el tiempo de exploración de los objetos familiar y nuevo. Día 3.- Memoria a largo plazo: Transcurridas 24 horas desde el entrenamiento, se mide la memoria a largo plazo, para lo cual se cambia el objeto B por un objeto nuevo (C) y se sigue el mismo procedimiento [Ennaceur A. et. al., 1997].

#### **6.4 Laberinto acuático de Morris**

El laberinto acuático de Morris consta de una tina circular (piscina de nado) de un diámetro de 150 cm y una altura de 80 cm, la plataforma de escape mide 10 cm de diámetro por 40 cm de alto. La tina se llena con agua (19-22°C), formando como referencia la plataforma, un centímetro arriba de esta, el agua se opaca con dióxido de titanio, para asegurar que las ratas no vean la plataforma de escape. La piscina de nado se encuentra dividida en 4 cuadrantes Norte (N), Sur (S), Este (E), Oeste (O), mientras que en las paredes internas se colocan dos dibujos, los cuales sirven de orientación y ubicación de la plataforma. Se realizaron 4 ensayos por día, uno en cada cuadrante, las ratas tuvieron 60 segundos (s) para encontrar la plataforma (tiempo de latencia), una vez que la encontraron y se ubicaron en ella, se les dejó sobre la plataforma y se esperó 30 segundos para iniciar el ensayo en el siguiente cuadrante, siguiendo el orden de N, O, S, E, durante 5 días consecutivos. Siete días después del último ensayo de aprendizaje se evaluó la memoria, para esto se realiza un solo ensayo durante 60 segundos desde el cuadrante más lejano a la posición de la plataforma, contabilizando el número de veces que la rata pasa por el sitio donde se encontraba la plataforma de escape, así como el segundo en el que lo realiza.

#### **6.5 Episodios de inmovilidad (EIs) inducidos por agarre**

Las pruebas se realizan en jaulas de acrílico (22 x 26 x 15 cm). Los EIs son causados por sujeción de la base de la cola (1-2 cm desde la cola) de la rata

durante 10 segundos cada 5 minutos, la cual es la manera más potente para generar inmovilidades. Cuando no se produce la inmovilidad, el animal se pone en la caja de observación de nuevo. Sí se produce un IE, la duración y la latencia de la inmovilidad se registra. Esto se realizó por 120 minutos cada 5 minutos. [Cortés et al. 2005].

## **6.6 Determinaciones bioquímicas**

### **6.6.1 Cuantificación de proteínas totales**

Las proteínas totales fueron cuantificadas por el método de Sedmak y Grossberg (1977). Las regiones cerebrales de todos los grupos estudiados se homogeneizaron mecánicamente en solución buffer salina de fosfatos (PBS) pH 7.2 y se centrifugaron a 12500 rpm durante 30 min a 4° C. Del homogenizado se tomó 1  $\mu$ L y se le adiciono 500  $\mu$ L del reactivo azul de Coomasie al 0.06% y se completó a 1 mL con agua destilada. El producto de reacción se lee a 620 nm en un espectrofotómetro (Bio-Rad SmartSpect 3000). La concentración de proteínas se determina interpolando la densidad óptica de las muestras en una curva estándar de albúmina bovina (1 a 10  $\mu$ g), la cual es determinada en paralelo con cada ensayo.

### **6.6.2 Cuantificación de malonildialdehído (MDA)**

La peroxidación lipídica es un mecanismo de daño celular que se presenta cuando existe estrés oxidativo. Algunos de los compuestos que se generan como productos de este proceso son el malonildialdehído (MDA) y los 4-hidroxi-alquenes (4-HDA). Se cuantifico estos componentes en los sobrenadantes de los homogeneizados de las muestras por el método de Esterbauer y Zollner (1989). La reacción se realizó con 200  $\mu$ L del sobrenadante añadiendo después 650  $\mu$ L de solución 1 (1-metil-2-naftil-indol a 10.3 mM en una mezcla de acetonitrilo:metanol 3:1) y 150  $\mu$ L de ácido metanosulfónico. La mezcla de reacción se agita fuertemente, se incuba a 45° C durante 1 h y después se centrifuga a 3000 rpm por 10 min. La absorbancia del sobrenadante se lee a 586 nm en un espectrofotómetro (smartspectr 3000, BioRad). Los valores de absorbancia se compararon con los de una curva estándar preparada con MDA (1,1,3,3-

tetrametoxipropano 10 mM; a concentraciones entre 0.5 a 5 mM) para calcular el contenido de malonildialdehído y 4-hidroxiálquenos en las muestras.

### **6.6.3 Determinación de nitritos**

La producción de óxido nítrico fue estimada a través del contenido del ion nitrito en los sobrenadantes de las muestras utilizando el método de Griess. El reactivo de Griess se compone de volúmenes iguales de dihidrocloruro de n-1-naftilendiamino al 0.1% disuelto en agua destilada y sulfamina al 1.32% disuelta en ácido acético al 60%. La reacción colorimétrica de nitritos se inicio con la adición de 100  $\mu$ L del reactivo de Griess a 100  $\mu$ L del sobrenadante de las muestras, la reacción se ajusto a 1 mL con agua destilada. El producto de reacción se leyó en un espectrofotómetro (Biorad SmartSpect 3000) a 540 nm. La concentración de nitrito se determina extrapolando la densidad óptica de las muestras en una curva estándar de  $\text{NaNO}_2$  (0.5 a 10  $\mu$ M).

### **6.6.4 Ensayo inmunoenzimático (ELISA)**

5  $\mu$ g de proteínas totales del homogenado de las diferentes muestras se completó a un volumen final de 100  $\mu$ L con buffer de carbonato para sensibilizar las placas de ELISA, y se colocó en cada pozo de la placa durante 24 horas a 4°C. Posteriormente, los pozos se lavan con PBS-Tween 0.1%, los sitios inespecíficos se bloquean con albúmina de suero bovino al 0.5% durante 20 min. Al término del tiempo se lavó con PBS-Tween 0.1%, y se adiciono el primer anticuerpo (dilución 1:500) para las quimiocinas durante dos horas a temperatura ambiente; los cuales son producidos en conejo contra rata. Se lavó y se le adiciono el segundo anticuerpo de cabra anti-IgG policlonal de conejo (dilución 1:10000; Pierce Technology Co.; Holmdel, NJ, USA), ambos anticuerpos secundarios conjugados con peroxidasa de rábano (2 h) (1:10000, Pierce Technology Co. Holmdel, NJ, USA), se lava con PBS-Tween y se le adiciona el sustrato ABTS (15 minutos) (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbencil-tiazolina-6-sulfónico). Se lee la placa en un lector de ELISA (Bio-Rad Benchmark) a 415 nm [Soto-Rodriguez et al., 2015].

### 6.6.5 Extracción de RNA total

Se extrajo el RNA total de 100 mg de tejido de cada una de las regiones cerebrales, correspondientes al grupo control o problema, utilizando TRizol (1000  $\mu$ L por cada 100 mg de tejido) [Chomzynski y Sacchi., 1987]. Las muestras fueron incubadas por 5 min a temperatura ambiente, se agrega 200  $\mu$ L de cloroformo por cada 1 mL de TRizol, se agitó vigorosamente 15 segundos y se incubo por 5 minutos a temperatura ambiente, se centrifuga a 12,500 rpm por 15 min a 4°C y se separó la fase acuosa, se agrega 0.5 mL de isopropanol por cada mL de TRizol y se mezcla por inversión, se incubo por 10 min a temperatura ambiente, se centrifugo a 12,000 r.p.m. por 10 min a 4°C y se desechó el sobrenadante, se agrega 1 mL de etanol al 75% por cada mL de TRizol, se lavo la pastilla con un sólo golpe de vórtex, se centrifuga a 7,500 rpm por 5 min a 4°C, se decantó y se dejo secar, luego se suspenden las pastillas de RNA con agua grado biología molecular (GBM) y se colocan inmediatamente en hielo. El RNA se cuantifico por espectrofotometría y se determinó su pureza utilizando las relaciones 260 nm/280 nm en un nanodrop corroborando su integridad por electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio.

### 6.6.6 Retrotranscripción

El cDNA se obtuvo a partir de 5  $\mu$ g de RNA total empleando el Kit de la transcriptasa reversa Súper Script III First-Strand Synthesis SuperMix (Invitrogen, 100 Unidades), añadiendo por reacción 1  $\mu$ L de Buffer de DNAsa y 1  $\mu$ L de enzima DNAsa, incubar 15 minutos a temperatura ambiente; posteriormente 1  $\mu$ L de EDTA y se incubo por 15 minutos a 65° C, se agregó 1  $\mu$ L de Oligo (dT)<sub>20</sub> y 1  $\mu$ L de buffer de alineamiento e incubar por 15 minutos a 65° C, se añadió posteriormente 12  $\mu$ L de mezcla de hibridación (Mix de reacción: 10  $\mu$ L SSIII: 2  $\mu$ L) y se incubo por 50 minutos a 50° C para finalmente agregar 1  $\mu$ L de RNAsa H e incubar a 37°C por 20 minutos, obteniendo así el cDNA.

### 6.6.7 PCR en tiempo real

Para evaluar la amplificación de cada gen se utilizaron sondas de hidrólisis (Taqman) de donde los fluoróforos son liberados por la actividad exonucleasa 5`-3` de la DNA polimerasa. Las sondas que se utilizaron para evaluar la

transcripción de los genes que fueron elegidas en la página de Thermo Fisher Scientific, las cuales están prediseñadas y aprobadas bajo cualquier condición (Tabla 4).

Las qPCR se realizaron en un volumen final de 5  $\mu$ L, integrados con 2.5  $\mu$ L de 2X TaqMan Universal Master Mix, 0.25  $\mu$ L de Sonda y 2.25  $\mu$ L de cDNA. Las condiciones para la PCR fuerón: 10 minutos para la desnaturalización a 95°C, seguido por 45 ciclos de amplificación de 15 segundos a 95°C y 1 minuto a 60°C.

**Tabla 4 Lista de sondas taqman que se utilizaron en la PCR tiempo real**

Gen	Nombre del gen	Assay
<b>CCL2</b>	Chemokine (C-C motif) ligand 2 o MCP1	Rn00580555_m1
<b>CCR2</b>	Chemokine (C-C motif) receptor 2	Rn01637698_s1
<b>CCL4</b>	Chemokine (C-C motif) ligand 4 o MIP-1 $\beta$	Rn00671924_m1
<b>CCR8</b>	Chemokine (C-C motif) receptor 8	Rn02067284_s1
<b>CXCL12</b>	Chemokine (C-X-C motif) ligand 12 o SDF1	Rn00573260_m1
<b>CXCR4</b>	Chemokine (C-X-C motif) receptor 4	Rn00573522_s1
<b>CXCL13</b>	Chemokine (C-X-C motif) ligand 13	Rn01450028_m1
<b>CXCR5</b>	Chemokine (C-X-C motif) receptor 5	Rn02132880_s1
<b>nNOS</b>	Nitric oxide synthase 1 neuronal o NOS1	Rn00583793_m1
<b>iNOS</b>	Nitric oxide synthase 2, inducible o NOS2	Rn00561646_m1
<b>eNOS</b>	Nitric oxide synthase 3, endothelial o NOS3	Rn02132634_s1
<b>IGF-1</b>	Insulin-like growth factor 1	Rn00710306_m1
<b>BDNF</b>	Brain derived neurotrophic factor	Rn02531967_s1
<b>VEGF</b>	Vascular endotelial growth factor	Rn01511602_m1
<b>GDNF</b>	Glial line-derived neurotrophic factor	Rn01399572_m1
<b>NFG</b>	Nerve growth factor	Rn01533872_m_1
<b>GPx4</b>	Glutathione peroxidase 4	Rn00577994_g1
<b>SOD1</b>	Superoxide dismutase 1	Rn006566938_m1
<b>SOD3</b>	Superoxide dismutase 3	Rn00563570_m1
<b>NF-kB</b>	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells	Rn01399572_m1
<b>B-Actina</b>	Actin, beta	Rn00667869_m1

Tomado de <https://www.thermofisher.com/order/taqman-files>

## 6.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

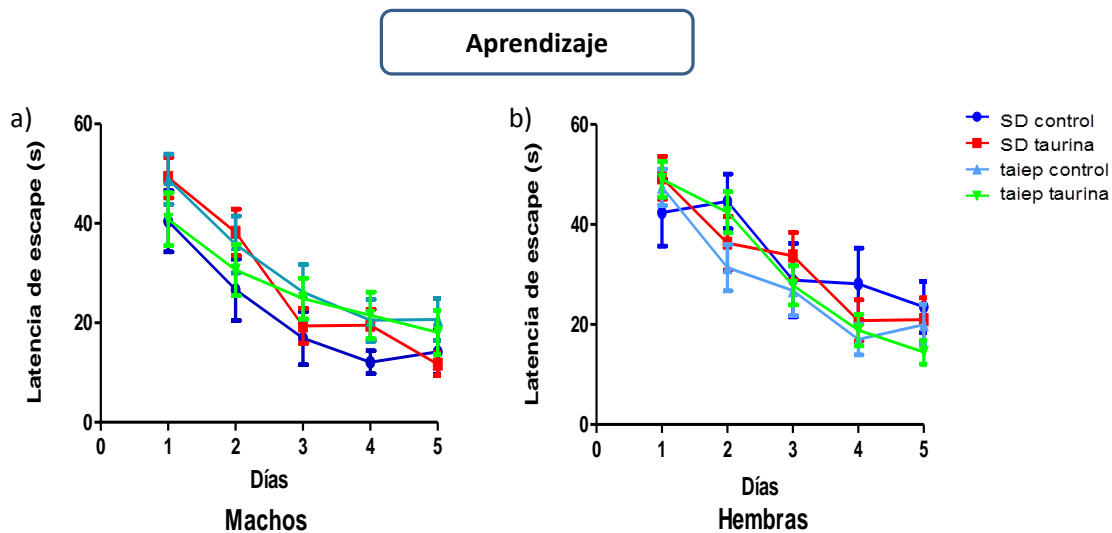
Los valores fueron analizados por medio de estadística paramétrica; ANOVA con prueba Dunnet para comparar los diferentes tiempos contra el grupo control SD y t de Student para comparar entre dos grupos experimentales en un tiempo determinado, estableciendo el valor significativo a  $P < 0.05$ . Los valores corresponderán al promedio  $\pm$  SEM obtenidos de al menos 3 experimentos independientes analizados por triplicado.

Para qPCR se analizó la diferencia entre los grupos con respecto al control sin tratamiento en cada uno de los ensayos. Las diferencias entre grupos se determinaron con test t de Student no apareado. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, EE.UU.). Valores  $P < 0.05$  se consideraron significativos. Análisis de los datos qPCR se realizó como índice de cambio ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ).

## RESULTADOS

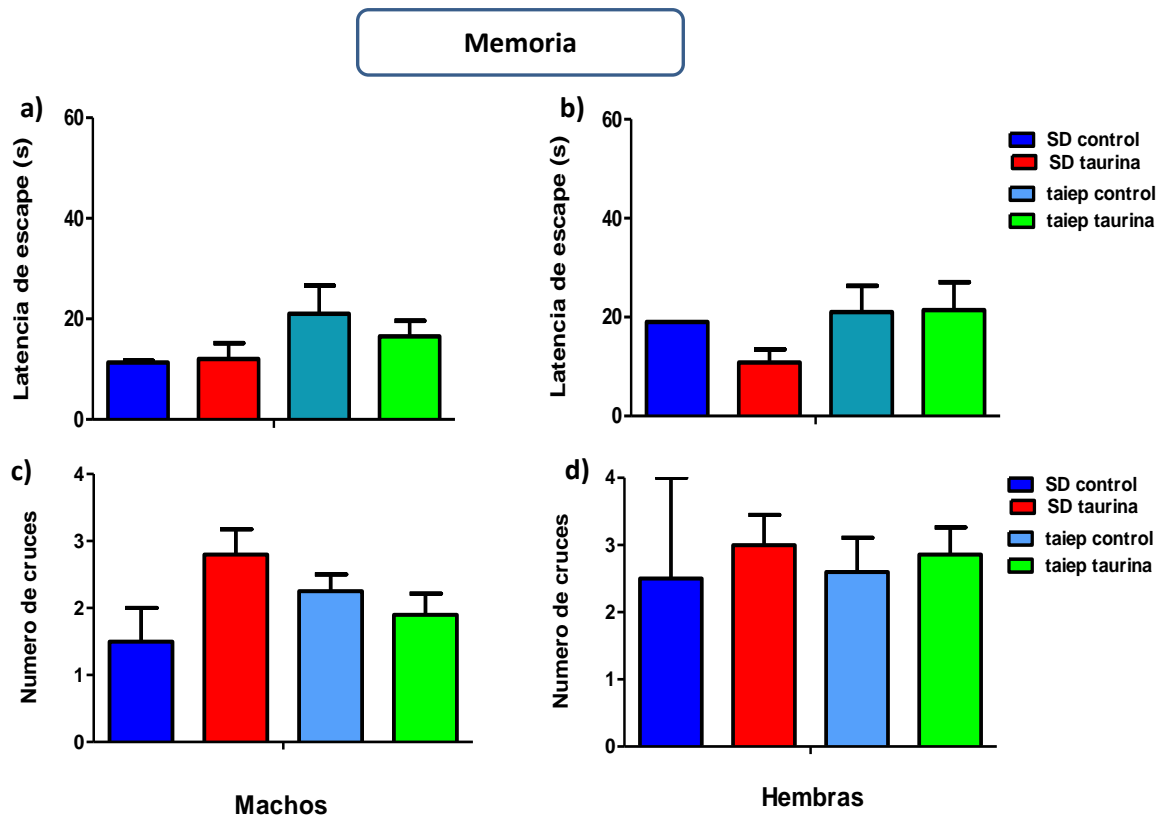
### Laberinto Acuático de Morris

Los resultados sobre aprendizaje de referencia espacial muestran que la taurina no modificó la latencia de escape en el laberinto acuático de Morris, tanto en machos como en hembras de ratas SD y ratas *taiep* al mes y medio de edad, (Fig. 3). La administración crónica de taurina no modifica la memoria de larga duración (Fig. 4a, 4b) y el número de veces (Fig. 4c, 4d) que pasa por la plataforma de escape (sureste) en el séptimo día 7 post-aprendizaje, en ratas macho y hembra de SD y *taiep* cuando se comparan con su respectivo grupo control sin tratamiento.



**Figura 3 Efecto de la administración crónica de taurina sobre el aprendizaje.**

Latencia de escape del grupo de ratas SD comparadas con el grupo de ratas *taiep*, sin tratamiento y las suplementadas con taurina en machos (a) y hembras (b). Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con post hoc de Dunns compara con el grupo control sin tratamiento, y †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la U de Mann-Whitney en cada grupo.



**Figura 4 Efecto de la administración de taurina sobre la memoria.**

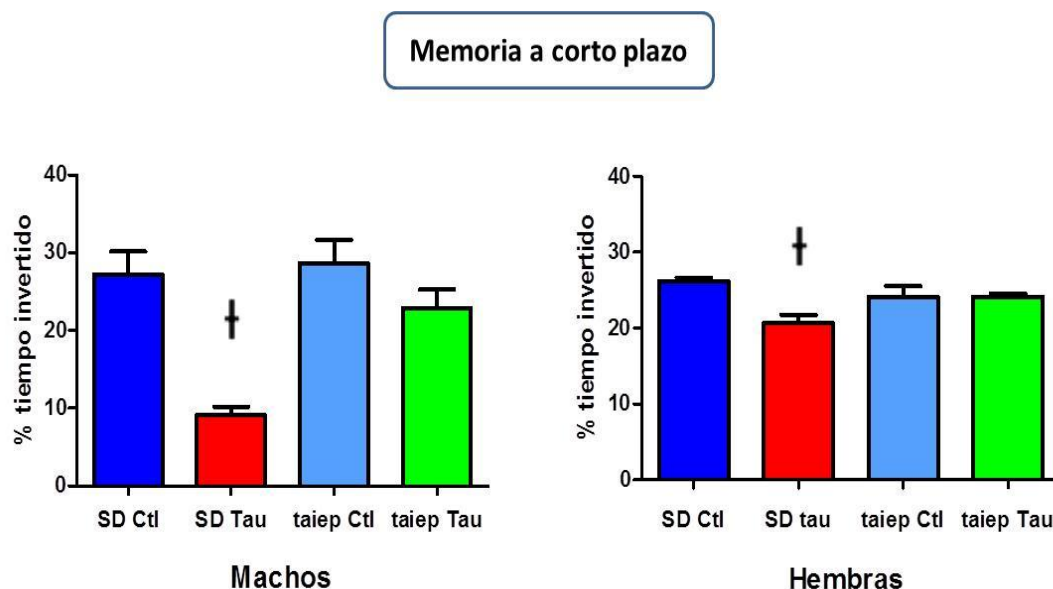
Comparación de la latencia de escape de ratas SD contra ratas taiep, con suplementación de taurina y los controles en a) machos y en b) hembras. Numero de cruces por el cuadrante sureste de cada uno de los grupos comparados contra las ratas SD control en c) machos y d) hembras. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con post hoc Dunns comparada con el grupo control sin tratamiento, y †  $P < 0.05$  empelando la U de Mann-Whitney para comparar entre cada grupo.

## Reconocimiento de Objetos Novedosos

Posterior a la evaluación del laberinto acuático de Morris, las ratas fueron evaluadas en la prueba de reconocimiento de objetos novedosos (NOR), para evaluar la memoria de referencia no espacial a corto plazo (MCP) y a largo plazo (MLP).

Los resultados muestran que la suplementación de taurina disminuyó la memoria de corto plazo estadísticamente significativa en ratas macho SD del  $18 \pm 5 \%$  ( $P < 0.05$ ) y en ratas hembra SD sin diferencias significativas en comparación con el grupo SD control, lo que indicaría que la suplementación de taurina afectó a las ratas SD el cual no recordaron el objeto antes explorado. Por otro lado, la

suplementación de taurina no afectó a la rata *taiep*, no mostrando tener diferencias significativas ni con el modelo control SD y *taiep* sin tratamiento, (Fig. 5).

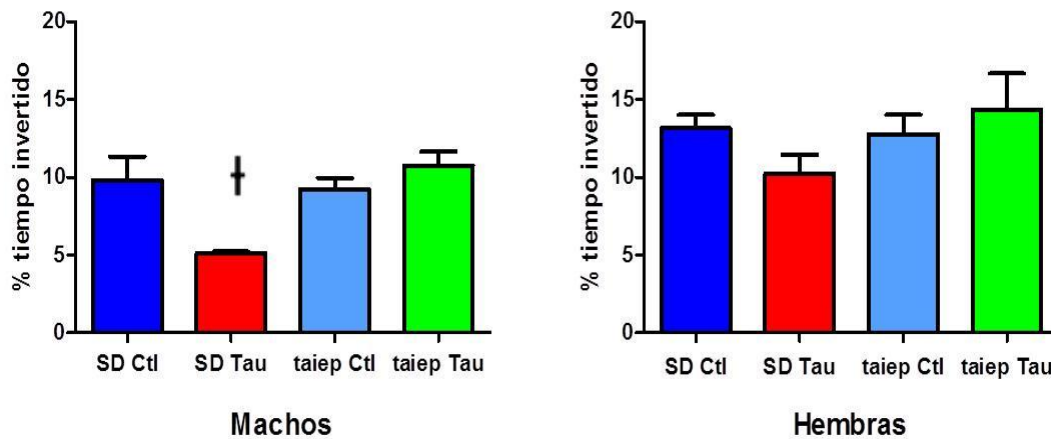


**Figura 5 Efecto de taurina sobre la retención a corto plazo en Reconocimiento de objetos novedosos.**

Porcentaje de tiempo invertido sobre el objeto novedoso en la memoria a corto plazo entre las ratas SD y las ratas *taiep*, control y las de suplementación con taurina. a) machos y b) Hembras. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con pos hoc Dunns comparada con grupo control sin tratamiento, y †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la U de Mann-Whitney en cada grupo.

La evaluación de la memoria a largo plazo o retención a largo plazo, se midió el tiempo invertido sobre un segundo objeto novedoso (OBN2) junto con el objeto ya conocido (OB1), al igual que en la retención a corto plazo hay una disminución estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ) del  $5.11 \pm 0.5$  % en machos SD suplementadas con taurina en comparación con el control. Mientras que en los grupos de la rata *taiep* control y con taurina, no se observa diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) al compararlas con el grupo SD control (Fig. 6), diciendo así que la rata *taiep* presenta una retención de la memoria a largo plazo de manera adecuada a los 2 meses de edad, tanto en hembras como en machos, a pesar de la patología neurodegenerativa que presenta, y sin que la suplementación de taurina modifique estos procesos cognitivos.

## Memoria a largo plazo



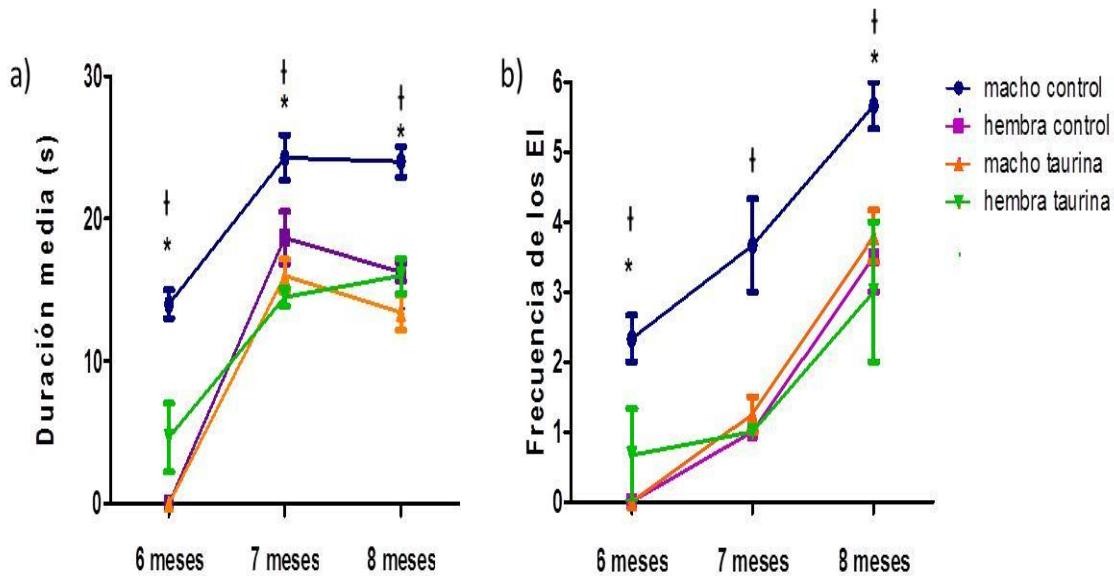
**Figura 6 Efecto de taurina sobre la retención a largo plazo en Reconocimiento de objetos novedosos.**

Porcentaje del tiempo invertido sobre el objeto novedoso 2 (OBN2) entre las ratas SD y las ratas taiep, control y las de suplementación con taurina. a) machos y b) Hembras. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P > 0.05$  ANOVA con pos hoc Dunns comparada con grupo control sin tratamiento, y †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la U de Mann-Whitney en cada grupo.

### Episodios de inmovilidad

En este trabajo también se encontró que los machos presentan significativamente ( $P < 0.05$ ) un mayor número de episodios, así como el tiempo de latencia con la que ocurren, que las hembras, mostrando un dimorfismo. Sin embargo, podemos observar en el tiempo de latencia de los episodios de inmovilidad que la suplementación de taurina reduce estadísticamente significativo ( $P < 0.05$ ) desde 6 meses de edad hasta los 8 meses de edad, así como el número de veces por que ocurren los episodios durante 120 minutos en los machos taiep (Fig. 7).

## Episodios de Inmovilidad



**Figura 7. Efecto de la administración crónica de taurina sobre los episodios de inmovilidad (EIs).**

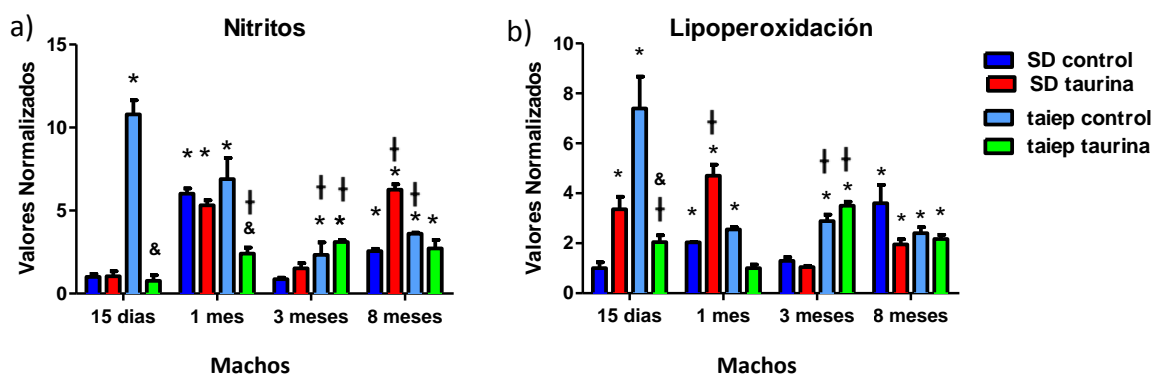
**a)** Duración media de los EIs en ratas taiep control en comparación con las administradas con taurina entre macho y hembra. **b)** Frecuencia media de los EIs que ocurre en ratas taiep comparadas con las administradas con taurina entre macho y hembra a partir de los 6 meses hasta 8 meses de edad. Los valores representan la media  $\pm$  SEM \* $P < 0.05$  ANOVA de dos vías con post hoc Tukey test comparando los factores de edad y género, y †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la U de Mann-Whitney compara contra grupo control sin tratamiento en cada grupo.

### Estrés nitrosativo

Además, se evaluó los niveles de nitritos y la lipoperoxidación en diferentes regiones cerebrales, los resultados en la rata macho SD en la médula espinal se encontró un aumento de la lipoperoxidación desde un mes de edad ( $103 \pm 30$  %), los nitritos solo aumentó a los 8 meses de edad ( $155.7 \pm 13$  %), por otra parte la suplementación de taurina aumenta la lipoperoxidación estadísticamente significativa a los 15 días ( $236 \pm 55$  %) y 1 mes de edad ( $266 \pm 57$ ), mientras que los nitritos aumentan a los 8 meses de edad ( $370 \pm 39$ ). De manera contraria, en la rata macho *taiep* ocurre un estrés nitrosativo desde edades tempranas comparado contra el grupo SD control, encontrando un aumento estadísticamente significativo ( $P < 0.05$ ) de la producción de óxido nítrico a los 15 días ( $979 \pm 66$  %) y a los 3

meses de edad ( $70.6 \pm 12.5$  %) (Fig. 8a) y de la lipoperoxidación (Fig. 8b) a los 15 días ( $639 \pm 99$  %) y a los 3 meses de edad ( $159 \pm 33$  %) con respecto al grupo control, en donde la suplementación de taurina de manera contraria que en la SD, disminuyó el aumento de óxido nítrico a los 15 días y mes de edad, y la lipoperoxidación a los 15 días de edad a valores similares al control. (Fig. 8). En ratas hembras *taiep* existe el aumento significativo ( $P < 0.05$ ) del estrés nitrosativo, pero con menor intensidad que los machos, la taurina disminuyó significativamente la producción de nitritos a los 15 días de edad a niveles aun menores que el grupo SD control, pero sin presentar efecto sobre la lipoperoxidación (Fig. 9).

### Médula Espinal



**Figura 8 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en la Médula Espinal en ratas macho**

Evaluación de la concentración de a) nitritos y b) malondialdehído (MDA) a diferentes edades: 15 días, 1, 3 y 8 meses en machos SD y taiep, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P > 0.05$  ANOVA con post hoc Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

En la región de tallo cerebral no se observó cambios en el grupo SD control y con la suplementación de taurina a través del tiempo. Sin embargo, en ratas machos *taiep* se observó un aumento estadísticamente significativo del estrés nitrosativo a los 3 meses de edad ( $276 \pm 7$  %) y un aumento de la lipoperoxidación a los 15 días ( $78 \pm 10$  %) y 3 meses de edad ( $46.6 \pm 6$ ). Las ratas *taiep* que fueron suplementadas con taurina disminuyeron significativamente ( $P < 0.05$ ) la lipoperoxidación en las edades que se presentó el aumento, siendo valores similares al grupo SD control (Fig. 10).

## Médula Espinal

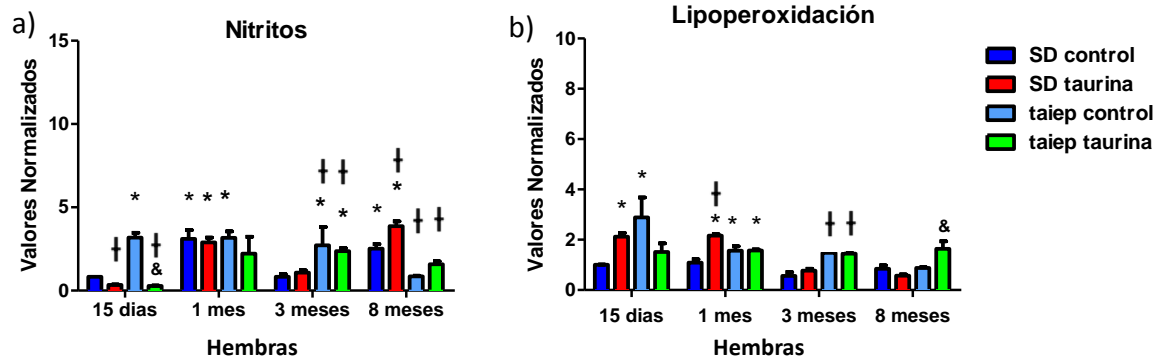


Figura 9 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en la Médula Espinal en ratas hembra

Evaluación de la concentración de **a)** nitritos y **b)** malondialdehído (MDA) a diferentes edades: 15 días, 1, 3 y 8 meses en hembras SD y taiep, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con post hoc Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Mientras que en ratas *taiep* hembras en la región del tallo cerebral solo existe un aumento en la producción de óxido nítrico al mes de edad ( $185 \pm 22 \%$ ), sin presentar diferencias estadísticamente significativas en la lipoperoxidación (Fig.11).

## Tallo Cerebral

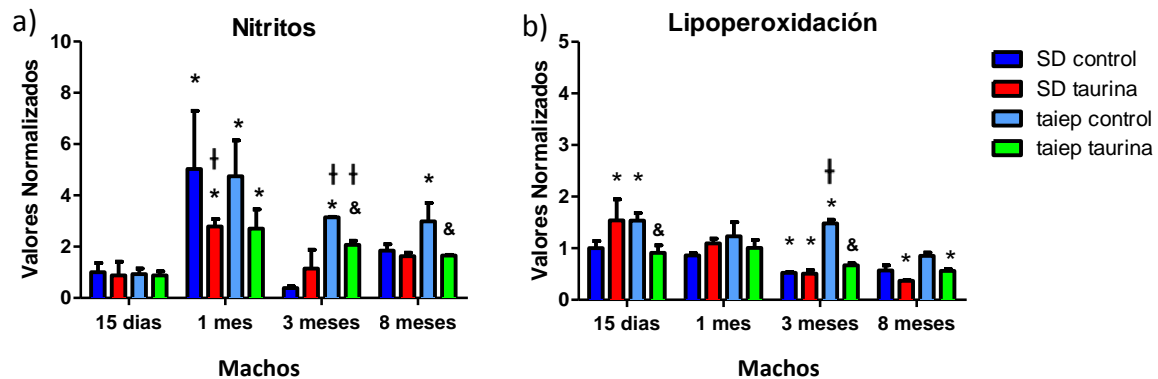
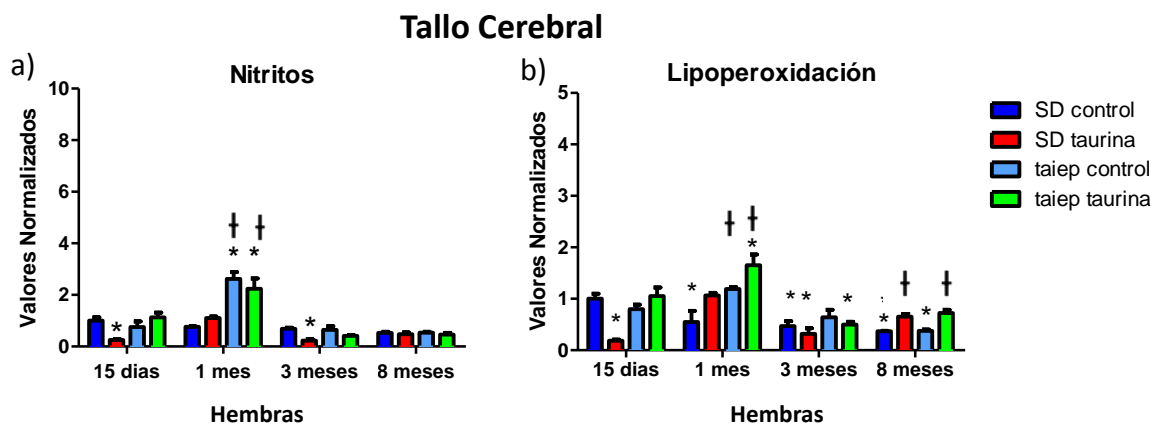


Figura 10 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Tallo cerebral en ratas macho

Evaluación de la concentración de **a)** nitritos y **b)** malondialdehído (MDA) a diferentes edades: 15 días, 1, 3 y 8 meses en machos SD y taiep, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con post hoc Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

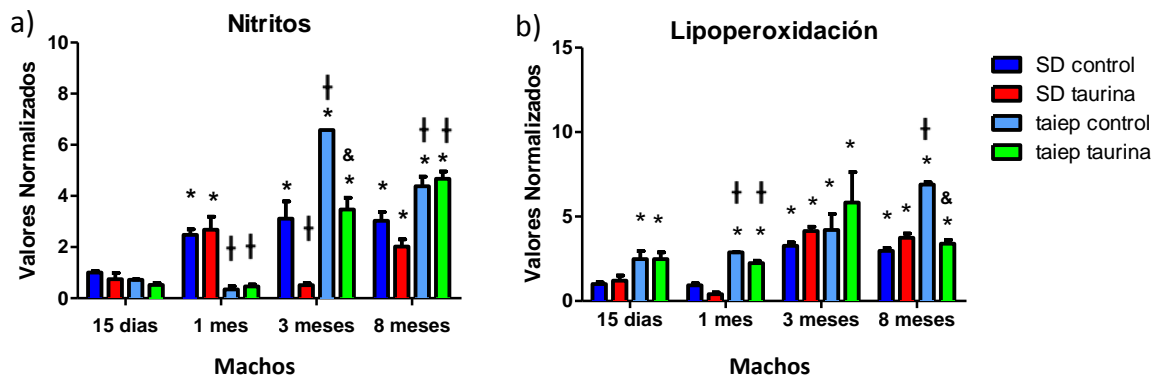


**Figura 11 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Tallo cerebral en ratas hembra**

Evaluación de la concentración de **a)** nitritos y **b)** malondialdehído (MDA) a diferentes edades: 15 días, 1, 3 y 8 meses en hembras SD y taiep, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con post hoc Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

En la región del cerebelo, el grupo SD control muestra un aumento del estrés dependiente de la edad, donde la taurina no modifica este comportamiento. En los machos taiep existe una disminución de óxido nítrico al mes de edad ( $214 \pm 12$ ) y un aumento a los 3 meses de edad ( $342 \pm 37$  %) estadísticamente significativo, mientras que la lipoperoxidación está aumentada a los 15 días ( $147 \pm 27$  %), y 8 meses de edad ( $393 \pm 24$  %). La suplementación de taurina disminuyó significativamente ( $P < 0.05$ ) en ratas macho los nitritos a los 3 meses de edad ( $264 \pm 38$  %) y la lipoperoxidación a los 8 meses de edad ( $350 \pm 30$  %) (Fig. 12). En ratas hembra de igual manera que en los machos existe una disminución significativa del óxido nítrico al mes ( $285 \pm 58$  %) y un aumento a los 3 meses de edad ( $654 \pm 27$  %), la lipoperoxidación se encuentra aumentada significativamente al mes ( $200 \pm 51$  %) y 3 meses de edad ( $786.5 \pm 183$  %) (Fig. 13); la suplementación de taurina logra disminuir el estrés nitrosativo a los 3 meses de edad, y la lipoperoxidación solamente al mes de edad (Fig. 13).

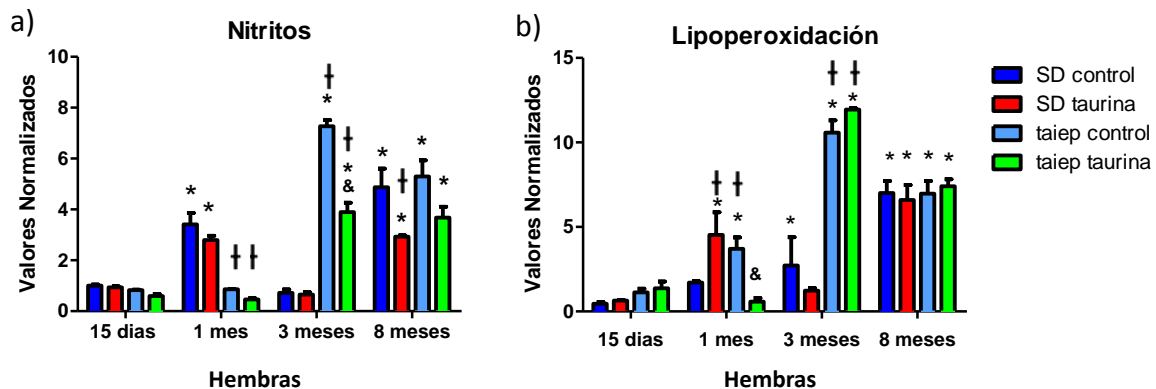
## Cerebelo



**Figura 12 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Cerebelo en ratas macho**

Evaluación de la concentración de **a)** nitritos y **b)** malondialdehído (MDA) a diferentes edades: 15 días, 1, 3 y 8 meses en machos SD y taiep, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con post hoc Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

## Cerebelo

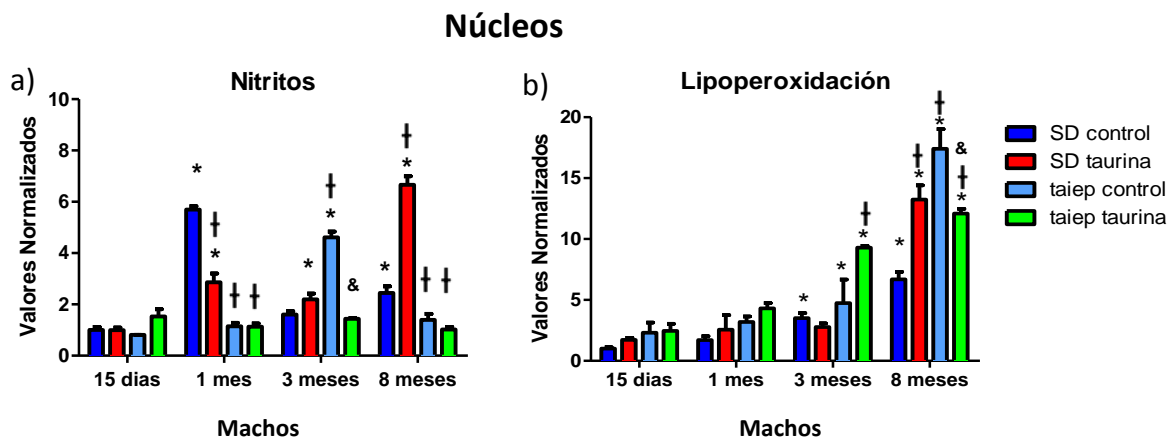


**Figura 13 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Cerebelo en ratas hembra**

Evaluación de la concentración de **a)** nitritos y **b)** malondialdehído (MDA) a diferentes edades: 15 días, 1, 3 y 8 meses en hembras SD y taiep, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con post hoc Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

En los núcleos, hay un aumento tanto de NO y de la lipoperoxidación dependiente de la edad en ratas macho SD control, pero habiendo por parte de la

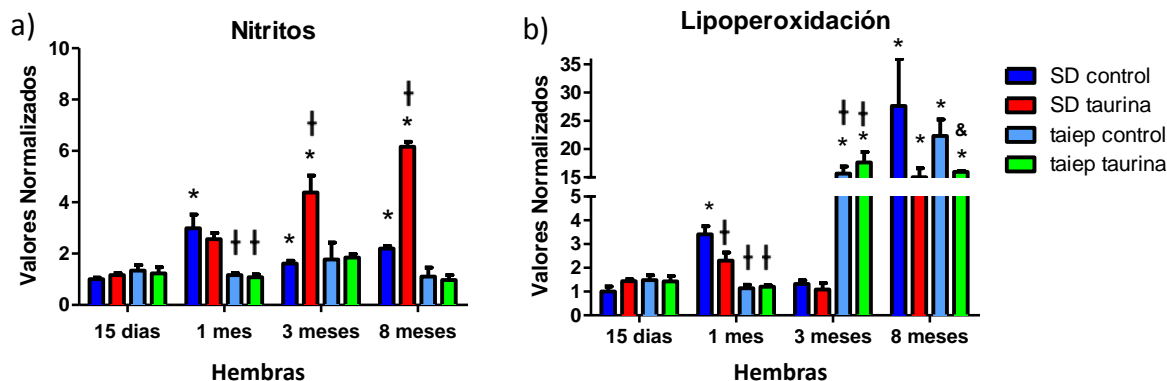
suplementación de taurina un aumento estadísticamente significativo ( $P < 0.05$ ) a los 8 meses de edad de nitritos ( $421 \pm 44$  %) y de la lipoperoxidación ( $324 \pm 40$  %); los machos *taiep* presenta un aumento de óxido nítrico a los 3 meses de edad ( $300 \pm 24$  %), mientras que la lipoperoxidación se encuentra aumentada a los 8 meses de edad ( $1070 \pm 173$  %) significativamente con respecto al control (Fig. 14), siendo de las región que se afecta a edades más tardías. Por otro lado, la administración de taurina reduce la producción de nitritos y la lipoperoxidación en respectivas edades. En las ratas hembra control SD aumento significativamente ( $P < 0.05$ ) el NO a los 3 meses y 8 meses de edad, pero no se vio relacionado con un aumento en la lipoperoxidación. Mientras que en las ratas hembra *taiep* solo existe un aumento de la lipoperoxidación a los 3 meses, donde la suplementación de taurina disminuye significativamente ( $P < 0.05$ ) la lipoperoxidación a los 8 meses de edad (Fig. 15).



**Figura 14 Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Núcleos subcorticales en ratas macho**

Evaluación de la concentración de **a)** nitritos y **b)** malondialdehído (MDA) a diferentes edades: 15 días, 1, 3 y 8 meses en machos SD y *taiep*, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con pos hoc Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

## Núcleos



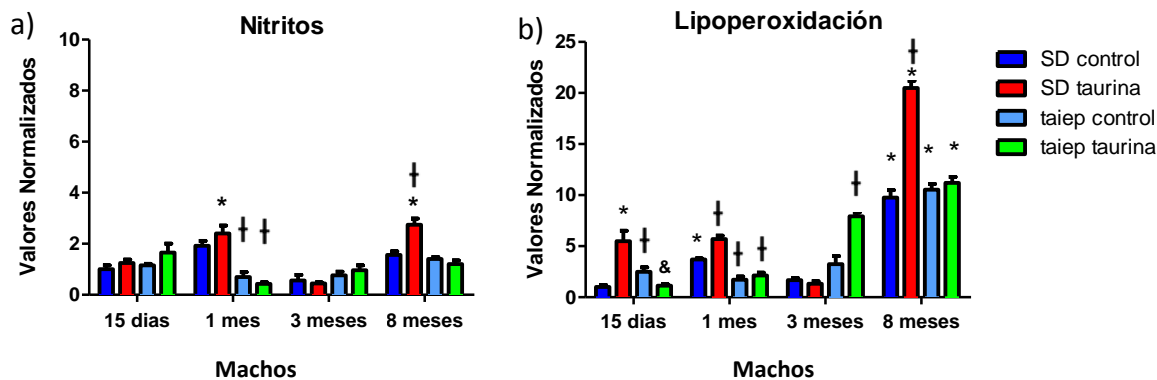
**Figura 15** Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Lipoperoxidación en Núcleos subcorticales en ratas hembra

Evaluación de la concentración de **a)** nitritos y **b)** malondialdehído (MDA) a diferentes edades: 15 días, 1, 3 y 8 meses en hembras SD y *taiep*, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

En ratas SD machos en la región de corteza-hipocampo la producción de NO no se modifica a través de la edad, sin embargo, hay un claro aumento de la lipoperoxidación. La suplementación de taurina, produce un aumento significativo ( $P < 0.05$ ) de la producción de nitritos al mes ( $97.3 \pm 24 \%$ ) y 8 meses de edad ( $133 \pm 29 \%$ ) y de la lipoperoxidación a los 15 días de edad ( $347 \pm 30 \%$ ), al mes de edad ( $199 \pm 27 \%$ ) y a los 8 meses de edad ( $1074 \pm 101 \%$ ) (Fig. 16), mientras que no se encuentran diferencias significativas en ratas hembras SD suplementadas con taurina (Fig. 17).

En la corteza-hipocampo en ratas macho *taiep* existe una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) de nitritos a los 15 días de edad ( $15.1 \pm 1.4 \%$ ) y una disminución de la lipoperoxidación tanto a los 15 días ( $66 \pm 13 \%$ ) y al mes de edad ( $198 \pm 33 \%$ ) (Fig. 14) y a pesar de esta desregulación, las ratas *taiep* no presenta un déficit cognitivo; con la suplementación de taurina estos niveles no son modificados. De manera contraria en ratas hembra donde existe un aumento del NO a los 8 meses de edad ( $85 \pm 18 \%$ ) y la lipoperoxidación ( $348 \pm 13 \%$ ) a los 3 meses significativamente.

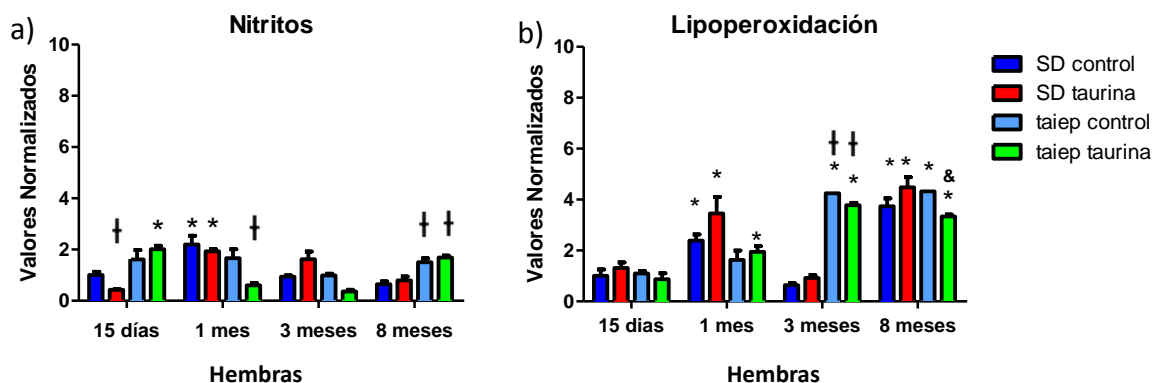
## Corteza-Hipocampo



**Figura 16** Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Liperoxidación en Corteza cerebral en ratas macho

Evaluación de la concentración de **a)** nitritos y **b)** malondialdehído (MDA) a diferentes edades: 15 días, 1, 3 y 8 meses en machos SD y *taiep*, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

## Corteza-Hipocampo



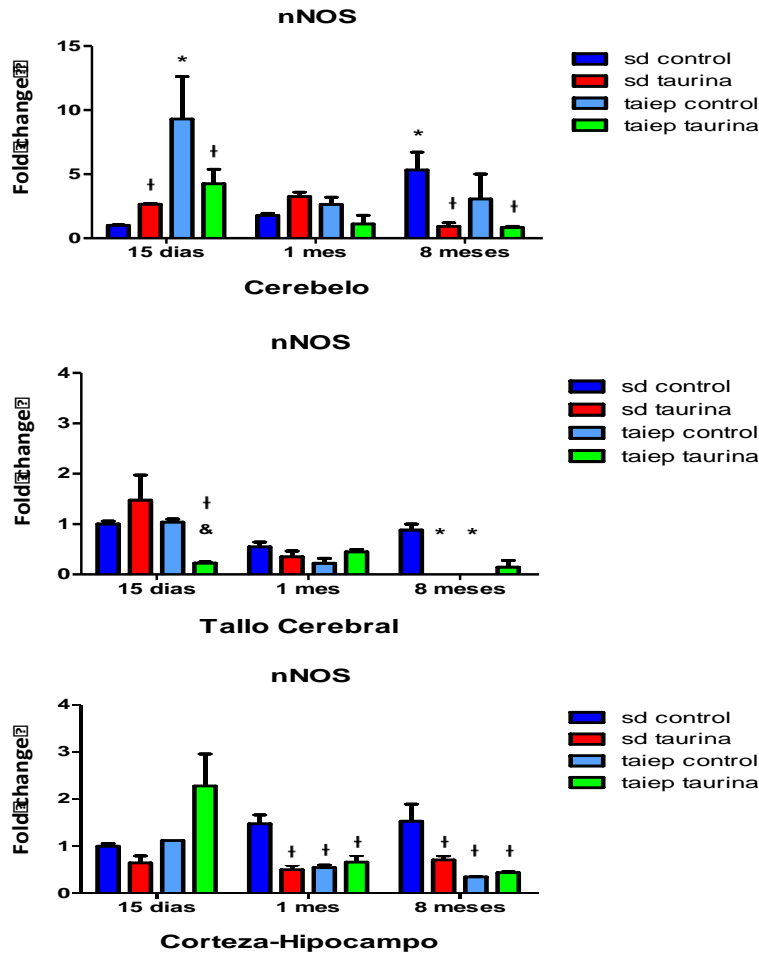
**Figura 17** Efecto de la taurina sobre el estrés nitrosativo y la Liperoxidación en Corteza cerebral en ratas hembra

Evaluación de la concentración de **a)** nitritos y **b)** malondialdehído (MDA) a diferentes edades: 15 días, 1, 3 y 8 meses en hembras SD y *taiep*, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Con todos estos resultados podemos observar el efecto antioxidante por parte de la taurina, ya que disminuye la producción de óxido nítrico, así como la lipoperoxidación en las diferentes regiones y edades en la que se encontró elevado el estrés oxidativo/nitrosativo en el modelo de la rata *taiep*. Pero produciendo un efecto contrario en el grupo SD control, por lo que su efecto dependerá de las condiciones en la que se encuentre el organismo.

Por otra parte, se estudió en ratas macho la transcripción de genes de quimiocinas y factores neurotróficos en las regiones que se encuentran involucradas en los procesos de ataxia y de los episodios de inmovilidad que son el cerebelo y el tallo cerebral, respectivamente, las cuales son características de la patología *taiep*, así como también la región de corteza-hipocampo, involucrada en diversos procesos fisiológicos y patológicos, ya que se conoce que existe una disminución de quimiocinas y factores que se requieren para los procesos de mielinización y remielinización ante la respuesta del daño [Soto-Rodríguez et al. 2012]. Estos estudios se realizaron solo en ratas machos de cada grupo.

Los niveles de transcripción de nNOs, donde observamos en el grupo SD control, que los niveles de transcripción se mantuvieron sin cambios con respecto a la edad en la región de tallo cerebral y corteza-hipocampo, mientras que en el cerebelo aumentó (4.8,  $P < 0.05$ ) a los 8 meses de edad, la suplementación de taurina aumentó el transcrito a los 15 días en cerebelo (1.6,  $P < 0.05$ ), mas sin embargo disminuyó para cerebelo (4.9  $P < 0.05$ ), tallo cerebral (0.8,  $P < 0.05$ ), y corteza cerebral (0.75,  $P < 0.05$ ) los 8 meses de edad. La rata *taiep* presenta un aumento (8.3,  $P < 0.05$ ) a los 15 días de edad solamente en la región del cerebelo, además una disminución significativa (0.8,  $P < 0.05$ ) en la región de tallo cerebral a los 8 meses de edad, y en la región de la corteza-hipocampo al mes (0.9,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad (1.2,  $P < 0.05$ ), comparada con el grupo SD control (Fig. 18). La suplementación de taurina solo disminuyó (77,  $P < 0.05$ ) la transcripción de nNOS en la región de tallo cerebral a los 15 días de edad.

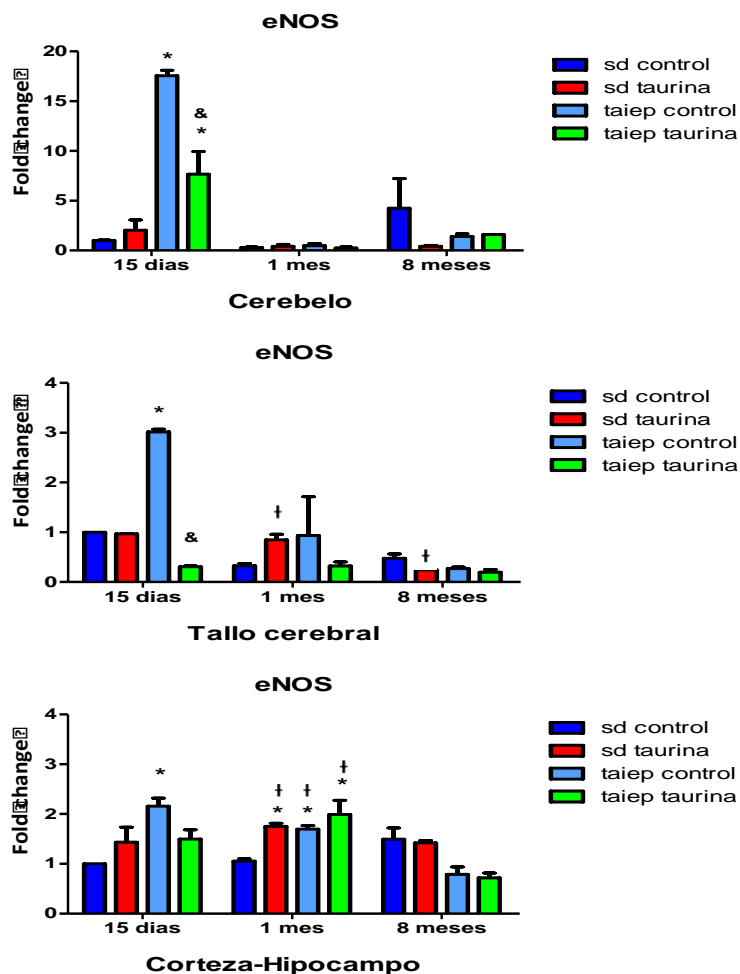


**Figura 18 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de nNOS.**

Evaluación del transcrito de nNOS en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Otra de las sintasas evaluadas fue eNOS, donde de igual manera no existe cambio significativo en la SD control a través de las edades evaluadas, pero observando un aumento estadísticamente significativo al mes de edad por parte de la suplementación de taurina en el tallo cerebral (0.51,  $P < 0.05$ ) y la corteza cerebral-hipocampo (0.6,  $P < 0.05$ ). En la *taiep* se obtuvo un aumento estadísticamente significativo a los 15 días de edad en las 3 regiones, tallo cerebral (1.5,  $P < 0.05$ ), cerebelo (17.5,  $P < 0.05$ ), corteza cerebral-hipocampo (1.16,  $P < 0.05$ ), y un aumentó en la corteza-hipocampo al mes de edad (0.6,  $P <$

0.05) en la rata *taiep*, la administración de taurina fue capaz de disminuir significativamente los niveles del transcrito a los 15 días de edad tanto en la región de cerebelo (6.6,  $P < 0.05$ ) como en la de tallo cerebral (2.2,  $P < 0.05$ ) (Fig. 19).

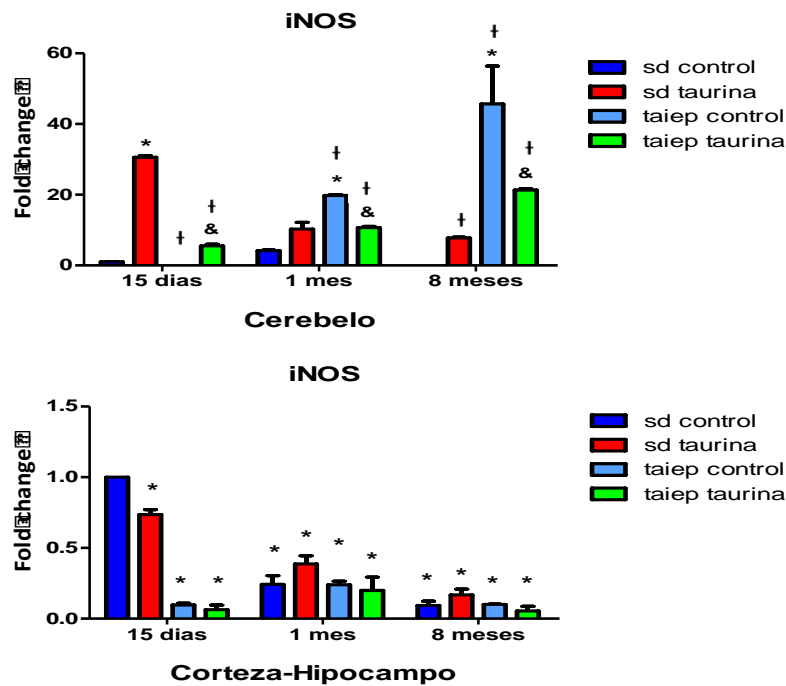


**Figura 19 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de eNOS.**

Evaluación del transcrito de eNOS en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Los niveles de iNOS no se modificaron en el cerebelo en ninguna de las edades, pero en la corteza disminuyeron significativamente a través de la edad. La suplementación de taurina aumentó significativamente los niveles en el cerebelo a los 15 días (29.5,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad (7.7,  $P < 0.05$ ), sin modificarlos en la corteza-hipocampo. La rata *taiep* presenta una disminución a los 15 días en el

cerebelo (0.9,  $P < 0.05$ ) y en corteza-hipocampo (0.9,  $P < 0.05$ ), mientras que en el cerebelo se presenta un aumento significativo de la transcripción al mes (15.5,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad (45.6,  $P < 0.05$ ) (Fig. 20). La administración de taurina es capaz de disminuir los niveles de transcripción de iNOS en el cerebelo en el tiempo en el cual se encuentran aumentados en la rata *taiep*. Mientras que en la región de corteza-hipocampo no muestra efecto alguno la suplementación de taurina en ninguno de los tiempos estudiados.

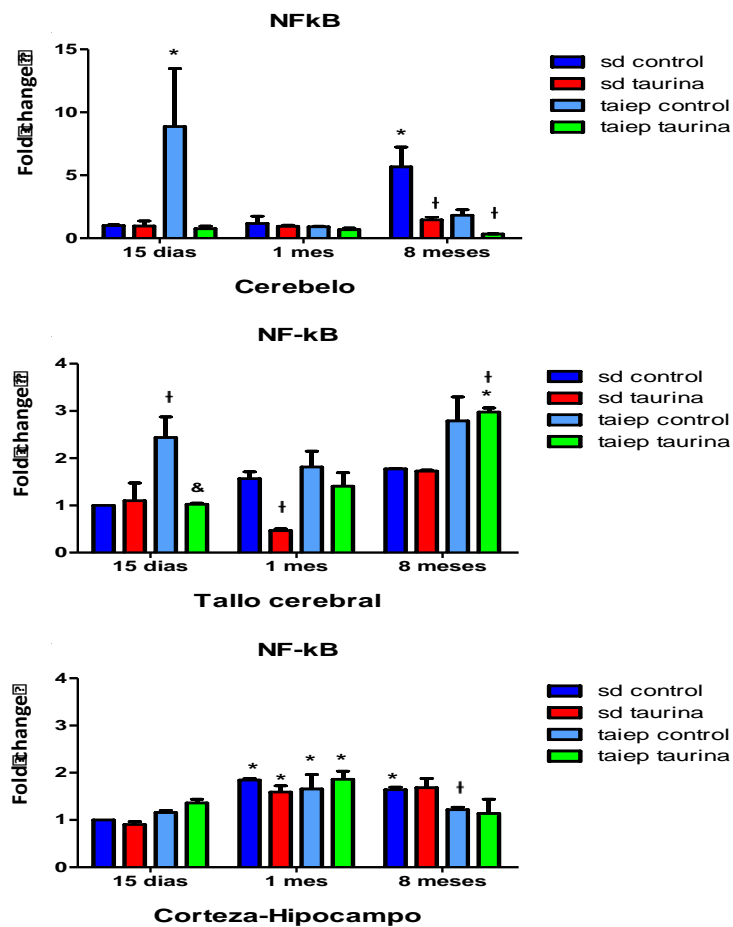


**Figura 20** Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de iNOS.

Evaluación del transcrito de iNOS en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con pos hoc Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  t de Student para comparar el tratamiento en el grupo problema.

Además observamos que los niveles de NF- $\kappa$ B aumenta significativamente de manera dependiente del envejecimiento en la ratas SD control, principalmente en la región de la corteza-hipocampo, mientras que solo en el cerebelo a los 8 meses de edad (5.1,  $P < 0.05$ ) y sin presentar cambios en el tallo cerebral; la suplementación de taurina, disminuye estadísticamente los niveles a los 8 meses de edad (4.7,  $P < 0.05$ ) en el cerebelo y al mes de edad en el tallo cerebral (1.1,  $P$

< 0.05). Sin embargo, en la *taiep* se presenta un aumento estadísticamente significativo de NF- $\kappa$ b a los 15 días de edad en las regiones de cerebelo (7.8,  $P < 0.05$ ) y tallo cerebral (1.4,  $P < 0.05$ ), en donde la administración de taurina disminuye significativamente en el transcrito a esta edad; sin presentar cambios en los demás tiempos en ninguno de los grupos (Fig. 21).



**Figura 21** Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de NF- $\kappa$ B.

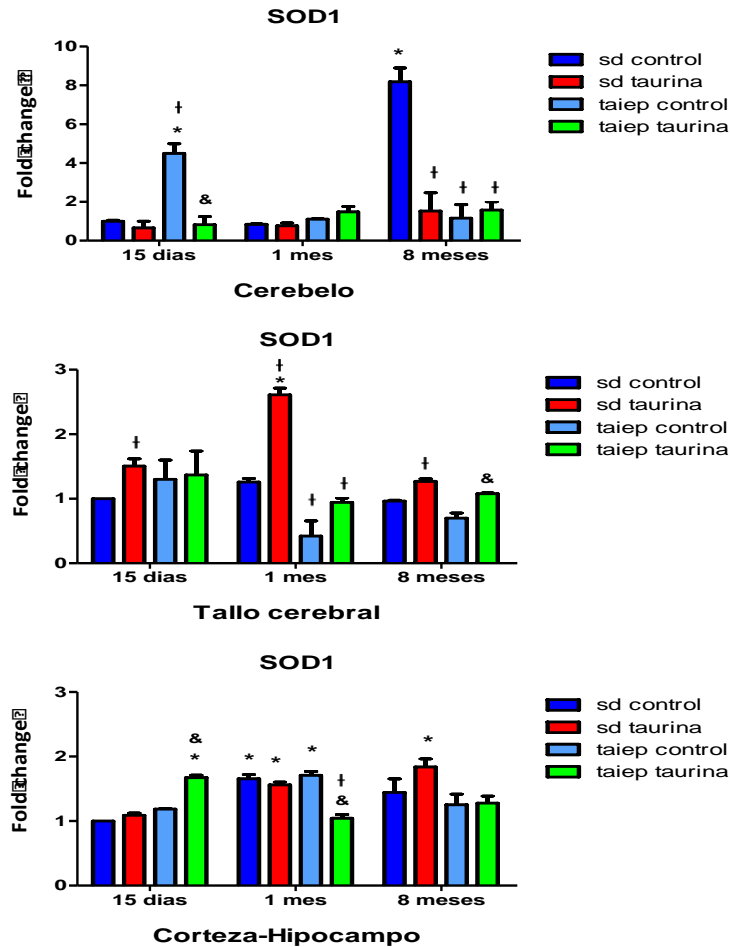
Evaluación del transcrito de NF- $\kappa$ B en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Al observar que existe un estrés oxidativo/nitrosativo en nuestro modelo *taiep* el cual estaría produciendo un proceso inflamatorio, es de importancia estudiar el mecanismo antioxidante que podría estar regulando estas alteraciones y como la taurina podrían modificar la expresión de diversas enzimas antioxidantes.

Los resultados muestran que existe un aumento en la transcripción de SOD1 en las SD control en el cerebelo a los 8 meses de edad (7.1,  $P < 0.05$ ) y al mes de edad en la corteza-hipocampo (0.65,  $P < 0.05$ ), manteniéndose los mismos niveles en el tallo cerebral, en este grupo la suplementación de taurina disminuye significativamente a los 8 meses en el cerebelo, mientras que el tallo cerebral produce un aumento estadísticamente significativo ( $P < 0.05$ ) en todas las edades.

En la rata *taiep* en la región de cerebelo SOD1 aumenta significativamente (3.5,  $P < 0.05$ ) a los 15 días de edad, pero disminuye a los 8 meses de edad (7,  $P < 0.05$ ), y en el tallo cerebral de igual manera al mes de edad (0.83,  $P < 0.05$ ) (Fig. 22). La taurina disminuye el transcrito significadamente ( $P < 0.05$ ) al mes de edad en cerebelo a niveles similares al grupo SD control, pero aumenta en al mes de edad en corteza-hipocampo y a los 8 meses en el tallo cerebral (Fig. 22).

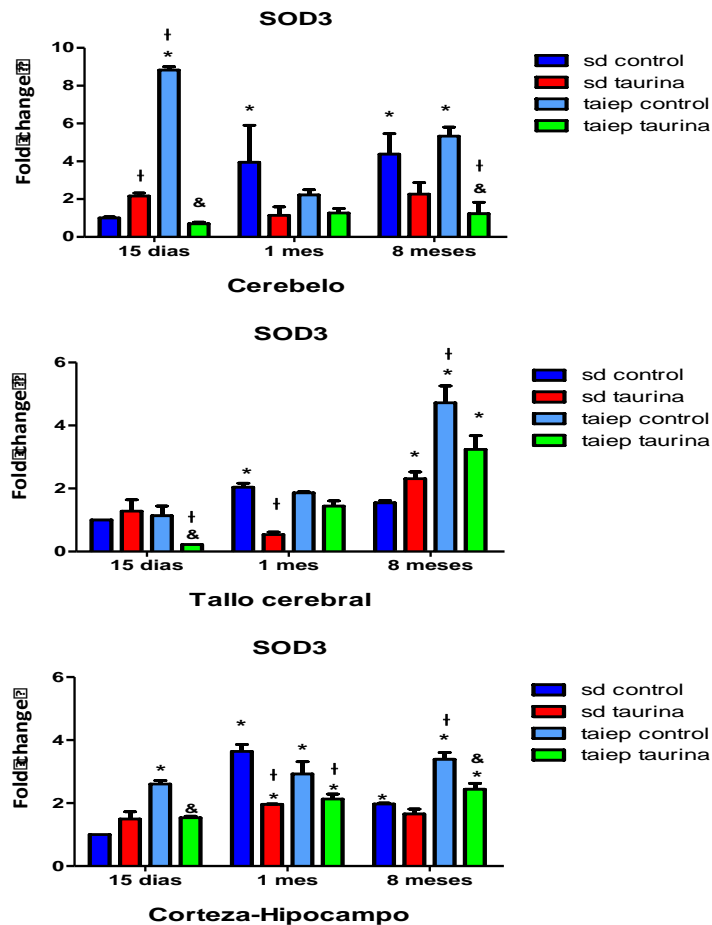
SOD3 en la rata SD aumenta significativamente conforme aumenta la edad en condiciones normales, en cada una de las regiones, mientras que la suplementación de taurina aumenta significativamente SOD3 a los 15 días de edad en el cerebelo (1.1,  $P < 0.05$ ), pero disminuyendo el transcrito tanto en el tallo cerebral (1.5,  $P < 0.05$ ) y corteza-hipocampo (1.6,  $P < 0.05$ ) al mes de edad (Fig. 23).



**Figura 22 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de SOD1.**

Evaluación del transcrito de SOD1 en las regiones de cerebello, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Los niveles del transcrito para SOD3 en la rata *taiep* a los 15 días de edad se encuentran aumentados significativamente en la región de cerebello (7.8,  $P < 0.05$ ) y corteza-hipocampo (1.6,  $P < 0.05$ ), y a los 8 meses de edad en la región de tallo cerebral (3.1,  $P < 0.05$ ) y corteza-hipocampo (3,  $P < 0.05$ ) (Fig. 23). La suplementación de taurina regula negativa a los 15 días en las 3 regiones siendo los niveles similares al grupo SD control, de igual manera regula de manera negativa significativamente a los 8 meses de edad en el cerebello (4.8,  $P < 0.05$ ) y corteza-hipocampo (0.9,  $P < 0.05$ ).

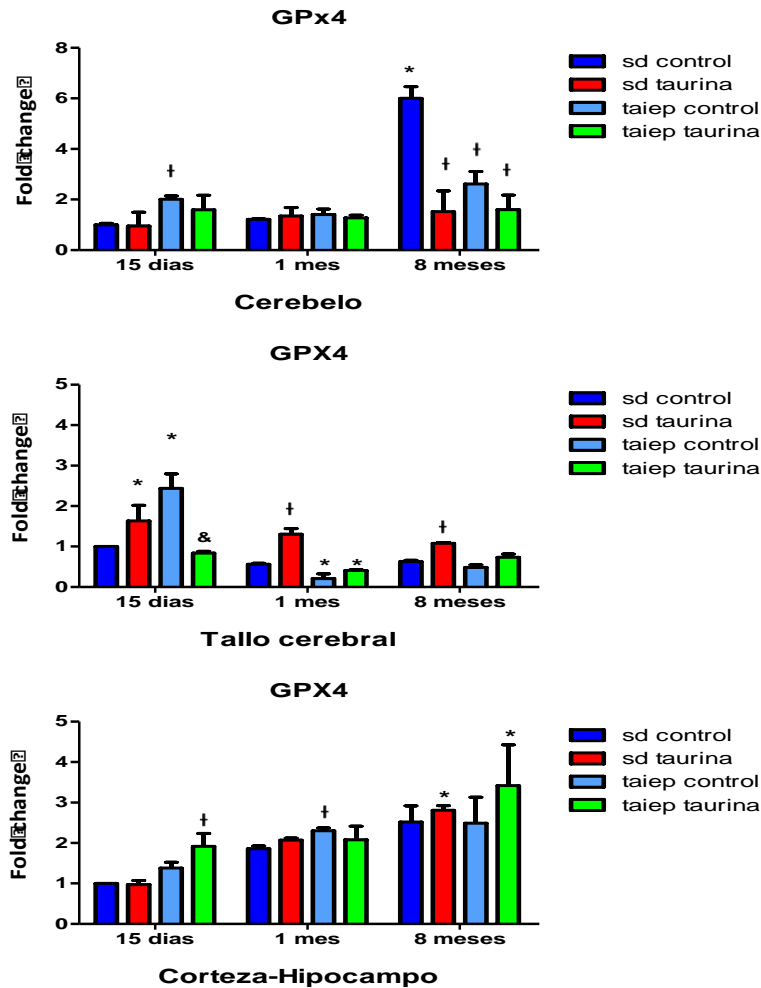


**Figura 23 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de SOD3.**

Evaluación del transcrito de SOD3 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

El transcrito de GPx4 en el modelo control no tuvo diferencias en tallo cerebral y corteza-hipocampo, mientras que en el cerebelo presento un aumento del transcrito a los 8 meses de edad (5,  $P < 0.05$ ), pero la suplementación de taurina produce un aumento estadísticamente significativo de GPx4 en el tallo cerebral en cada una de las edades evaluadas, mientras que en cerebelo disminuye significativamente (4.4,  $P < 0.05$ ) a los 8 meses de edad. En la rata *taiep* existe un aumento significativo a los 15 días de edad, en las regiones de cerebelo (1.02,  $P < 0.05$ ) y tallo cerebral (1.44,  $P < 0.05$ ), mientras que en la

región de cerebelo a los 8 meses de edad existe una disminución estadísticamente significativa (3.3,  $P < 0.05$ ), en la corteza-hipocampo aumentó significativamente (0.35,  $P < 0.05$ ) al mes de edad. La suplementación de taurina no produce cambios en los niveles del transcrito, en ninguna de las regiones en el grupo *taiep* (Fig. 24).



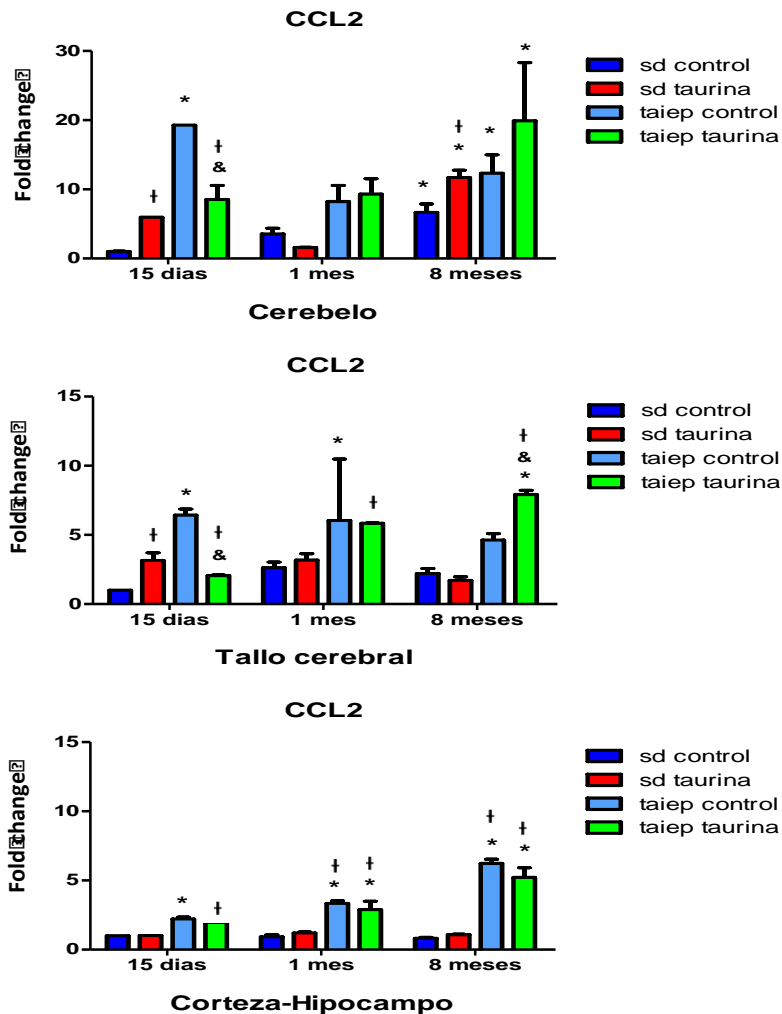
**Figura 24** Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de GPX4.

Evaluación del transcrito de GPX4 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

## Quimiocinas y Factores de crecimientos

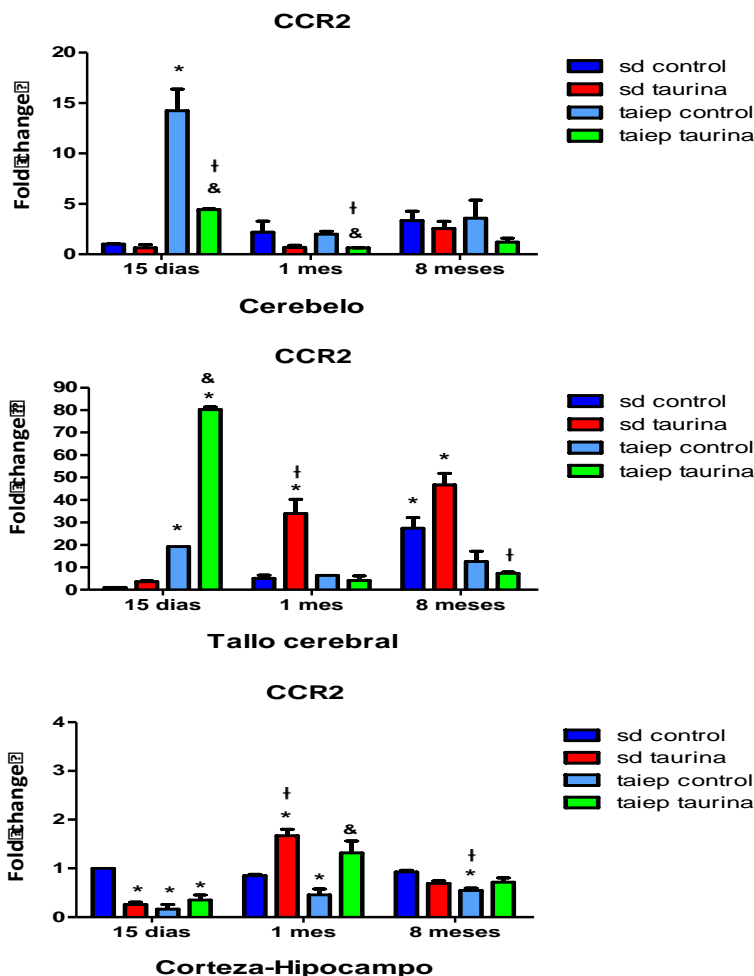
Evaluamos el transcrito de diversas quimiocinas y el efecto que tiene la taurina sobre su regulación. CCL2 es una de las quimiocinas pro-inflamatorias que puede estar mediando la activación de la microglía, en nuestros resultados encontramos que el transcrito de CCL2 no se modifica en ninguna de las regiones y en ninguna de las edades, mientras que la suplementación de taurina aumentó significativamente CCL2 en el cerebelo a los 15 días de edad (4.9,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad (5,  $P < 0.05$ ), mientras que solamente se encuentra en el tallo cerebral al mes de edad (0.5,  $P < 0.05$ ). En la rata *taiep* un aumento estadísticamente significativo a los 15 días de edad en las regiones de cerebelo (18.6  $P < 0.05$ ), tallo cerebral (5.4,  $P < 0.05$ ) y corteza-hipocampo (1.2,  $P < 0.05$ ), manteniéndose en esta última región el aumento al mes (2.4,  $P < 0.05$ ) y los 8 meses de edad (5.4,  $P < 0.05$ ). La suplementación de taurina disminuye significativamente los niveles de CCL2 a los 15 días en el cerebelo (11.1,  $P < 0.05$ ) y tallo cerebral (4.38,  $P < 0.05$ ), (Fig. 25).

Receptor de CCL2, CCR2, donde de igual forma que su ligando no se modifica en ninguna de las regiones en ninguna de las edades, pero habiendo un efecto de la taurina donde aumenta significativamente al mes de edad en la región de tallo cerebral (2.65,  $P < 0.05$ ) y corteza-hipocampo (0.8,  $P < 0.05$ ). En la *taiep* presenta un aumento estadísticamente significativo en la transcripción a los 15 días de edad en la región de cerebelo (13.25,  $P < 0.05$ ) y tallo cerebral (5.4,  $P < 0.05$ ), mientras que en la corteza-hipocampo existe una disminución estadísticamente significativa a los 15 días (0.6,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad (0.38,  $P < 0.05$ ). Mientras que taurina regula el aumento de CCR2 solo en la región de cerebelo (1.3,  $P < 0.05$ ) a los 15 días de edad, de forma contraria, en el tallo cerebral produce un aumento significativo aun mayor (61,  $P < 0.05$ ) en la rata *taiep* (Fig. 26).



**Figura 25 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CCL2.**

Evaluación del transcrito de CCL2 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

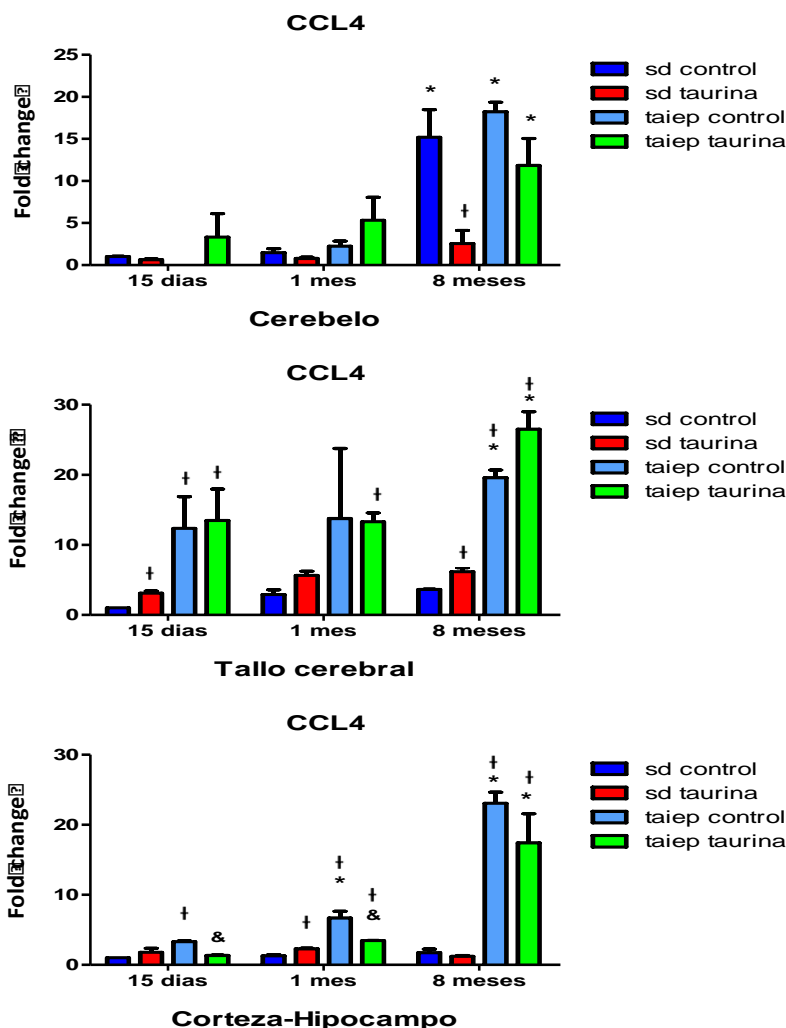


**Figura 26 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CCR2.**

Evaluación del transcrito de CCR2 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Los resultados obtenidos en el grupo SD control con respecto a CCL4 muestran solamente un aumento estadísticamente significativo (14.1,  $P < 0.05$ ) en la región de cerebelo a los 8 meses de edad, donde la suplementación de taurina disminuye estos niveles, sin embargo la taurina aumenta significativamente los niveles de CCL4 en la región de tallo cerebral a los 15 días (2.1,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad (2.5,  $P < 0.05$ ) y en la corteza-hipocampo al mes de edad (1.1,  $P < 0.05$ ). En la rata *taiep* existe un aumento significativo ( $P < 0.05$ ) desde los 15 días hasta los 8 meses de edad en el tallo cerebral y corteza-hipocampo, donde la

taurina es capaz de disminuirlo significativamente solo en la corteza-hipocampo a los 15 días (1.98,  $P < 0.05$ ) y al mes de edad (3.2,  $P < 0.05$ ). Sin observar cambios en la región de cerebelo en ninguna de las edades (Fig. 27).

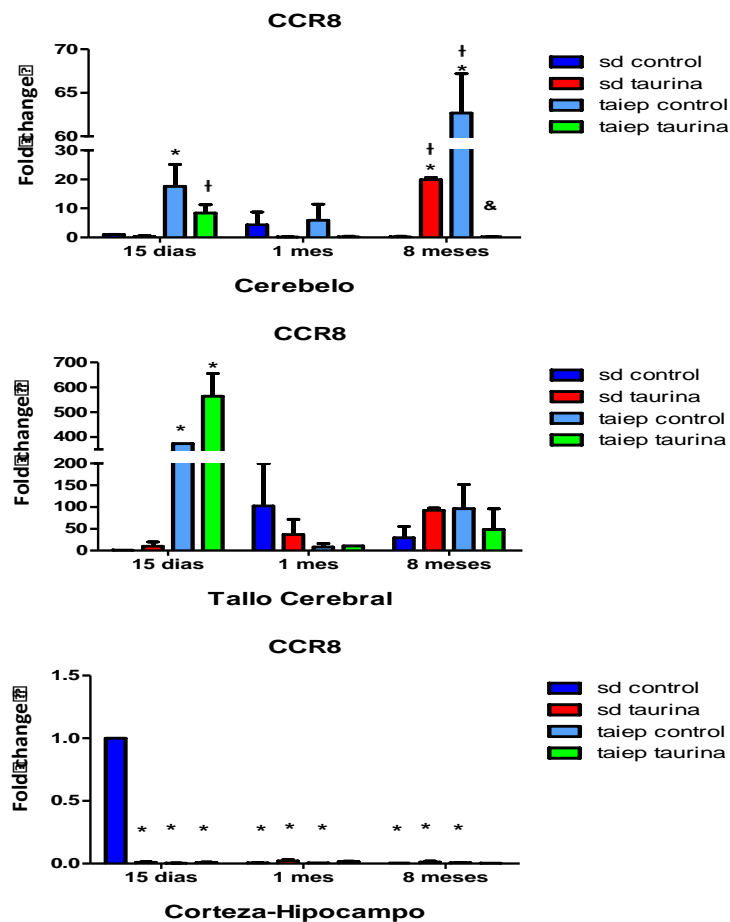


**Figura 27 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CCL4.**

Evaluación del transcrito de CCR4 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Podemos observar en el grupo SD control que el transcrito del receptor CCR8 en la corteza-hipocampo disminuye significativamente desde el mes de edad, sus niveles son casi cero, mientras que en las otras regiones no existe cambio con respecto al grupo de 15 días de edad; la taurina modifica los niveles

del transcrito, solamente a los 8 meses en el cerebelo donde produce un aumento estadísticamente significativo (19.7,  $P < 0.05$ ). En la rata *taiep* un aumento estadísticamente significativo a los 15 días de edad de CCR8 en el cerebelo (16.5,  $P < 0.05$ ) y tallo cerebral (370,  $P < 0.05$ ), manteniendo este aumento en el cerebelo a los 8 meses (62.4,  $P < 0.05$ ), y esta región es donde vemos un efecto por parte de la suplementación de taurina la cual es capaz de disminuir significativamente tanto a los 15 días como a los 8 meses de edad. (Fig. 28). en la corteza-hipocampo vemos un comportamiento similar al grupo SD control donde hay una disminución significativa en todas las edades, sin que la suplementación de taurina regule estos niveles.

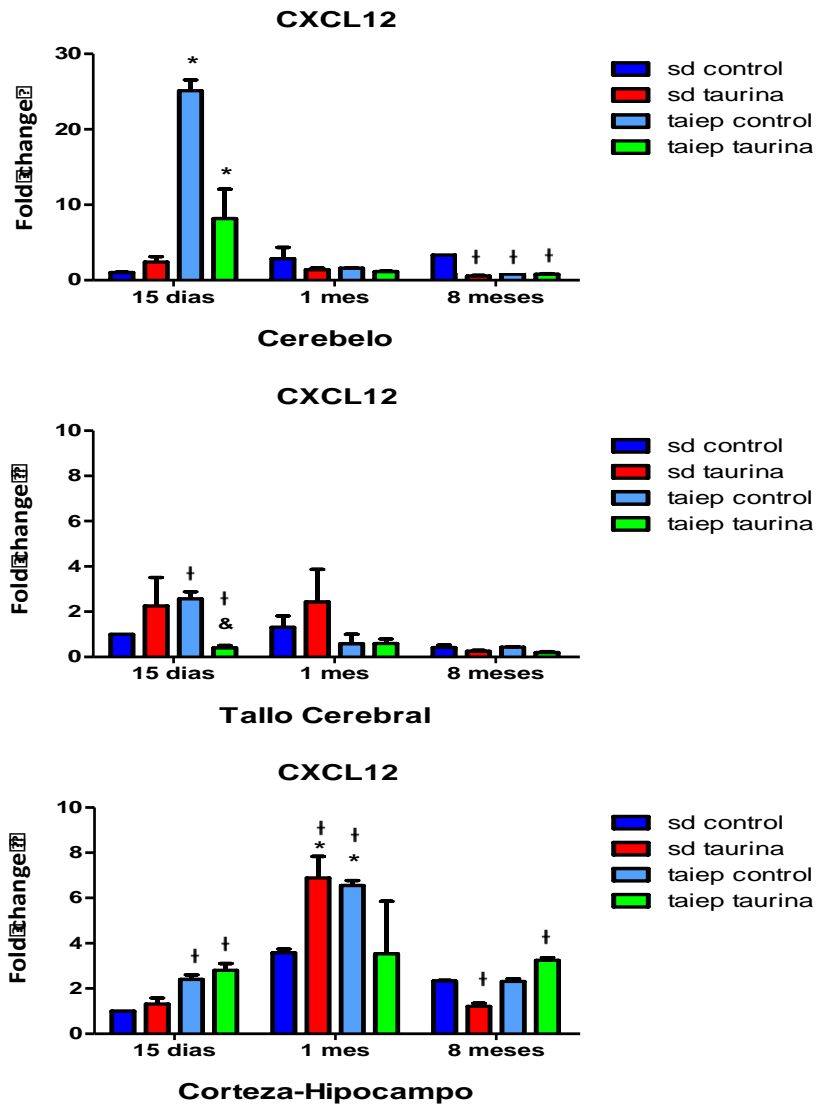


**Figura 28** Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CCR8.

Evaluación del transcrito de CCR8 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

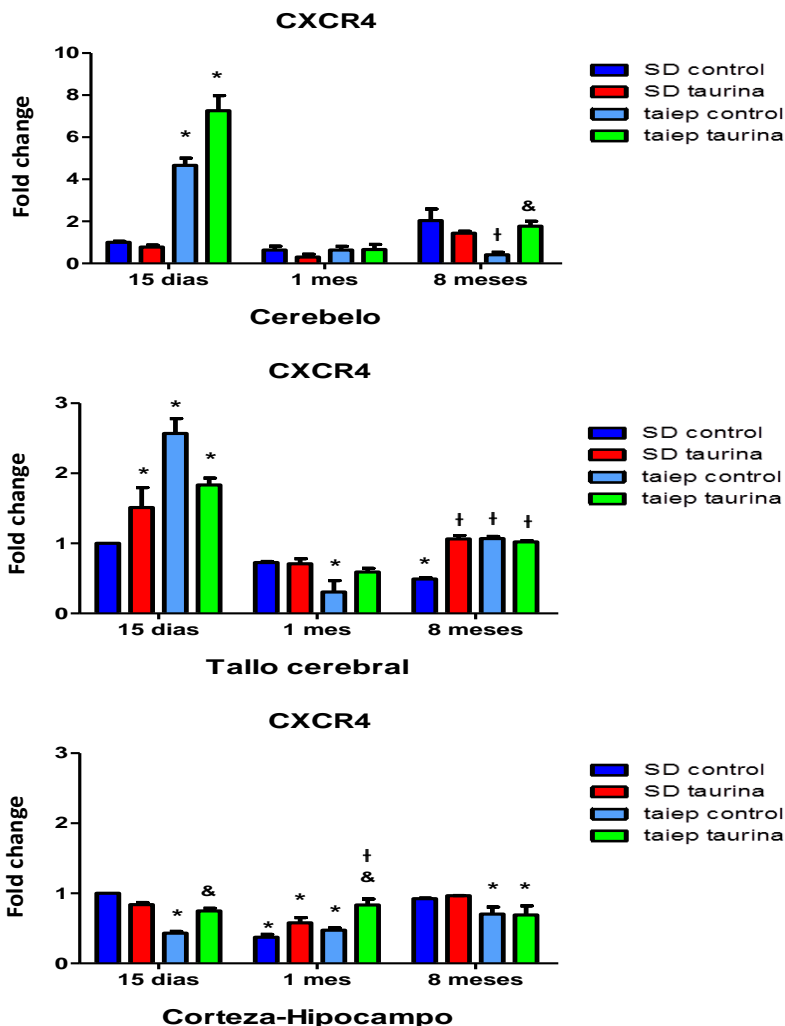
Se estudió también CXCL12, donde observamos que la transcripción no se modificó a través de la edad en ninguna de las regiones, pero la suplementación de taurina produce una disminución significativa en el cerebelo a los 8 meses de edad (2.6,  $P < 0.05$ ) y la corteza-hipocampo (1.12,  $P < 0.05$ ). Por otra parte, en la rata *taiep* presenta un aumento en la transcripción a los 15 días de edad en las 3 regiones: tallo cerebral (1.56,  $P < 0.05$ ), cerebelo (24.1,  $P < 0.05$ , y corteza cerebral (1.4,  $P < 0.05$ ), pero solo en corteza-hipocampo se mantiene al mes de edad (2.9  $P < 0.05$ ); la suplementación de taurina solo fue capaz de disminuir estos niveles a los 15 días en el tallo cerebral (Fig. 29).

Los resultados con respecto al receptor CXCR4 muestran de igual manera que el ligando, no se modifica su transcrito a través de la edad en el cerebelo, tallo cerebral y en la corteza-hipocampo, esto respecto al grupo SD control; donde la suplementación de taurina produce un aumento solamente en la región de tallo cerebral a los 15 días (0.5,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad (0.51,  $P < 0.05$ ) (Fig. 30). En la rata *taiep* el transcrito de CXCR4 se encuentra aumentando estadísticamente a los 15 días de edad en el cerebelo (3.6,  $P < 0.05$ ) y tallo cerebral (1.5,  $P < 0.05$ ), y permaneciendo solo en esta última región un aumento a los 8 meses de edad (0.57,  $P < 0.05$ ), de manera contraria, en la corteza-hipocampo existe una disminución significativa a los 15 días de edad (0.56,  $P < 0.05$ ) y en el cerebelo a los 8 meses de edad (1.4,  $P < 0.05$ ). Taurina regula positivamente en el cerebelo a los 8 meses, mientras que en la corteza-hipocampo a los 15 días y mes de edad comparado con el grupo *taiep* control (Fig. 30).



**Figura 29** Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CXCL12.

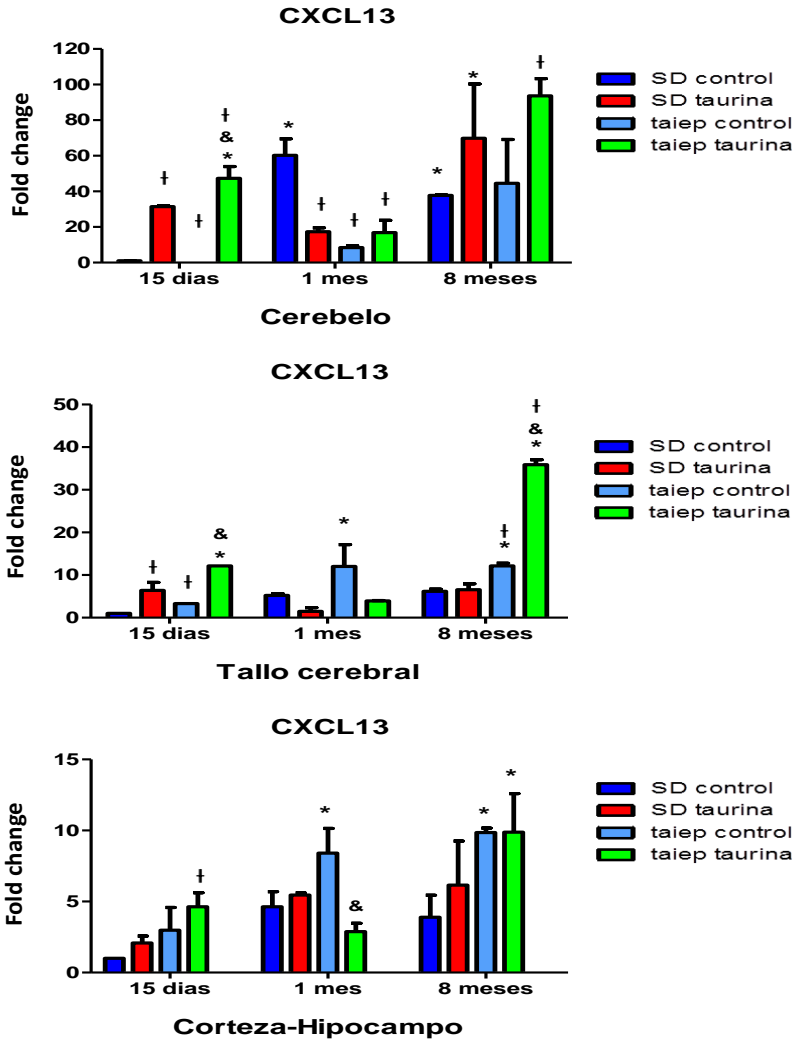
Evaluación del transcrito de CXCL12 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.



**Figura 30** Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CXCR4.

Evaluación del transcrito de CXCR4 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

El transcrito de CXCL13 aumentó en el grupo SD control a través de la edad en la región de cerebelo, sin haber cambios en las regiones de tallo cerebral y corteza cerebral-hipocampo; la administración de taurina produce un aumento significativo a los 15 días de edad tanto en cerebelo (30.6,  $P < 0.05$ ) como en tallo (5.3,  $P < 0.05$ ).

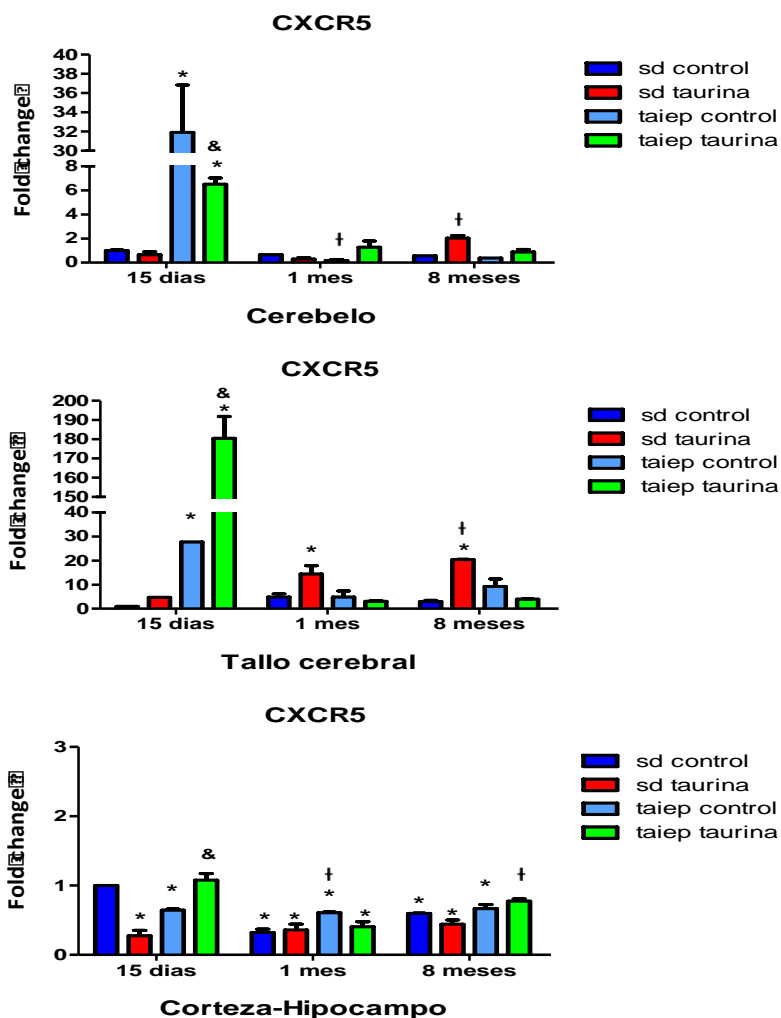


**Figura 31 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CXCL13.**

Evaluación del transcrito de CXCL13 en las regiones de cerebello, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

En la rata *taiep*, el transcrito de CXCL13 se encuentra disminuido significativamente en la región del cerebello a los 15 días (0.98,  $P < 0.05$ ) y al mes de edad (51.8,  $P < 0.05$ ), produciendo la taurina un aumento estadísticamente significativo solo a los 15 días de edad (46.3,  $P < 0.05$ ); por el contrario, en el tallo cerebral existe un aumento estadísticamente significativo a los 15 días (2.1,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad (5.9,  $P < 0.05$ ), donde la taurina produce un aumento aún mayor en estos tiempos (Fig. 31).

Con respecto al receptor CXCR5 en las ratas del grupo control observamos que la suplementación con taurina produce un aumento significativo a los 8 meses de edad en el tallo cerebral (17.4,  $P < 0.05$ ), y en el cerebelo (1.5,  $P < 0.05$ ).



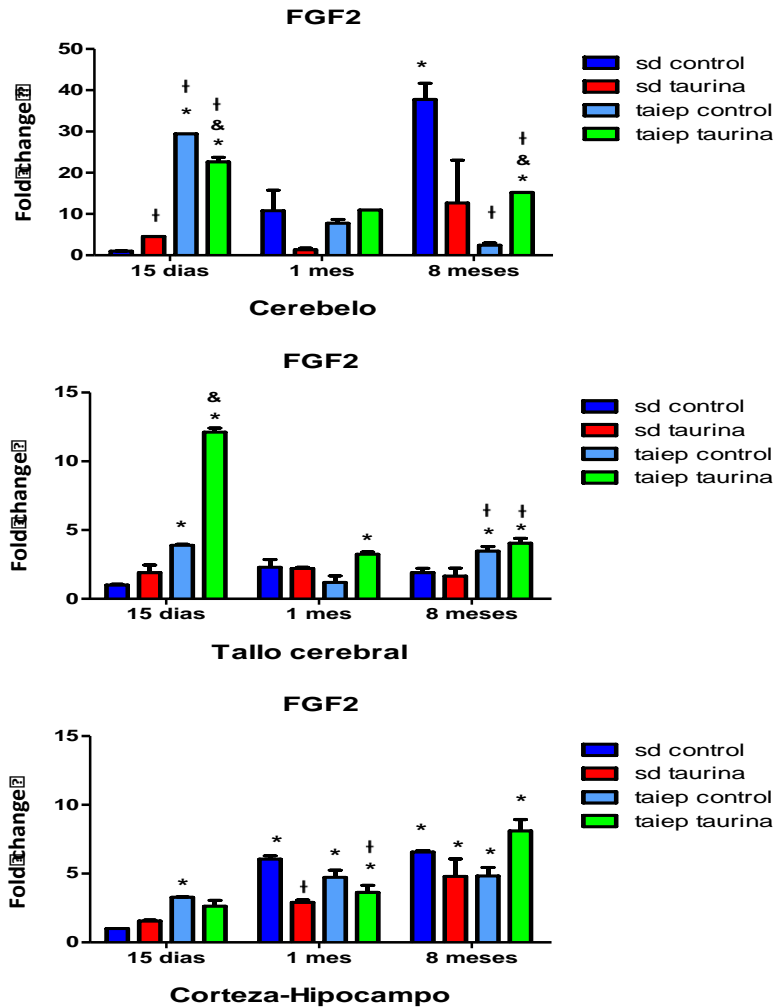
**Figura 32** Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CXCR5.

Evaluación del transcrito de CXCR5 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

En la rata *taiep* existe un aumento estadísticamente significativo del transcrito de CCR5 a los 15 días de edad en el tallo cerebral (26.4,  $P < 0.05$ ) y cerebelo (30.9,  $P < 0.05$ ), teniendo en esta última región una disminución significativa (0.7,  $P < 0.05$ ) al mes de edad, en esta edad de manera contraria en

la región de corteza-hipocampo disminuye significativamente a través de la edad similar al grupo SD control. La suplementación de taurina a los 15 días de edad por un lado genera la disminución significativa en el cerebelo (25.4,  $P < 0.05$ ), pero por otro aumenta significativamente en el tallo cerebral (179,  $P < 0.05$ ) en comparación con la rata *taiep* control. (Fig. 32).

El transcrito de FGF2 en condiciones normales aumentó significativamente conforme a la edad tanto en el cerebelo y la corteza-hipocampo, con la suplementación de taurina en las SD, aumenta el transcrito en el cerebelo a los 15 días (3.7,  $P < 0.05$ ) pero lo disminuye significativamente en la corteza-hipocampo al mes de edad (3.1,  $P < 0.05$ ). Mientras que en la *taiep* obtuvimos un aumento significativo de FGF2 a los 15 días de edad en las regiones de cerebelo (28,  $P < 0.05$ ), tallo cerebral (2.9,  $P < 0.05$ ) y corteza-hipocampo (2.2,  $P < 0.05$ ), manteniendo un aumento significativo solo en la región de tallo cerebral a los 8 meses (1.5,  $P < 0.05$ ), mientras que en cerebelo a esta edad existe una disminución estadísticamente significativa (35.3,  $P < 0.05$ ); la suplementación de taurina aumentó los niveles de FGF2 en esta región y tiempo. Además de regular negativamente los niveles en la corteza-hipocampo a esta misma edad (Fig.33).

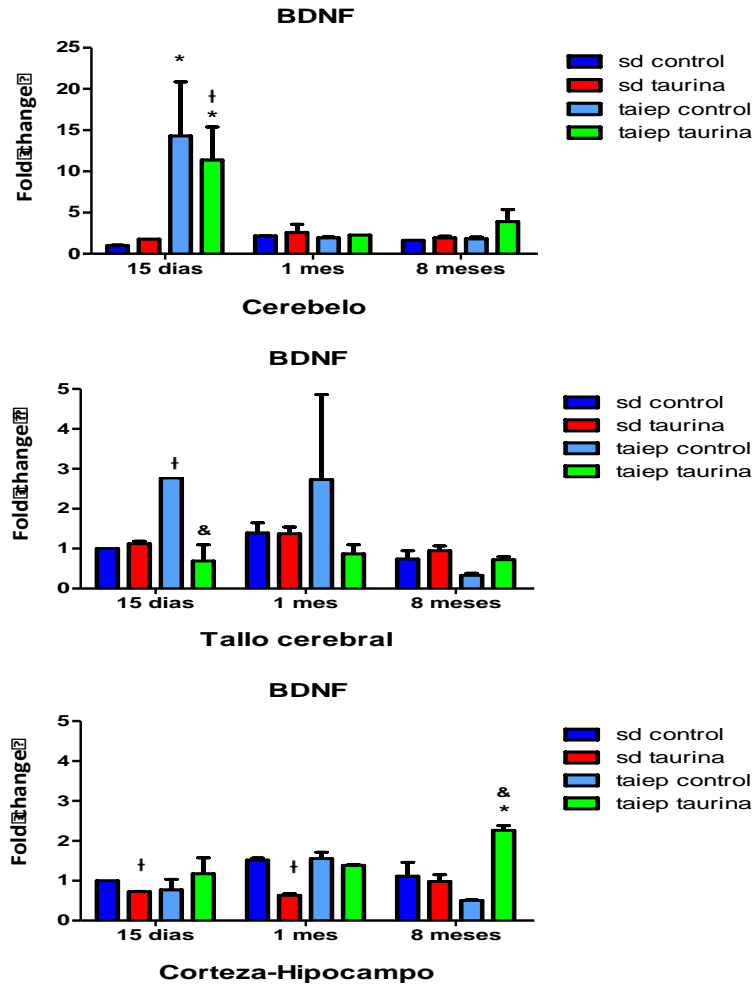


**Figura 33 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de FGF2.**

Evaluación del transcrito de FGF2 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

El transcrito de BDNF no se modificó en ninguna de las regiones y en ningunas de las edades en el modelo control, la suplementación de taurina disminuyó estos niveles solamente en la corteza-hipocampo tanto a los 15 días (0.2,  $P < 0.05$ ) y mes de edad (0.8,  $P < 0.05$ ). En cuanto en la rata *taiep* se encuentra aumentado significativamente a los 15 días tanto en el cerebelo (13.3,  $P < 0.05$ ) como en la región de tallo cerebral (1.7,  $P < 0.05$ ), donde taurina disminuye significativamente (2,  $P < 0.05$ ) en el tallo cerebral en esta edad,

mientras que en la región de corteza-hipocampo no hay diferencias significativas en el grupo *taiep* control, donde la administración de taurina produce un aumento significativo (1.7,  $P < 0.05$ ) solo a los 8 meses de edad (Fig. 34).

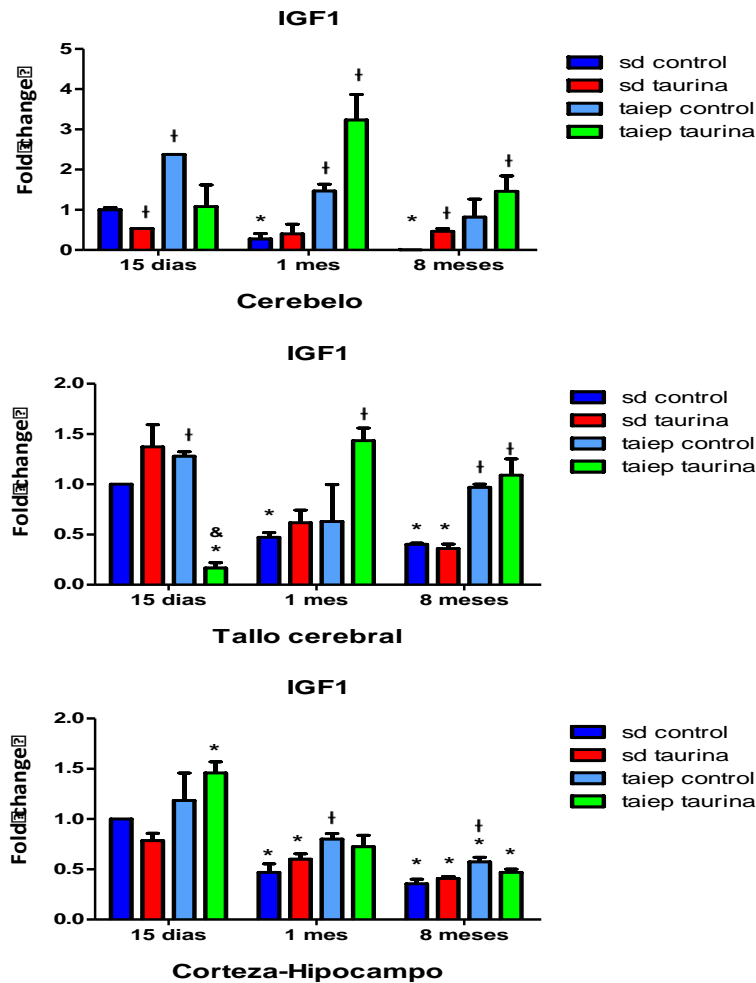


**Figura 34** Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de BDNF.

Evaluación del transcrito de BDNF en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

En la evaluación del transcrito de IGF-1, observamos en el modelo control que es un factor que disminuye conforme a la edad, en cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo, donde la suplementación de taurina disminuye significativamente ( $P < 0.05$ ) el transcrito en la región de cerebelo a los 15 días, pero aumentándolo a los 8 meses. De manera contraria, en la rata *taiep* el

transcrito de IGF-1 aumenta significativamente ( $P < 0.05$ ) dependiente de la edad y la región. La suplementación de taurina regula negativamente en el tallo cerebral a los 15 días (0.4,  $P < 0.05$ ), mientras que al mes de edad regula positivamente en el tallo cerebral (0.96,  $P < 0.05$ ) (Fig. 35).

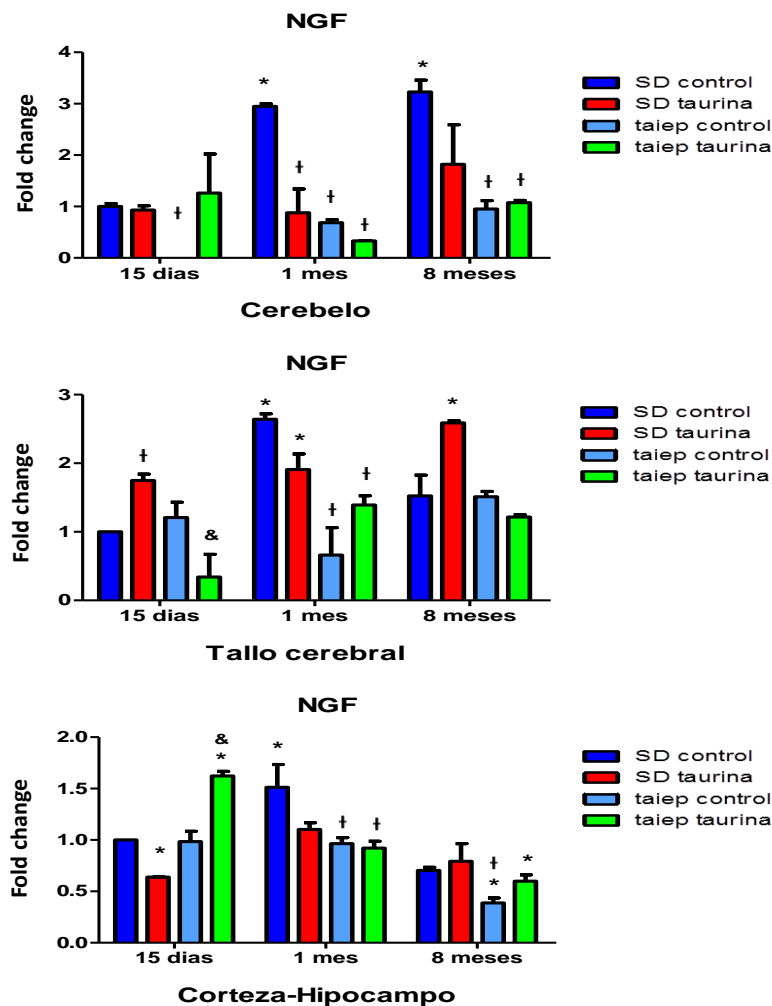


**Figura 35 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de IGF-1.**

Evaluación del transcrito de IGF-1 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

También obtuvimos el transcrito de NGF, el factor de crecimiento neuronal, el cual de igual manera aumenta significativamente en la rata SD dependiente de la edad y de la región. La suplementación de taurina produce un aumento significativo en tallo cerebral a los 15 días de edad (0.7,  $P < 0.05$ ), pero de manera

contraria, disminuyendo el transcrito en el la corteza-hipocampo (0.36,  $P < 0.05$ ), y en el cerebelo al mes de edad (2.07,  $P < 0.05$ ) (Fig. 36). En la rata *taiep*, el transcrito de NGF disminuye significativamente en la región de cerebelo en todas las edades mientras que en el tallo cerebral se encuentra al mes de edad (1.9,  $P < 0.05$ ), y en la corteza-hipocampo al mes y los 8 meses de edad (0.3,  $P < 0.05$ ). La suplementación taurina disminuye significativamente en el tallo cerebral a los 15 días de edad (1.2,  $P < 0.05$ ), pero aumentando el transcrito en corteza-hipocampo (0.6,  $P < 0.05$ ) (Fig. 36).



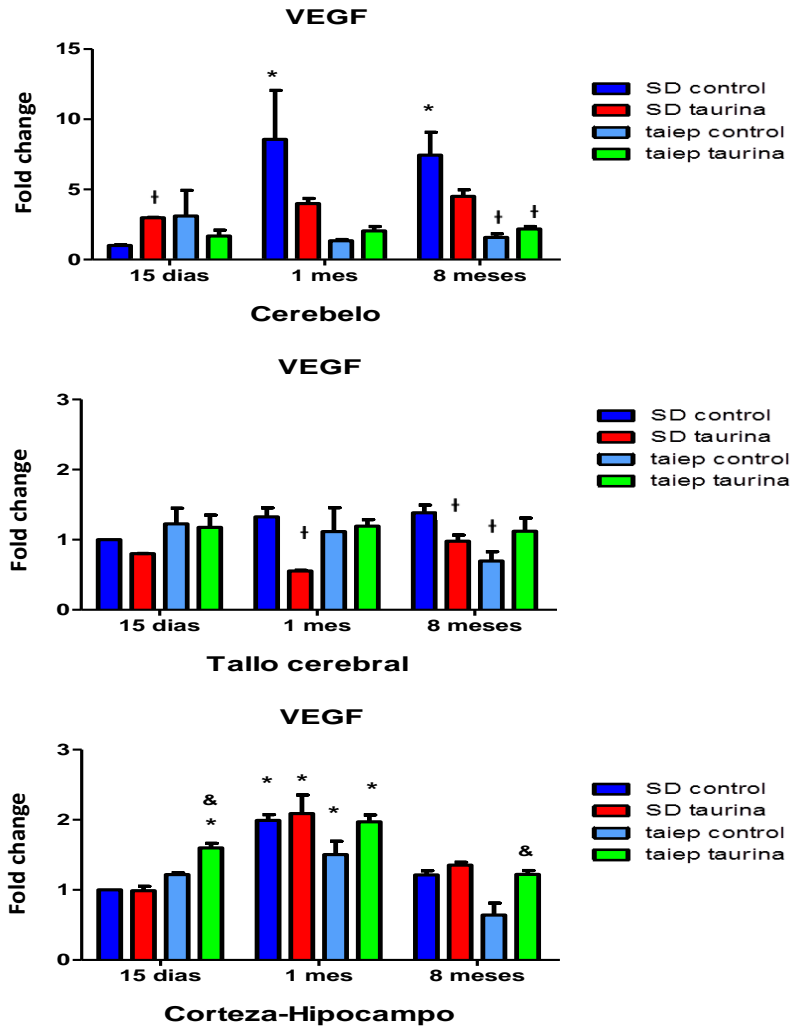
**Figura 36 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de NGF-1.**

Evaluación del transcrito de IGF-1 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

En los resultados obtenidos de VEGF podemos observar el transcrito aumenta significativamente ( $P < 0.05$ ) a través de la edad en la región del cerebelo, pero solamente en la corteza-hipocampo al mes de edad (0.9,  $P < 0.05$ ), la taurina produce un aumento estadísticamente significativo en el cerebelo a los 15 días de edad (1.9,  $P < 0.05$ ), pero reduce los niveles en el tallo cerebral tanto al mes (0.7,  $P < 0.05$ ) como a los 8 meses de edad (0.4,  $P < 0.05$ ).

La rata *taiep* no presenta cambios estadísticamente significativos en los niveles de transcripción de VEGF en edades tempranas, en ninguna de las regiones. Sin embargo, está presente una disminución significativa a los 8 meses de edad en el cerebelo (5.8,  $P < 0.05$ ) y en tallo cerebral (0.6,  $P < 0.05$ ), la suplementación de taurina no produjo cambios en las regiones antes mencionados, sin embargo, en la región de la corteza aumentó significativamente a los 15 días (0.5,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad (0.5,  $P < 0.05$ ) con respecto al grupo *taiep* control (Fig.37).

Por parte del transcrito de GDNF se observa un aumento en el cerebelo al mes de edad (3.4,  $P < 0.05$ ), pero sin ver cambios en las demás regiones del grupo SD control, la suplementación de taurina disminuyó los niveles de GDNF en el tallo cerebral a los 15 días de edad (0.99,  $P < 0.05$ ), pero de manera contraria aumentó significativamente en la corteza-hipocampo en todas las edades evaluadas

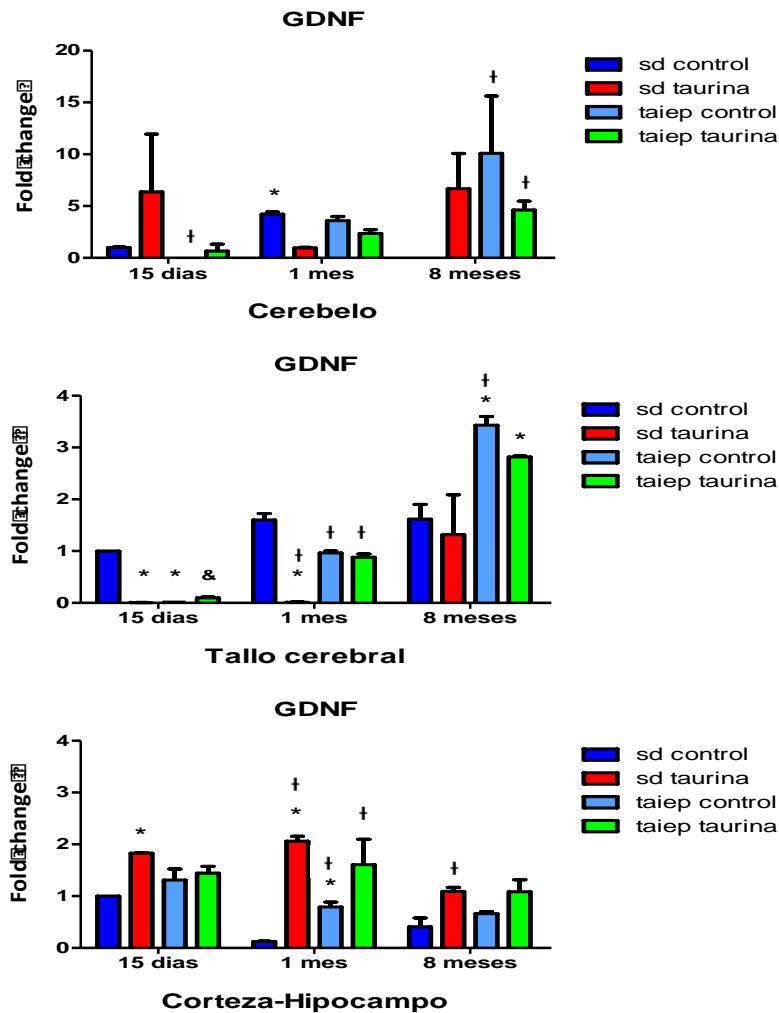


**Figura 37 Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de VEGF.**

Evaluación del transcrito de VEGF en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

. En grupo *taiep* control hay una disminución significativa a los 15 días de edad en el cerebelo (0.97,  $P < 0.05$ ), y en el tallo cerebral (0.98,  $P < 0.05$ ), además en esta última región al mes de edad (0.6,  $P < 0.05$ ) y en la corteza-hipocampo de igual manera (0.6,  $P < 0.05$ ); de manera contraria se presenta un aumento significativo a los 8 meses de edad en el cerebelo (10.7,  $P < 0.05$ ) y en el tallo cerebral (1.8,  $P < 0.05$ ). Por otro lado, los niveles de GDNF a los 8 meses de edad aumentan significativamente tanto en el cerebelo (10.7,  $P < 0.05$ ) y tallo cerebral

(1.8,  $P < 0.05$ ). La suplementación de taurina aumentó significativamente a los 15 días de edad en el tallo cerebral comparado con la *taiep* control (Fig. 38).



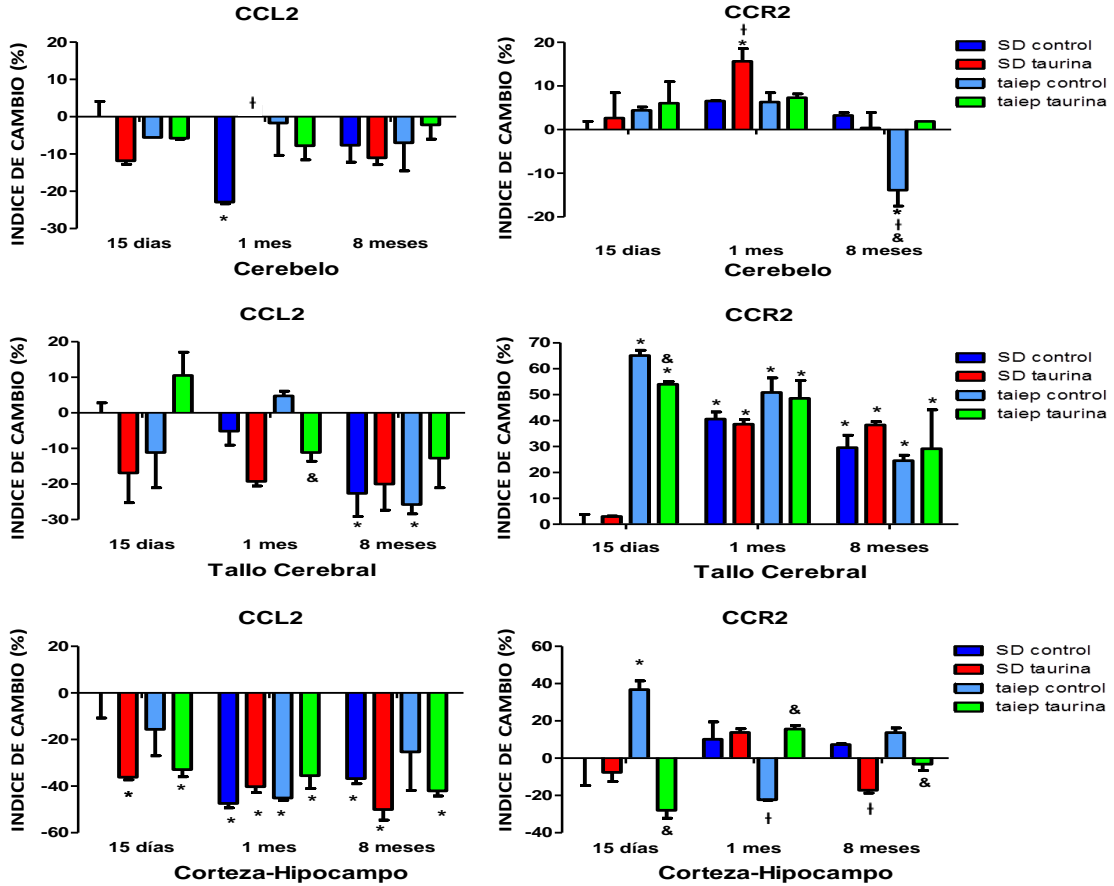
**Figura 38** Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de GDNF.

Evaluación del transcrito de GDNF en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Incluyendo a esto, se estudió la expresión de las quimiocinas: CCL2-CCR2, CCL4-CCR8, CCR1, CCR5, CXCL1-CXCR2, CXCL12-CXCR4, CXCL13-CXCR5 y factores de crecimiento: FGF-2 y BDNF, en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo, en el modelo de la rata *taiep*, ya que se sabe que muchas proteínas no son capaces de traducirse correctamente debido al acumulo de

microtúbulos que existe entre el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi [Lunn et al. 1997]. La administración de taurina de manera crónica podría ser capaz de regular esta expresión, debido a que se ha reportado que puede disminuir la expresión de quimiocinas ante un proceso inflamatorio y de regular positivamente factores de crecimiento.

Unas de las quimiocinas involucradas en el proceso inflamatorio y la cual se estudió su transcrito es CCL2, donde observamos que en la rata SD control muestra una disminución conforme a la edad y dependiente de la región; donde la suplementación de taurina solo regula negativamente de forma a los 15 días de edad en la región de corteza-hipocampo ( $36 \pm 3.3 \%$ ,  $P < 0.05$ ), pero de forma positiva al mes de edad en el cerebelo ( $262 \pm 1.01 \%$ ,  $P < 0.05$ ). De manera similar rata *taiep* no presenta cambios significativos en ninguna de las edades y regiones evaluadas, donde taurina modifica significativamente de manera negativa al mes de edad en el tallo cerebral  $15.94 \pm 3.3 \%$ ,  $P < 0.05$ . El receptor por el cual interactúa CCL2 es CCR2, en donde aumenta significativamente conforme a la edad solamente en el tallo cerebral ( $40.6 \pm 5.7 \%$ ,  $P < 0.05$ ) en condiciones normales; la administración de taurina produce un aumento significativo ( $26 \pm 1 \%$ ,  $P < 0.05$ ) al mes de edad en el cerebelo, pero de manera contraria disminuye ( $17.24 \pm 1.4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) la proteína a los 8 meses de edad en la corteza-hipocampo. En la rata *taiep* se presente un aumento significativo a los 15 días de edad tanto en tallo cerebral ( $65 \pm 9.1 \%$ ,  $P < 0.05$ ) como en corteza-hipocampo ( $36.8 \pm 3.7 \%$ ,  $P < 0.05$ ), mientras que una regulación negativa significativa ( $32 \pm 6 \%$ ,  $P < 0.05$ ) al mes de edad en esta última región, y a los 8 meses de edad en el cerebelo ( $17.1 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ); la administración crónica de taurina tuvo una regulación negativa a los 15 días de edad en tallo cerebral ( $53 \pm 7 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y corteza-hipocampo ( $64.7 \pm 6.7 \%$ ,  $P < 0.05$ ), donde en esta última aumento significativamente ( $37 \pm 1.4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) al mes de edad, pero disminuye ( $16.8 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) a los 8 meses de edad (Fig. 39).



**Figura 39** Efecto de la suplementación de taurina sobre la transcripción de CCL2 y CCR2.

Evaluación del transcrito de CCL2 y CCR2 en las regiones de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a las edades de 15 días, 1 mes y 8 meses. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Se evaluó la expresión de CCL4 y de su receptor CCR8, en donde el ligando en la rata SD control aumenta significativamente ( $46.8 \pm 3 \%$ ,  $P < 0.05$ ) su expresión al mes de edad en el cerebelo, pero disminuye conforme a la edad en el tallo cerebral, donde la administración de taurina solo aumenta significativamente en la corteza-hipocampo al mes de edad ( $31.2 \pm 5 \%$ ,  $P < 0.05$ ). Por otro lado, en la *taiep* no tuvimos diferencias significativas en la expresión de CCL4 en el cerebelo y tallo cerebral mientras que en corteza-hipocampo existe una disminución ( $20.7 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ) al mes de edad y un aumento estadísticamente significativo ( $94 \pm 11.3 \%$ ,  $P < 0.05$ ) a los 8 meses, donde la suplementación de taurina revierte significativamente estos niveles respectivamente (Fig. 40).

El receptor CCR8 en la rata SD aumento los niveles de expresión en el cerebelo a los 8 meses de edad ( $36.8 \pm 3 \%$ ,  $P < 0.05$ ), en donde la suplementación de taurina a los 15 días de edad produce un aumento significativo ( $32.4 \pm 3 \%$ ,  $P < 0.05$ ) En la rata *taiep* existe un aumento significativo de CCR8 en la región de cerebelo a los 15 días ( $33.4 \pm 3 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y al mes tanto en el cerebelo ( $19.5 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y en tallo cerebral ( $25.2 \pm 7 \%$ ,  $P < 0.05$ ), conservando el aumento hasta los 8 meses de edad en estas regiones. CCR8 fue regulado por la suplementación de taurina al mes de edad en ambas regiones, con niveles similares al grupo SD control (Fig. 40).

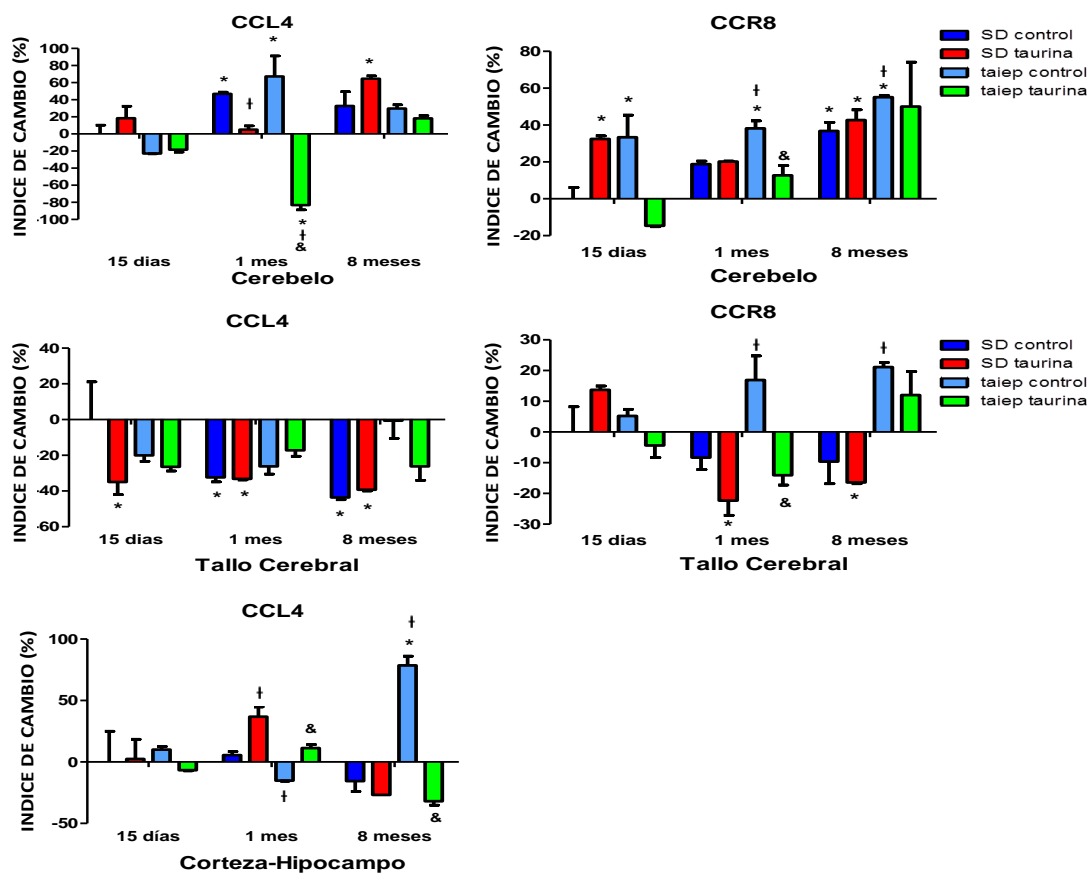
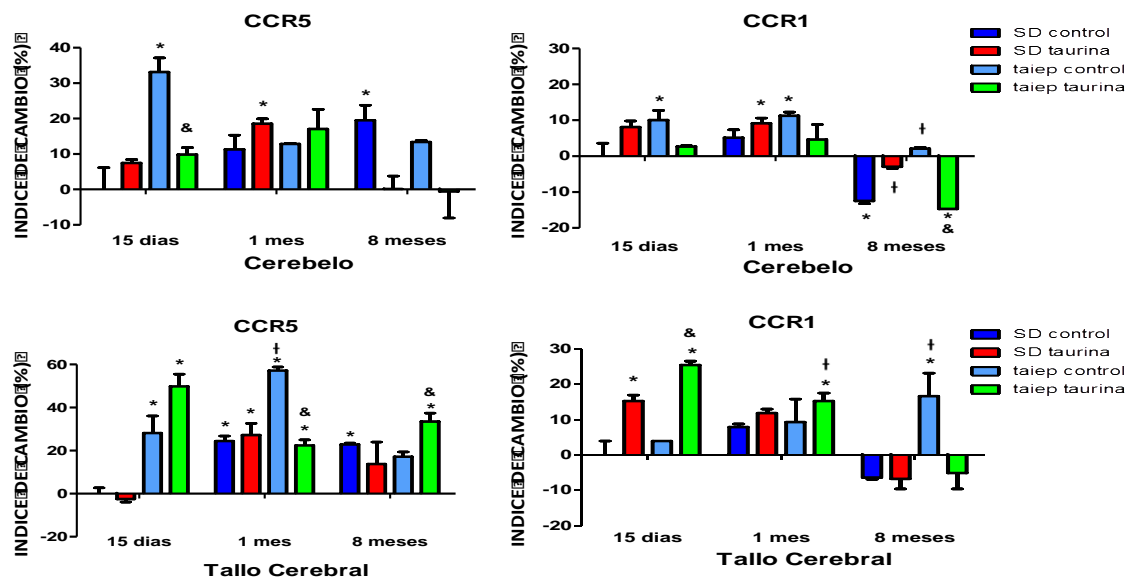


Figura 40 Efecto de la taurina sobre la expresión de CCL4 Y CCR8.

Evaluación de la concentración de CCL4 Y CCR1 en la región de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a diferentes edades: 15 días, 1 y 8 meses en machos SD y *taiep*, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Se evaluaron en el cerebelo y tallo cerebral los receptores CCR5 y CCR1 los cuales se ha reportado que interactúan de manera conjunta en la respuesta ante un daño. Encontramos a CCR5 en la rata SD un aumento significativo solamente en tallo cerebral al mes de edad ( $24.4 \pm 3 \%$ ,  $P < 0.05$ ), mientras que en el cerebelo se encuentra a los 8 meses el aumento de CCR5 ( $19.5 \pm 3 \%$ ,  $P < 0.05$ ), sin que la suplementación de taurina modifique la expresión tanto de CCR5 y de CCR1 (Fig. 41).



**Figura 41** Efecto de la taurina sobre la expresión de CCR5 y CCR1.

Evaluación de la concentración de CCR5 y CCR8 en la región de cerebelo y tallo cerebral a diferentes edades: 15 días, 1 y 8 meses en machos SD y *taiep*, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

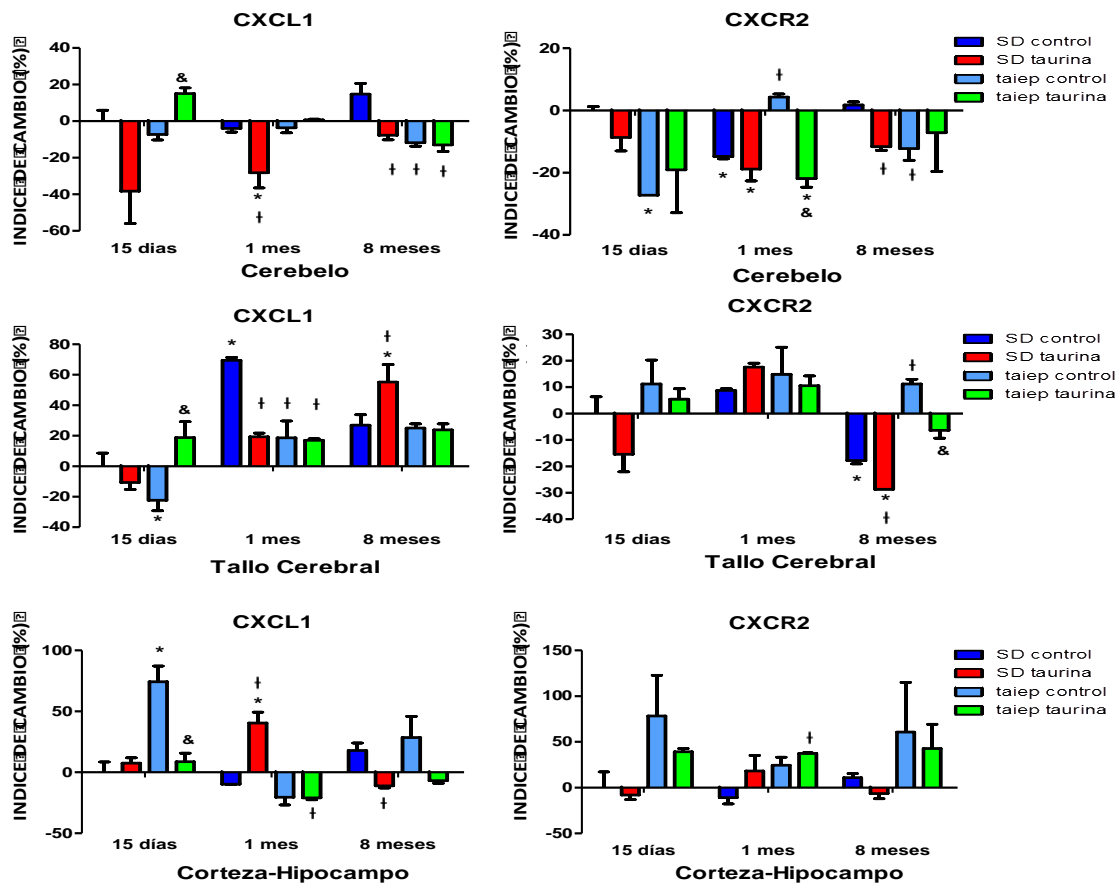
En la rata *taiep* a los 15 días de edad existe un aumento significativo de la expresión de CCR5 en cerebelo ( $33.1 \pm 5 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y tallo cerebral ( $28.1 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y al mes de edad solo en el tallo cerebral ( $32.5 \pm 2.8 \%$ ,  $P < 0.05$ ). La taurina en el cerebelo a los 15 días disminuye CCR5 significativamente ( $23.3 \pm 3 \%$ ,  $P < 0.05$ ). Por otra parte, CCR1 se encontró aumentado de igual forma en la región de cerebelo a los 15 días ( $10.5 \pm 0.8 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad ( $14.6 \pm 0.6 \%$ ,  $P < 0.05$ ), mientras que en el tallo el aumento está presente a los 8

meses de edad ( $23 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ). Siendo la administración de taurina capaz de regular la expresión de este receptor en la rata *taiep* en la región de cerebelo y tallo cerebral, en las edades correspondientes a los incrementos, siendo los valores similares al grupo SD control (Fig. 41).

Los resultados de CXCL1 muestra que sus niveles de expresión se mantienen constantes a través de la edad en las tres regiones, pero viendo un efecto por parte de la taurina, regulando negativamente su expresión en el cerebelo en todas las edades, mientras que en el tallo cerebral solo al mes de edad la disminución es significativa ( $50 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ), y en la corteza-hipocampo los 8 meses ( $28.90 \pm 5 \%$ ,  $P < 0.05$ ). En la rata *taiep* encontramos una disminución de CXCL1 en la región de tallo a los 15 días ( $22.2 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y al mes de edad ( $50.7 \pm 11 \%$ ,  $P < 0.05$ ), mientras que en cerebelo se encuentra disminuida a los 8 meses de edad significativamente ( $26 \pm 6 \%$ ,  $P < 0.05$ ), la corteza-hipocampo aumenta significativamente ( $74.2 \pm 6 \%$ ,  $P < 0.05$ ) a los 15 días. La administración de taurina aumenta los niveles solo a los 15 días en el cerebelo ( $22.4 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y tallo cerebral ( $41 \pm 9 \%$ ,  $P < 0.05$ ), pero de manera contraria los disminuye significativamente en la corteza-hipocampo, siendo los niveles de CXCL1 similar al grupo SD control (Fig. 42). Mientras que su receptor CXCR2 se observa en la rata *taiep* control aumentado a los 8 meses en el tallo cerebral ( $29 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y al mes de edad en el cerebelo ( $19.8 \pm 1.2 \%$ ,  $P < 0.05$ ), pero a los 8 meses se encuentra disminuido significativamente ( $13.9 \pm 1.7 \%$ ,  $P < 0.05$ ) con respecto al grupo SD control; la administración de taurina regula significativamente ( $P < 0.05$ ) este aumento en el tallo cerebral, mientras que en el cerebelo lo logra solo al mes de edad, llevando las concentraciones similares al grupo control (Fig. 42).

Observamos por parte de CXCL12 un aumento estadísticamente significativo ( $14.5 \pm 1.3 \%$ ,  $P < 0.05$ ) en el grupo SD control a los 8 meses de edad en el cerebelo, pero de manera contraria en la región de tallo cerebral ( $33 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) a la misma edad; viendo un aumento significativo ( $19.8 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ) por la suplementación de taurina en el cerebelo a los 8 meses de edad. En la *taiep*

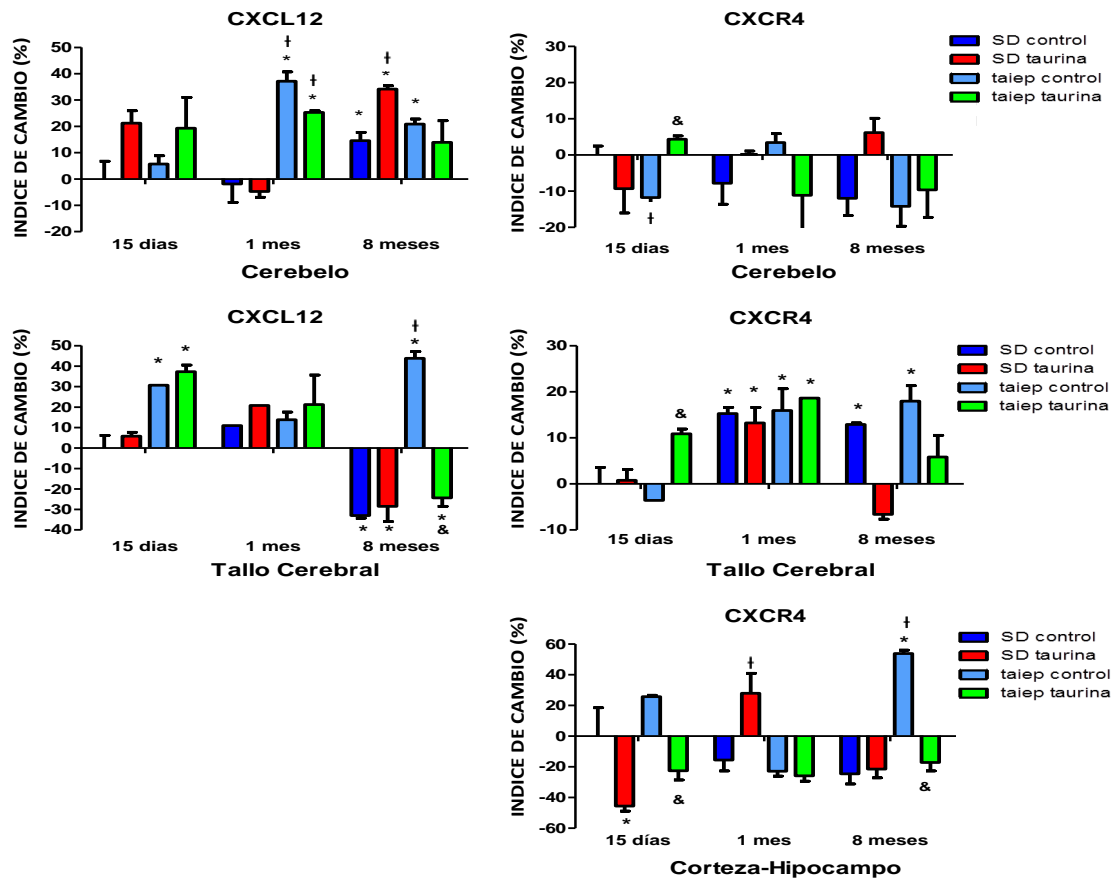
se encuentra un aumento estadísticamente significativo a los 15 días ( $31.4 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad ( $68.2 \pm 5.2 \%$ ,  $P < 0.05$ ) en la región de tallo cerebral, mientras que en el cerebelo este aumento ( $39 \pm 6 \%$ ,  $P < 0.05$ ) está presente al mes de edad; en donde la taurina evita el aumento a los 8 meses de edad en el tallo, siendo valores similares a la rata SD control; en el cerebelo disminuyó la expresión de CXCL12 al mes de edad significativamente, pero aun mostrando un aumento estadísticamente significativo ( $26.9 \pm 5 \%$ ,  $P < 0.05$ ) con respecto al modelo control (Fig. 43).



**Figura 42** Efecto de la taurina sobre la expresión de CXCL1 y CXCR2.

Evaluación de la concentración de CXCL1 y su receptor CXCR2 en la región de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a diferentes edades: 15 días, 1 y 8 meses en machos SD y *taiep*, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

Su receptor CXCR4 en la rata SD aumenta conforme a la edad en la región de tallo cerebral, pero sin modificarse en las otras regiones. La suplementación de taurina en la corteza-hipocampo disminuyó significativamente ( $45.5 \pm 3 \%$ ,  $P < 0.05$ ) a los 15 días de edad, pero aumentó su expresión significativamente ( $43 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) al mes de edad (Fig. 43).



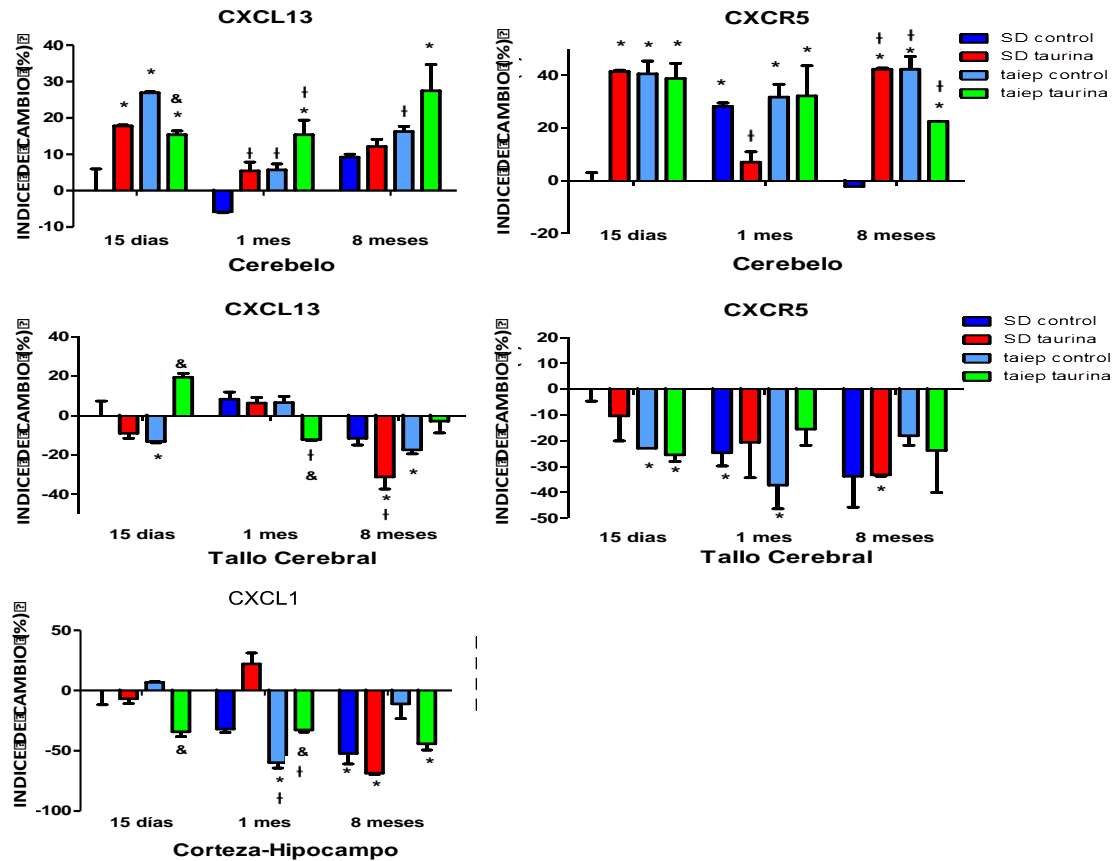
**Figura 43** Efecto de la taurina sobre la expresión de CXCL12 y CXCR4.

Evaluación de la concentración de CXCL12 y el receptor CXCR4 en la región de cerebelo y tallo cerebral a diferentes edades: 15 días, 1 y 8 meses en machos SD y taiep, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

En la rata taiep existe una disminución estadísticamente significativa de CXCR4 a los 15 días de edad en el cerebelo ( $11.7 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ), sin embargo en la corteza-hipocampo aumenta significativamente ( $70.4 \pm 5 \%$ ,  $P < 0.05$ ) a los 8 meses de edad; la taurina regula positivamente a los 15 días en la región de

cerebelo ( $16 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y tallo cerebral ( $10.9 \pm 1 \%$ ,  $P < 0.05$ ), mientras que en corteza-hipocampo disminuye ( $98 \pm 7 \%$ ,  $P < 0.05$ ) la expresión de CXCR4 a los 15 días de edad y a los 8 meses de edad siendo valores similares al grupo SD control (Fig. 43).

La quimiocina CXCL13 en los resultados obtenidos en la rata SD, existe una disminución estadísticamente significativa ( $52.2 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) a los 8 meses de edad en la corteza-hipocampo, sin ver cambios en las otras regiones a través de los tiempos estudiados, pero produciendo la suplementación de taurina un aumento significativo ( $17.8 \pm 3 \%$ ,  $P < 0.05$ ) a los 15 días de edad en el cerebelo, de manera contraria disminuye ( $20.1 \pm 5 \%$ ,  $P < 0.05$ ) CXCL13 a los 8 meses de edad en el tallo cerebral. En la *taiep* el ligando aumenta significativamente ( $P < 0.05$ ) a través del envejecimiento en el cerebelo, mientras que en el tallo cerebral y corteza-hipocampo disminuyen a los 15 días ( $13.5 \pm 0.6 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y mes de edad ( $27.6 \pm 6 \%$ ,  $P < 0.05$ ) respectivamente, en esta última región la administración de taurina disminuye significativamente la expresión a los 15 días ( $40 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y mes de edad ( $27.1 \pm 5 \%$ ,  $P < 0.05$ ), en el cerebelo disminuye ( $11.5 \pm 1.1 \%$ ,  $P < 0.05$ ) a los 15 días de edad, pero al mes de edad produce un aumento significativo ( $15.38 \pm 3 \%$ ,  $P < 0.05$ ); en el tallo cerebral el efecto es contraria ya que la suplementación de taurina aumenta CXCL13 a los 15 días ( $32.5 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ), y al mes de edad disminuye ( $11.5 \pm 1.6 \%$ ,  $P < 0.05$ ) (Fig. 43). El receptor CXCR5 mostro en la rata *taiep* un aumento estadístico a los 15 días ( $40.5 \pm 5 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y 8 meses de edad ( $42.9 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) en la región del cerebelo, viendo una regulación negativa por parte de la suplementación de taurina. Mientras que, en el tallo cerebral, aumenta significativamente ( $24.8 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ) solo a los 15 días de edad, sin que la suplementación de taurina modifique la expresión del receptor (Fig. 44).



**Figura 44. Efecto de la taurina sobre la expresión de CXCL13 y su receptor CXCR5.**

Evaluación de la concentración de CXCL13 y CXCR5 en la región de cerebello, tallo y corteza-hipocampo a diferentes edades: 15 días, 1 y 8 meses en machos SD y *taiep*, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

La expresión de FGF2 en la rata SD muestra un regulación negativa en el cerebello con forme a la edad, de igual forma BDNF pero en las regiones de tallo cerebral y corteza-hipocampo, la administración de taurina sobre la expresión de FGF2 produce una disminución significativa ( $18.6 \pm 3 \%$ ,  $P < 0.05$ ) a los 15 días de edad en el cerebello, mientras que por parte de BDNF regula positivamente al mes de edad en tallo cerebral ( $32.4 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y cerebello ( $48.6 \pm 5 \%$ ,  $P < 0.05$ ), permaneciendo en esta ultima la regulación positiva ( $43.5 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ) a los 8 meses de edad. La rata *taiep* mostro una disminución significativa de FGF2 a los 15 días en el cerebello ( $4.6 \pm 0.7 \%$ ,  $P < 0.05$ ), como también ya había sido

reportado por Soto Rodríguez, pero observando un aumento a los 8 meses de edad en la corteza-hipocampo ( $97.1 \pm 7 \%$ ,  $P < 0.05$ ); la taurina produce una regulación positiva de FGF-2 al mes de edad en el tallo cerebral ( $15.6 \pm 0.7 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y la corteza-hipocampo ( $47.1 \pm 2 \%$ ,  $P < 0.05$ ), pero en el cerebelo a esta edad disminuye la expresión significativamente ( $22.1 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ), y a los 8 meses en la corteza-hipocampo ( $67.7 \pm 5 \%$ ,  $P < 0.05$ ). En cuanto a BDNF en la rata *taiep* se encuentra una regulación positiva estadísticamente significativa al mes de edad en el tallo cerebral ( $36.1 \pm 5 \%$ ,  $P < 0.05$ ) y cerebelo ( $33.8 \pm 4 \%$ ,  $P < 0.05$ ), pero manteniéndose en esta última a los 8 meses de edad, la suplementación de taurina no modifica estos niveles de BDNF (Fig.45).

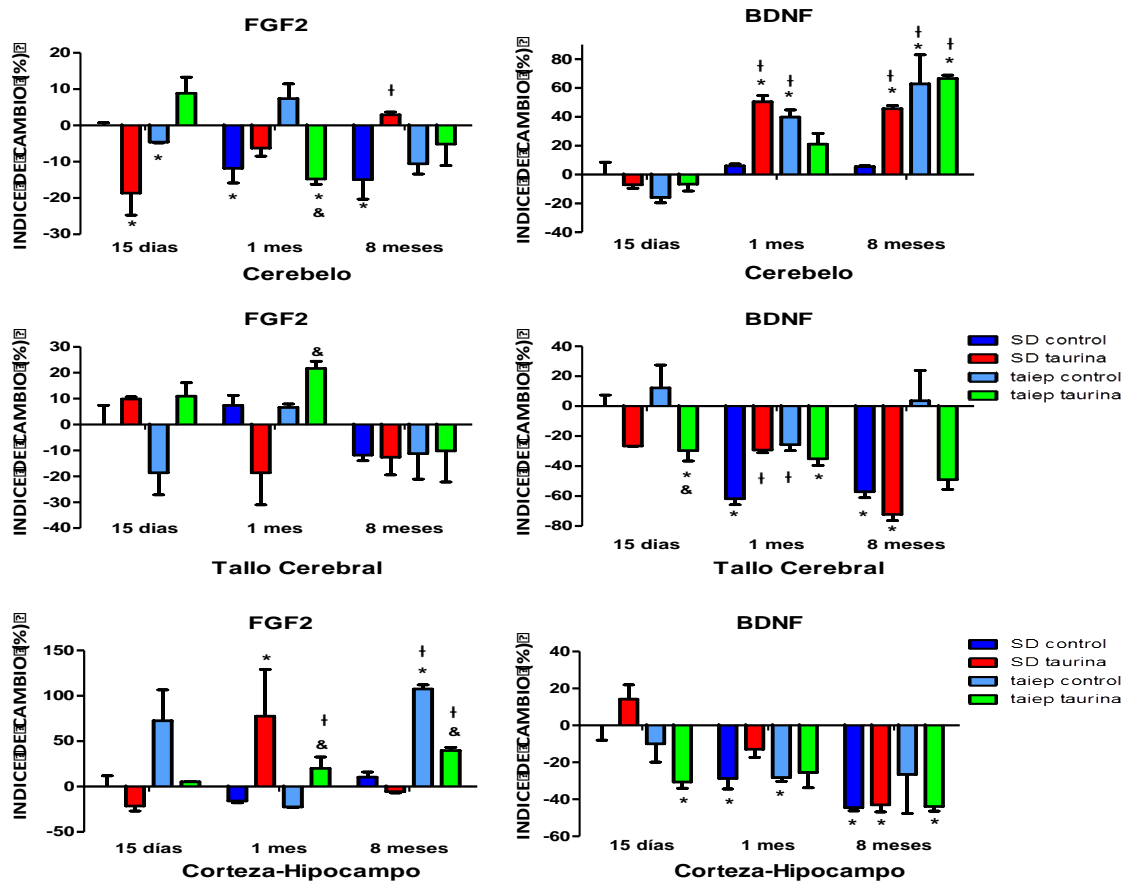


Figura 45 Efecto de la taurina sobre la expresión de FGF2 y BDNF.

Evaluación de la concentración de FGF2 y BDNF en la región de cerebelo, tallo cerebral y corteza-hipocampo a diferentes edades: 15 días, 1 y 8 meses en machos SD y *taiep*, control y con suplementación con taurina. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$  ANOVA con *post hoc* Dunnett se compara con grupo control sin tratamiento de 15 días de edad; †  $P < 0.05$  empleando la prueba de la t de Student en cada grupo comparado con el grupo SD control y &  $P < 0.05$  empleando t de Student para comparar el tratamiento en nuestro grupo problema.

## DISCUSIÓN

La rata taiep es un modelo animal de una patología desmielinizante, en la que las crías nacen con un alto grado de hipomielinización la cual avanza progresivamente hasta la desmielinización cefalocaudal, con lo que aparecen diferentes síntomas los cuales son dependientes de la edad de la rata y del grado de desmielinización, se han postulado una gran variedad de mecanismos moleculares que tratan de explicar el daño a los oligodendrocitos, sin embargo hasta el momento no se conoce si la hipomielinización y la desmielinización afectan a los procesos cognitivos, en éste trabajo se evaluaron las capacidades cognitivas de la rata taiep a edades infantiles, sin embargo ésta no mostró un daño cognitivo en edades tempranas y la suplementación de taurina no ejerce cambio alguno sobre el aprendizaje y memoria de largo plazo de referencia espacial y de la memoria de referencia no espacial. Resultados similares demuestran que la administración de taurina subaguda no modifican el aprendizaje y la memoria en ratas cognitivamente intactas, sin embargo, incrementa la distancia y la velocidad de nado [Ito K. et al., 2009].

El efecto de la suplementación de taurina depende de las concentraciones administradas así como de las condiciones patológicas del individuo ya que sólo en la rata macho Sprague-Dawley causó daño desde edades tempranas, reflejado en la pérdida de la memoria de referencia no espacial medida por NOR, produciendo un deterioro en los procesos cognitivos. Esto relacionado con los estudios realizados por Rie Suge et al., donde la suplementación de taurina desde la etapa perinatal y neonatal modifica la función hipocampal y produce un retraso en el aprendizaje y memoria en la edad adulta. Mientras que la suplementación de taurina desde la gestación tiene un efecto neuroprotector cuando existe un daño cerebral, donde se ha visto que mejora el aprendizaje en las crías donde la madre consumió alcohol [Ananchaipatana et al., 2015] y en ratas intoxicadas con plomo [Fan et al., 2009]. Además, en un modelo de ratón de Alzheimer, la taurina produce la recuperación del aprendizaje y la memoria [Javed H. 2013], donde protege las neuronas piramidales hipocampales, disminuyendo el deterioro cognitivo y actividades neuroconductuales [Kim H. et al., 2014].

Este efecto diferencial podría ser debido a que en condiciones fisiológicas la suplementación de taurina desde la etapa embrionaria además de inhibir el desarrollo neuronal, produce una acumulación de taurina en la región de la corteza-hipocampo, aumentando los niveles de homocisteína, que con lleva al aumento de especies reactivas de oxígeno, las cuales producen un daño celular [Berning et al. 2013] causando pérdida del proceso de aprendizaje-memoria [N. Dale y E.R. Kandel, 1993]. Mientras que en la rata *taiep*, tanto machos como hembras no mostraron un déficit cognitivo a pesar de los procesos de desmielinización, ya que no se produce dicha acumulación, posiblemente a que la taurina se encuentre regulando algunas de las alteraciones presentes en la rata *taiep* como el estrés nitrosativo [Leon-Chavez et al. 2006], actuando como un agente antioxidante o regulando la liberación de glutamato que incrementa progresivamente durante el desarrollo, la cual se determinó por medio de estudios electrofisiológicos [Fuenzalida et al., 2009, Bonansco et al., 2007], a través de su efecto antagonista de los receptores NMDA [Wu et al., 2005] por su unión a la subunidad GluN2B [Chan et al., 2015], disminuyendo así la activación por glutamato y por su efecto agonista sobre los receptores GABAérgicos [Wu y Prentice et al., 2010]. Sin embargo, se ha visto que en la corteza la taurina facilita la neurotransmisión excitadora mediante la activación del receptor glicina [Qian et al., 2014; Sava et al., 2014].

La suplementación de taurina no afecto los procesos de aprendizaje-memoria de referencia espacial y no espacial en hembras SD debido a que se conoce que los estrógenos actúan como un agente neuroprotector a través de su efecto anti-oxidante [Marin et al, 2005; Amantea et al, 2005] contrarrestando el daño producido por ROS que se observó en las ratas macho SD. Los estrógenos también disminuyen los niveles de taurina mediante la inhibición de cisteína sulfínico ácido descarboxilasa y cisteína dioxigenasa, enzimas que participan en su biosíntesis [Ma Q. et al., 2015].

## La suplementación de taurina disminuyó los Episodios de inmovilidad

Al ir evolucionando la desmielinización en la rata *taiep* se producen episodios de inmovilidad los cuales dependen de la edad, en este trabajo se encontró que los episodios de inmovilidad en la *taiep* presentan un comportamiento similar a lo previamente reportado, iniciando a los 6 meses, aumentando su frecuencia a los 8 meses de edad [Cortes et al., 2005]; presentando un dimorfismo sexual, por lo que son los machos los que tienen mayor tiempo de duración y ocurren con mayor frecuencia en comparación con las hembras [Cortes et al. 2005]. Los núcleos pontino reticular y noradrenérgicos reduce la descarga antes y durante la catalepsia [Siegel et al., 1991, 1992] y este es asociado con un incremento de liberación de GABA y glicina en las motoneuronas [Kodama T. et al., 2003]. La suplementación de taurina en la rata *taiep* se perfila como un agente terapéutico contra los EIs ya que disminuye tanto la duración como la frecuencia con la que ocurren, como ha sido reportado en un modelo de catalepsia inducida por haloperidol [Zebrowska-Lupina y Porowska, 1987], los mecanismos posiblemente que se han planteado para dichos efectos son mediados tanto por su influencia sobre la transmisión glutamatérgicas como por su acción agonista de los receptores GABA<sub>A</sub> y de glicina [Lidsky et al., 1995; Wu y Prentice 2010], lo cual disminuye las concentraciones de calcio en las neuronas, que están asociadas con la actividad epiléptica convulsiva [Junyent et al., 2010]. Sin embargo, la suplementación crónica de taurina causa una desensibilización del receptor GABA<sub>A</sub>, y produce una regulación negativa del receptor y una disminución de GABA a través del incremento de las isoformas de GAD [El Idrissi et al., 2006], por lo que la suplementación de taurina de forma crónica en edades adulta podría disminuir los episodios de inmovilidad en la rata *taiep*.

## La suplementación de taurina disminuyó el Estrés nitrosativo

Previamente nuestro grupo de investigación ha demostrado que el estrés oxidativo/nitrosativo juega un papel preponderante en el desarrollo de la patología *taiep* sin embargo se sabe que el incremento de NO en ratas controles desde

edades tempranas en las regiones de médula espinal, tallo cerebral, cerebelo y núcleos subcorticales, juega un papel fisiológico en el cerebro, el cual ha sido asociado en la neuromodulación, neurotransmisión, neuroplasticidad sináptica, y maduración neuronal [Calabrese et al., 2004], de igual forma se sabe que en edades adultas está involucrado en procesos neurodegenerativos, ya que se encontró relacionado con el incremento de la lipoperoxidación en la médula espinal, cerebelo y núcleos subcorticales. Siendo este efecto en mayor grado en las ratas macho. Esta diferencia del estrés nitrosativo donde las hembras son menos susceptibles ha sido asociado con la presencia de estrógenos, donde tiene un papel protector contra disfunciones vasculares, regulando positivamente a la eNOS [Leblanc et al., 2009], y disminuyendo a la iNOS [Cau et al., 2012]. Las vías de señalización que activa los estrógenos son ERK, IP3K y Akt en corteza e hipocampo que están involucrados en la expresión de genes cuyas proteínas tienen un efecto antioxidantes [Singer C. Et al., 1999,] y anti-apoptóticos [Ahmad S. et al., 1999].

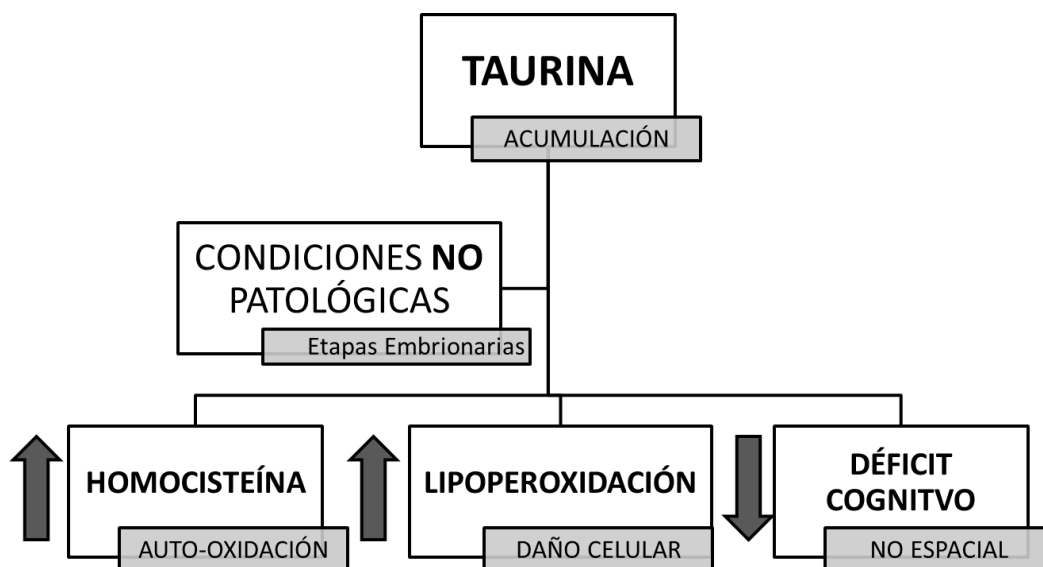
La suplementación crónica de taurina desde edades gestacionales en la rata macho SD causó toxicidad; incrementando los niveles de lipoperoxidación sin incremento de los niveles de NO, debido a que produce un aumento de homocisteína, la cual a través de su auto-oxidación aumenta los niveles de especies reactivas de oxígeno causando un daño celular [Berning et. al., 2013] observado en edades tempranas en la región médula espinal y tallo cerebral, mientras que en edades tardías en núcleos subcorticales y corteza cerebral-hipocampo, siendo esta ultima la región más afectada y viéndose reflejado en un déficit en la memoria de referencia no espacial evaluado por la prueba de NOR. La taurina también incrementó la lipoperoxidación en edades tempranas de ratas hembra SD, pero en menor grado que el macho SD. Se ha visto que la taurina regula la actividad de las hormonas relacionadas con el eje hipotalámico-hipófisis-ovárico, aumentando la secreción de neuroestrógenos [Mu et al., 2015], esto promovería el mantenimiento del efecto antioxidante disminuyendo la lipoperoxidación encontrado en las ratas hembras.

Los resultados encontrados en la rata *taiep* corroboran el aumento del estrés nitrosativo [Leon-Chavez et al 2006] relacionado con el aumento de la lipoperoxidación reportado por Soto-Rodriguez et al., en el 2012 que se ve asociado con la desmielinización progresiva [Möller et al., 1997 y O'connor et al., 2000], principalmente en las zonas que son ricas en mielina. El estrés nitrosativo podría deberse a la desregulación de la liberación de glutamato que se ha sugerido que está presente en la *taiep* [Bonansco et al., 2007, Fuenzalida et al. 2009]. El estrés oxidativo ha sido relacionado con la lipoperoxidación y precede al proceso inflamatorio en otras enfermedades desmielinizantes como es el caso de la esclerosis múltiple [Wang et al., 20014]. El estrés nitrosativo en las ratas hembra *taiep* en edades tempranas presentan un comportamiento similar a la rata macho, pero en menor grado, mientras que a los 8 meses de edad no se encontró el aumento de la lipoperoxidación como sucedió en el macho, debido a la acción neuroprotectora de los neuroestrógenos.

Sin embargo, la suplementación de taurina desde la gestación en la rata *taiep* disminuye el estrés nitrosativo desde edades tempranas posnatales y en edades adultas en ratas machos, disminuyendo el aumento de la producción de nitritos y de la lipoperoxidación en las regiones que presenta aumento del estrés celular. El efecto de la suplementación crónica de taurina podría ser debido a que actúa como un neuromodulador inhibitorio sobre los receptores NMDA, disminuyendo así la entrada de calcio y la actividad de las NOS constitutivas, por otra parte, también induce regulación negativa de la expresión de iNOS a través de la inhibición de la vía de señalización de NFκB [Barua et al., 2001, Sugiura et al., 2013], además de su capacidad de incrementar enzimas antioxidantes como la glutatión peróxidasa y catalasa [Jang et al., 2009, Kim et al., 2010], con ello la disminución de la lipoperoxidación desde edades tempranas, sugiriendo una disminución del daño neuronal.

Con estos resultados se observa un papel dual por parte de la suplementación de taurina desde la etapa embrionaria, que dependerá del estado patológico en el que se encuentre el animal, por una parte en animales sanos produce un daño

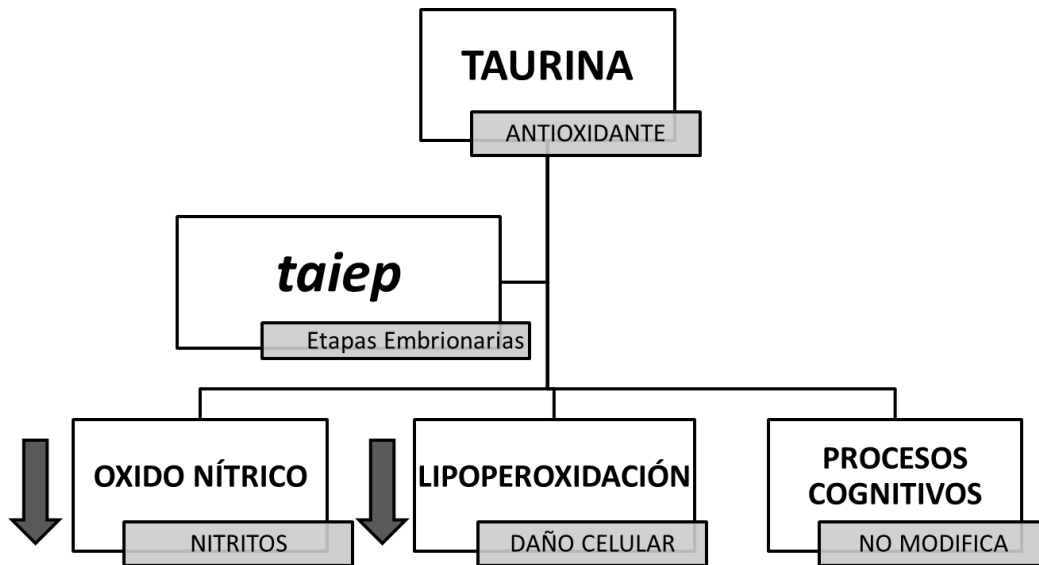
celular observado por el aumento del estrés nitrosativo asociado al aumento de la lipoperoxidación en la región de corteza-hipocampo desde edades tempranas, que al ser una de las regiones involucradas en los procesos cognitivos [ref], se ve reflejado en un déficit en el aprendizaje-memoria de referencia no espacial en las ratas SD (Fig. 46).



**Figura 46 Efecto citotóxico de la suplementación de taurina.**

La suplementación de taurina desde la etapa embrionaria en animales sanos, produce un aumento de homocisteína, que con lleva al aumento del anión superóxido por su auto-oxidación, ocasionando un daño neuronal, que se ve reflejado en el aumento de la lipoperoxidación y en la disminución de la memoria de referencia no espacial.

De manera contraria, la suplementación de taurina en condiciones patológicas, como lo es la rata *taiep*, presenta un efecto antioxidante desde edades tempranas en cada una de las regiones cerebrales, al ser capaz de disminuir el estrés nitrosativo viéndose reflejado en la disminución de la lipoperoxidación, siendo un agente neuroprotector al disminuir el daño celular que se encuentra en la rata *taiep* (Fig. 47).



**Figura 47 Efecto antioxidante de la suplementación de taurina.**

La suplementación de taurina en la rata *taiep*, tiene un efecto antioxidante, siendo capaz de disminuir el estrés nitrosativo, asociado con la disminución de la lipoperoxidación, disminuyendo el daño celular en la mutante de mielina, sin modificar los procesos de aprendizaje-memoria de referencia espacial y no espacial.

### La suplementación de taurina disminuyó las Sintetas del óxido nítrico y enzimas antioxidantes

En el aumento del estrés oxidativo/nitrosativo participan enzimas encargadas de la producción de óxido nítrico, como son la NOS. Los transcritos de las isoformas de NOS en la rata control no es modificado a lo largo del tiempo, mientras que la administración de taurina aumentó eNOS en corteza cerebral y tallo cerebral al mes de edad y la isoforma iNOS desde los 15 días y hasta los 8 meses de edad en cerebelo. Estos resultados muestran que la suplementación de taurina durante la gestación produce un aumento del transcrito de NOS en una rata sana, pero que no se asocia al daño inducido principalmente en corteza cerebral, reflejado por la disminución en el aprendizaje-memoria observado en ratas jóvenes.

Los resultados en la rata *taiep* sugieren que existe un aumento en la producción de NO en los primeros días de edad debido a un aumento en la transcripción de nNOS y de eNOS tanto en la región del tallo cerebral como en el cerebelo, el cual estaría asociado al desarrollo de células neuronales [McFarland et al., 2007] o un daño de los oligodendrocitos [Yao et al., 2010] que se presenta

desde etapas postnatales, al no encontrarse relacionado con un aumento en la lipoperoxidación a estas edades. Sin embargo, también nos puede sugerir que el NO derivado de la eNOS puede estar participando en la disfunción del endotelio desde etapas muy tempranas [Dimmeler & Zeither, 1999], promoviendo el aumento de la angiogénesis, que podría estar relacionado con el incremento de VEGF en la rata *taiep* [Soto-Rodriguez et al., 2015], así como en la disminución de quimiocinas como MCP-1 (CCL2) [Amdt H. Et al., 1993]. Además, se ha observado que en ratones Knockout de iNOS, la eNOS incrementa y es la responsable directa del daño sobre la mielina [Rapôsoa C., 2014]. eNOS pudiera estar regulando los cambios de la materia blanca vía BDNF/TrkB, el cual se encuentra aumentado en la rata *taiep* (Xu et al., 2013).

Por otra parte, el incremento del transcrito de iNOS a partir del mes de edad en el cerebelo se relaciona con el aumento de la producción de nitritos y de la lipoperoxidación, por lo que esta sintasa sería la responsable del aumento de estrés nitrosativo asociado a la neurodegeneración que observamos como lipoperoxidación en la región de cerebelo, donde ha sido reportado que la rata *taiep* expresa iNOS en las células de Purkinje y astrocitos [Leon-Chavez et al., 2006]. A esta isoforma se le ha relacionada con la patogénesis de enfermedades neuroinflamatorias y con los altos niveles de NO en el SNC durante la desmielinización tanto en pacientes como en los modelos animales de desmielinización [Danilov et al., 2003, Lieb et al., 2003], también ha sido implicada en el daño axonal observado en cultivos celulares de cerebelo [Di Penta et al., 2013].

La suplementación de taurina en la rata *taiep* ejerce un efecto antioxidante al disminuir la transcripción de eNOS en edades tempranas y de la iNOS a partir del mes de edad, con llevando a la disminución de NO, relacionado con la disminución de la lipoperoxidación en el cerebelo de ratas macho *taiep*, mostrando así un efecto protector a través de la inhibición de la entrada de  $Ca^{+2}$  por la inhibición de los receptores NMDA, de los canal de calcio dependiente de voltaje [Wu et al., 2005], previamente se ha reportado que la taurina reduce el estrés nitrosativo y la expresión de la NOS en células Schwann [Askwith et al., 2011] e

inhibe la expresión de TNF- $\alpha$  [Kim et al., 2011]. Por otro lado, se ha encontrado que taurina incrementa el número de neuronas positivas a NOS en la región CA1 del hipocampo, hecho que ha sido asociado con la mejora del aprendizaje y memoria [Yang F. et al., 2004].

El incremento de la transcripción de NF- $\kappa$ B en la rata *taiep* a los 15 días de edad en cerebelo y tallo cerebral, podría estar promoviendo vías de sobrevivencia o estar implicado en un proceso inflamatorio, este factor de transcripción, aunque es genérico es responsable de la transcripción de diversas citocinas, que median tanto estrés celular como inflamación [Toby L., 2009]. Sin embargo, la taurina disminuye la transcripción de NF $\kappa$ B tanto en el cerebelo como en el tallo cerebral a los 15 días de edad en la rata *taiep*. La taurina al ser capaz de regular negativamente el estrés oxidativo/nitrosativo, disminuye el requerimiento de NF $\kappa$ B, reflejándose en la disminución de los niveles de transcripción, además por medio de TauCl inhibe directamente su translocación al núcleo [Barua et al. 2001].

La transcripción de los genes que codifican para SOD1 (Zn-Cu-SOD), SOD3 (Mn) y glutatión peróxidasa 4 se encontraron incrementadas en el cerebelo de rata *taiep* en edades tempranas, en estudios recientes se ha reportado que en la EM se incrementa la expresión de SOD1 y 2 en las neuronas cerebelosas, y la subsecuente activación de enzimas responsables de la desintoxicación del peróxido de hidrogeno como: catalasa y glutatión peróxidasa. La sobreexpresión de SOD1 reduce la muerte mediada por el estrés oxidativo en los OPCs, por lo que sugiere que en cerebelo existe un proceso de respuesta al estrés oxidativo en edades tempranas, el cual disminuye en edades adulta. Por otro lado, SOD1 fue regulada negativamente en tallo cerebral al mes de edad, por lo que la respuesta antioxidante ante el daño sea menos eficiente en esta región, la cual es de las más dañada en edades tempranas, y que puede estar asociado al proceso desmielinización. Sin embargo, en edades adultas existe una regulación positiva de SOD3 en tallo cerebral y corteza cerebral de ratas de 8 meses de edad, lo cual podría estar relacionado con la respuesta ante el estrés oxidativo. Además, el incremento de SOD3 ha sido asociado con la mejora de las funciones cognitivas, y la neurogénesis [Radoslaw R. et al., 2007].

El aumento del transcrito de GPX4 en la rata *taiep* en las regiones de cerebelo tallo y corteza cerebral en edades tempranas es una respuesta a los procesos de hipomielinización/desmielinización debido a que GPX4 en el hipocampo ha sido asociado con la neuroprotección, teniendo una respuesta antioxidante [Casañas-Sanchez et al., 2015], sin embargo, existe una disminución en el cerebelo en la edad adulta, corelacionandose con el aumento de la lipoperoxidación a esta edad, donde la disminución de GPx4 afectaría la integridad de la mitocondria y la muerte de neuronas [Yoo et al., 2012].

Por otro lado, la suplementación de taurina regula negativa los transcritos de las enzimas antioxidantes tanto de SOD1, SOD3 y GPX4 dependiente de la edad y de la región, tal vez es debido al efecto antioxidante de la taurina evitando el aumento de la lipoperoxidación en estas edades y regiones cerebrales, por lo tanto una respuesta antioxidante no sería necesaria. Se ha reportado que taurina mejora la efectividad del sistema antioxidante, aumentado la expresión de GPx y catalasa *in vitro* [Jang et al., 2009]. Sin embargo, a la fecha se desconoce el efecto crónico de la suplementación de taurina sobre la expresión de enzimas antioxidantes, de acorde a lo observado en nuestros experimentos podemos decir que la taurina podría causar la disminución de la expresión de las enzimas antioxidantes en un modelo de desmielinización.

### **Efecto anti-inflamatorio de la taurina**

La CCL2 juega un papel preponderante dentro del SNC, pudiendo ejercer tanto un efecto neuroinflamatorio como neuroregenerativo. Por lo que, en edades tempranas en la rata SD se requiere en el proceso de quimioatracción de células precursoras neuronales talámicas [Poon et al., 2016], así mismo es requerido para la inducción de la proliferación de células madres neuronales, la diferenciación neuronal y disminuye la neuroinflamación [Hong et al., 2015].

La CCL2 a través de su receptor CCR2, es una de las quimiocinas que controla la migración e infiltración de monocitos/macrófagos, el cual están involucrados en varios desordenes neurodegenerativos, incluyendo esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer e isquemia cerebral [Bose y Cho, 2013]. El

incremento del transcrito de CCL2 en la rata *taiep* a los 15 días de edad, sin modificación de los niveles proteicos, sugiere que las células tratan de responder ante el daño. Siendo un factor crucial en el déficit de los procesos de mielinización/remielinización que inicia en la rata *taiep* en estas edades; se ha descrito que CCL2 mejora la migración de OPCs contribuyendo en la remielinización [Moyon et al., 2015], y en edades adultas se ha asociado a procesos neurodegenerativos [Bose y Cho, 2013]. ya que se ha reportado el incremento de microglía/macrófagos en el parénquima cerebral en ratas adultas [Leon-Chavez et al., 2006]. Por otra parte, el aumento de transcrito del receptor CCR2 en la región del cerebelo y del tallo cerebral en edades tempranas, y de los niveles de la proteína a esta edad en la región de tallo cerebral y corteza-hipocampo, estaría asociado en promover la migración de células en estas regiones en edades tempranas, células precursoras neuronales [Banisadr et al., 2002, 2005, Stamatovic et al., 2005]. Sin embargo al no observarse incremento del ligando CCL2, podría estar asociado a una respuesta cruzada ocasionada por el incremento de otros ligandos tales como: CCL7, CCL8, CCL12, CCL13 y CCL16 [Bose y Cho, 2013]. CCR2 también tiene un papel dual, actuando tanto como agente proinflamatoria como anti-inflamatorias. El papel proinflamatorias depende de las células presentadoras de antígeno y de las células T, mientras que el papel anti-inflamatorio depende de la expresión de CCR2 en células Th2 [Milligan et al., 2003].

La suplementación de taurina en la rata *taiep* muestra una regulación negativa del transcrito tanto del ligando como del receptor, pero sin modificación en los niveles de expresión de la proteína por parte de CCL2, pero teniendo un efecto negativo sobre la expresión del receptor CCR2 en la región de tallo cerebral y corteza-hipocampo, teniendo posiblemente un afecto anti-inflamatorio lo cual se ve reflejado por una disminución en la lipoperoxidación. Previamente se ha reportado que una discrepancia entre la expresión de CCL2 y CCR2, siendo menor la expresión de CCL2 en la materia gris, mientras que en la materia blanca estaría incrementado y contribuiría con la infiltración de leucocitos [Prins et al., 2014]. CCR2 es expresado en astrocitos, microglía, neuronas, células precursoras

neuronales y microvasculares [Banisadr et al., 2002, 2005, Stamatovic et al., 2005]. Uno de los efectos anti-inflamatorio de taurina es a través de formación de la Cloramina-Taurina, que inhibe la producción de quimiocinas a través de la vía de señalización NFκB [Liu y Quinn, 2002] el cual se encuentra disminuido por la suplementación de taurina en la rata *taiep* a los 15 días de edad.

La CCL4 no ha sido asociado a algún proceso de desarrollo neuronal o fisiológico, por lo que el incremento encontrado de la proteína en cerebelo al mes de edad en la rata SD es desconocido, ya que normalmente se asocia con los procesos inflamatorios [Xia et al., 1998], este incremento fue contrarrestado por la suplementación de taurina, sin embargo causó el incremento de la proteína al mes de edad en corteza cerebral, sugiriendo un proceso neuroinflamatorio, que se relaciona con la aparición de la lipoperoxidación.

Mientras que la sobreexpresión de CCL4 en la rata *taiep* a los 8 meses de edad en corteza cerebral-hipocampo, pudiera estar promoviendo la infiltración de macrófagos e incrementando el proceso neuroinflamatorio [Simpson et al., 1998. McManus et. al., 1998. Xia M.Q. na et al., 1998]. Sin embargo la suplementación de taurina en la rata *taiep*, causó su disminución en ratas de 1 mes en cerebelo y a los 8 meses de edad en corteza cerebral-hipocampo, sugiriendo un papel anti-inflamatorio.

El incremento de CCR8 observado en el cerebelo de 8 meses de edad en la rata SD está relacionado con la neuroinflamación tal vez con la edad, ya que previamente ha sido reportado sobreexpresado en astrocitos adultos [Coitoru-Lamoury et al., 2003]. Del mismo modo, la suplementación de taurina mostró un proceso de neuroinflamación en edades tempranas al incrementar a CCR8 en el cerebelo a los 15 días de edad, actualmente sabemos que su expresión principalmente se encuentra en macrófagos fagocíticos y en la microglía activada [Corinna et al., 2013].

El incremento de CCR8 desde edades tempranas en la rata *taiep* podría estar correlacionado con los procesos desmielinizantes activos que se ha observado en pacientes con EM [Bielecki et al., 2007], el cual podría estar asociado con el proceso de astrogliosis reactivas [Leon-Chavez et al., 2002] y la

acumulación de microglía/macrófago [Leon-Chavez et al., 2006]. En éste trabajo la suplementación de taurina tuvo un efecto anti-inflamatorio en edades tempranas, disminuyendo los niveles de CCR8 en cerebelo y tallo cerebral durante el primer mes de edad.

La disminución del receptor CCR1, el cual tiene como ligandos a CCL1, CCL3, CCL5, CCL7, CCL23, en cerebelo en edades adulta en la SD podría estar asociados a la sobrevivencia neuronal y la neuritogénesis [Edman et al., 2008]. Por otro lado, CCR5 incrementó con la edad, esta diferencia en expresión puede estar asociado la expresión diferencial, ya que existe una regulación negativa de CCR1 pero no de CCR5 en monocitos infiltrantes, mientras que la microglía regula positivamente CCR5 [Edman et al., 2008], sugiriendo que estaría promoviendo la neurodegeneración en la rata SD, reflejado con un incremento en la lipoperoxidación observado en edades adultas. Mientras que el incremento de CCR1 y de CCR5 en la rata *taiep* tanto en edades temprana como en adultas en el cerebelo y en tallo cerebral, podría asociarse a los procesos de hipomielinización y desmielinización, ya que la expresión conjunta de estos receptores se ha encontrado en células perivasculares de lesiones activas en EM, así como en fagocitos mononucleares en estados tempranos de desmielinización [Edman et al., 2008, Corinna T. et al., 2001]. CCR1 ha sido encontrado en macrófagos después de la inducción de Encefalomiелitis Autoinmune Experimental, mientras que la microglía expresa CX3CR1, siendo el incremento de CCR1 en los macrófagos responsables de la desmielinización [Sunnemark et al., 2003]. Por otro lado, la suplementación de taurina en la rata SD tuvo un efecto inflamatorio debido a que aumentó los niveles de CCR1 a los 8 meses de edad en cerebelo. Mientras que en la rata *taiep* mostró un efecto anti-inflamatorio al disminuir la expresión de CCR5 en edades tempranas y CCR1 en edades adultas, en las regiones de cerebelo y tallo cerebral, reflejado en la disminución de la lipoperoxidación.

El incremento de la expresión de CXCL1 en el tallo cerebral al mes de edad en la rata SD, sugiere su participación en el proceso de mielinización y el mantenimiento de los oligodendrocitos, previamente se ha reportado que participa

en la proliferación de los OPC en sinergismo con PDGF en la médula espinal [Robinson et al., 1998], durante el desarrollo y en regiones de remielinización en el adulto [Jakovcevski et al., 2009]. Además, las alfa quimiocinas regulan la proliferación, neurogénesis y diferenciación de neuronas dopaminérgicas y neuroesferas mesencefálicas [Edman et al., 2008]. Estos efectos de CXCL1 durante el desarrollo fueron disminuidos por la suplementación de taurina en la rata SD, ya que se ha encontrado que la suplementación de taurina de forma aguda disminuyó CXCL1 en un modelo de TBI, sin embargo, la administración subaguda incrementó los niveles de CXCL1 [Su et al., 2014], sugiriendo que en condiciones normales este puede afectar el desarrollo en la rata, pero la taurina en condiciones patológicas tiene un efecto anti-inflamatorio.

Mientras que la disminución de CXCL1 en la rata *taiep* en la region del tallo cerebral desde edades tempranas, y en cerebelo en edades adultas, sería uno de los factores que impide la mielinización en etapas tempranas y de la remielinización en etapas tardías en estas regiones evaluadas. Sin embargo, el incremento de CXCL1 en la corteza cerebral en la rata *taiep*, podría ser una respuesta temprana de mielinización, ya que es una región que no se afecta en edades tempranas, debido a que los oligodendrocitos III y IV localizados en estos hemisferios son los más afectados en edades posteriores [Lunn et al., 1997b]. A diferencia de otros modelos de desmielinización como son los inducidos por virus [Marro et al., 2016], EAE y EM [Rumble et al., 2015] se ha encontrado que CXCL1 incrementa y correlaciona con la infiltración de neutrófilos, mostrando que tiene una función inflamatoria, sin embargo, la disminución de CXCL1 en la rata *taiep* es correlacionado con un déficit de factores estimuladores de la mielinización [Soto-Rodriguez et al., 2015. Foote y Blakemore, 2005] y no en el proceso inflamatorio como en los demás modelos desmielinizantes.

Por otro lado, la suplementación de taurina en la rata *taiep*, incrementó los niveles de CXCL1 en cerebelo y tallo cerebral a los 15 días de edad, sugiriendo el restablecimiento de la función de las OPCs y de los oligodendrocitos, así como promover la neurogénesis, la diferenciación de las neuronas dopaminérgica

[Edman et al., 2008] en edades tempranas, sin embargo no modificó la expresión de CXCL1 en edades tardías, sugiriendo que la taurina no produce el restablecimiento del proceso remielinizante, que se encuentra afectado en la rata *taiep*.

La expresión del receptor de CXCL1 (CXCR2) en la rata SD, disminuye en condiciones normales después del desarrollo, ya que en edades tempranas está implicado en la proliferación, migración de las OPCs [Robinson et al., 1998], sugiriendo su participación en los procesos de mielinización, mientras que en edades adulta disminuye en la rata SD, ya que el incremento ha sido asociado a procesos inflamatorios [Amiri et al., 2006]. Mientras en la rata *taiep* existe la deficiencia de la expresión CXCR2 en el cerebelo, al igual que su ligando (CXCL1), siendo esto un factor en su deficiencia en el proceso de mielinización en edades tempranas y de la remielinización en edades tardías, ya que CXCR2 participa en proteger a las OPCs de la apoptosis [Tirota et al., 2011], reclutamiento de oligodendrocitos a las área de daño y la reparación de la lesión [Omari et al., 2006], o también pudiera participar en edades tardías en procesos inflamatorios, promoviendo la infiltración de neutrófilos al sitio de daño [Liu et al., 2015], debido al aumento que se presenta en la región de tallo cerebral, pudiendo ser en esta región un mediador de la inflamación.

La suplementación con taurina disminuyó los niveles de CXCR2 en el tallo cerebral de ratas *taiep* adultas, sugiriendo una disminución del proceso inflamatorio, podría deberse a la disminución del estrés nitrosativo reflejado en la disminución de la lipoperoxidación a los 3 meses de edad producido por la suplementación con taurina.

El incremento de CXCL12 en la rata SD en cerebelo en edades tardías, podría participar en el proceso inflamatorio básicamente como factor quimioatrayente de linfocitos y monocitos, ocasionando la disminución de la remielinización en edades tardías [Khorramdlazad et al., 2016], aun lado a esto, en fechas recientes se ha visto que TNF- $\alpha$  potencia la expresión de CXCL12 en astrocitos [Blazevski et al., 2015], por lo que la respuesta a la desmielinización no

solamente la censa el oligodendrocito, sino que, todo el microambiente es capaz de responder al daño.

Mientras que el aumento de CXCL12 en la rata *taiep*, en edades tempranas podría promover la migración y diferenciación de las OPCs, promoviendo la mielinización, en edades adultas podría tener una acción en la reparación tisular, a través de un efecto regenerativo o inflamatorio, ya que CXCL12 es parte de la respuesta en las enfermedades desmielinizantes en el SNC [Maysami et al., 2006]. Sin embargo, a pesar de que CXCL12 se encuentra aumentado al mes de edad en cerebelo, el receptor CXCR4 se encuentra disminuido en esta región en la rata *taiep* a los 15 días edad, sugiriendo que el proceso de migración y diferenciación de las OPCs está alterado [Banisard et al., 2011], siendo este déficit un factor que contribuye a la hipomielinización presente en la rata *taiep* en la etapa temprana. Sin embargo, CXCR4 incrementó en corteza cerebral-hipocampo de la rata *taiep* a los 8 meses, dicho incremento podría estar participando directamente en la infiltración de linfocitos que nuestro grupo de investigación ha reportado previamente [Leon-Chavez et al., 2006].

La suplementación de taurina en la rata *taiep* produce una disminución de CXCL12 en el tallo cerebral en la etapa adulta, sugiriendo una disminución en el proceso inflamatorio, debido a que un aumento prolongado de CXCL12, se ha implicado a la inflamación, produciendo la liberación de citocinas como TNF- $\alpha$  y prostaglandinas [Cali & Bezzi 2010], siendo un factor implicado en la inflamación crónica presente en la rata *taiep* en edades tardías; por otro lado la taurina produce una regulación positiva del receptor CXCR4 en el cerebelo y tallo cerebral los 15 días de edad sugiriendo que aumenta el proceso de mielinización, mostrando tener un efecto neuroprotector en la rata *taiep*.

La expresión de CXCL13 no fue modificada a través de la edad en la rata SD en todas las regiones, sin embargo, en la rata *taiep* sugiere que existe la quimioatracción de linfocitos B [Bagaeva et al., 2006] en todas las edades en cerebelo, el cual ha sido asociado con procesos de neuroinflamación, desmielinización autoinmune y en linfoma primario en el SNC [Ansel et al., 2000, Rainey-Barger et al., 2011]. El receptor CXCR5 correlaciona con el incremento de

CXCL13 en cerebelo a los 15 días y 8 meses de edad en la rata *taiep*, se ha visto que la activación del receptor NMDA promueve la expresión de CXCL13 [B. Chun-Jiang et al., 2016], y que éste a su vez activa al receptor CXCR5, conllevando la activación de astrocitos y microglía, generando astrogliosis reactiva que previamente fue reportada en la rata *taiep* por nuestro grupo de investigación [Leon-Chavez et al., 2001]. Además de que, CXCL13 y CXCR5 han sido propuestos como un potencial biomarcador de procesos inflamatorios en pacientes con epilepsia [Li et al., 2016], pero en el tallo cerebral y la corteza-hipocampo, CXCL13 se encontró disminuida así como también CXCR5 en el tallo cerebral en edades tempranas, sugiriendo que los procesos de neurogénesis son afectados, ya que CXCR5 reduce el mantenimiento de la población de células neuronales inmaduras e incrementa la proliferación de las células subgranulares hipocampales del giro dentado, sin embargo no es claro su papel en el proceso de regeneración [Stuart et al., 2014].

La suplementación de taurina evitó el incremento de CXCL13 en cerebelo de la rata *taiep* a los 15 días de edad, sugiriendo que dicha disminución participa directamente en la neuroprotección, a través de la inhibición del receptor NMDA de manera contraria en la región de tallo cerebral y de corteza-hipocampo la taurina evitó la regulación negativa a los 15 días y 1 mes de edad respectivamente, sugiriendo el incremento de la proliferación de las células subgranulares del giro dentado del hipocampo, a través de la activación del receptor CXCR5 [Stuart et al., 2014].

Los factores de crecimiento en la rata SD disminuyeron con respecto a la edad dependiente de la región, efecto que pudiera estar asociado con el envejecimiento de la rata. FGF2 tiene efectos mitogénicos y neurogénicos [Li et al., 2008], e incrementa la proliferación en la SVZ y DG [Sun et al., 2009]. Mientras que IGF1 promueve el crecimiento, sobrevivencia, maduración, proliferación celular en los tejidos y renovación del mismo. IGF-1 juega un papel preponderante en la mielinización, ya que promueve la proliferación, diferenciación, sobrevivencia de los oligodendrocitos y con esto de forma indirecta incrementa la producción de

mielina [Wringley 2017]. FGF2 junto con BDNF promueve la proliferación y diferenciación neuroglial [Shinichi Y et al., 2001].

Los transcritos de VEGF, NGF y GDNF aumentaron en el cerebelo, tallo cerebral y en la corteza cerebral-hipocampo de la rata SD al mes de edad, sin embargo, solo el VEGF y el NGF se mantuvieron incrementados en la region de cerebelo en edades adultas. Estos factores de crecimientos están involucrados en la regulación de vías de señalización que inducen el crecimiento celular, la diferenciación y la supervivencia neuroglial, siendo indispensables de las funciones del cerebro normal, debido a que VEGF promueve neurogénesis/angiogénesis y revierte el daño causado por TBI (Schanzer et al., 2004). Se ha visto que el óxido nítrico y VEGF aumentan la permeabilidad en el plexo coroides [Sharma et al., 2010]. El incremento de GDNF se ha visto que ejerce efectos neuroprotectores contra el daño cerebral, como en la isquemia cerebral [Lee et al., 2010]. El GDNF ha sido reconocido como agente neuroprotector para las población de neuronas dopaminérgicas, pero también promueve el desarrollo, diferenciación y protección de otras neuronas, tales como noradrenérgicas y motoras de la médula espinal en el SNC [Sharma et al., 2016]. El NGF es un agente pleiotrópico dentro de un gran espectro de poblaciones celulares, teniendo efectos sobre las neuronas sensoriales y simpáticas, por otro lado, se ha descrito que el NGF es un modulador de las funciones neuro-inmuno-endócrina [Skaper 2017]. Este factor protege tanto axones como a la mielina del daño inflamatorio, ya que modula el sistema inmune, reduciendo la excitocidad durante la activación inflamatoria aguda [Colafrancesco y Villoslada, 2011].

La suplementación de taurina en ratas SD modificó las transcripción de los factores de crecimiento de forma dependiente de la edad y de la región cerebral analizada, afectando los procesos de proliferación, diferenciación y maduración de células gliales y neuronales a edades tempranas; el incremento del transcrito de GDNF en corteza-hipocampo, pudiera promover una gliosis reactiva que se extiende hasta los 8 meses de edad, esto apoya la idea del efecto neurotóxico de la taurina sobre la corteza cerebral de rata SD. Por otro lado, el FGF2 estaría aumentando las propiedades mitogénicas y neurogénicas, promoviendo un

incremento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y la angiogénesis a través del aumento VEGF en cerebelo. Además, la suplementación de taurina estaría promoviendo la supervivencia de las neuronas a través del aumento de NGF en tallo cerebral y por el aumento del GDNF en Corteza-hipocampo Sin embargo en este estudio solo se midió la expresión de FGF-2 y de BDNF por lo que se requiere realizar un mayor estudio para conocer el efecto dañino de la suplementación de taurina.

La disminución en la expresión de FGF2 observada en la rata *taiep* en edades tempranas afectaría el proceso de mielinización ya que participa en la proliferación de las OPCs, mielinización, y aumentaría el daño axonal [Miki F. et al., 2012], contribuyendo a la hipomielinización y al fallo en la remielinización en la rata *taiep*, sin embargo el incremento de la proteína en la corteza cerebral en edades adultas puede producir una disrupción de los oligodendrocitos y por lo tanto la pérdida de mielina, ya que se ha observado que la administración de FGF2 causa una acumulación de oligodendrocitos inmaduros con un fenotipo premielinizante [Armstrong et al., 2007].

El aumento en el transcrito de IGF-1 en la rata *taiep*, sugiere que existe una respuesta celular ante el daño cerebral, tratando de promover el crecimiento, maduración, proliferación y la reparación del tejido en compensación al daño, como ha sido descrito en otras enfermedades tales como la esclerosis lateral amiotrófica y esclerosis múltiple [Adamis y Meagher, 2011], tratando de promover la sobrevivencia, diferenciación y desarrollo de los oligodendrocitos [Ye y D'Ercole, 1999, Wringley 2017], sin embargo, se conoce que existe un incremento de la muerte celular dependiente de la edad en la rata *taiep* [Soto-Rodriguez et al., 2012].

El aumento en la transcripción y traducción del BDNF en la rata *taiep* podría tener efecto neuroprotector, promoviendo la supervivencia y el crecimiento de diversos tipos de neuronas (Huang y Reichart, 2001), todo esto para mejorar la regeneración de procesos desmielinizantes (Al-majed et al., 2000), aumentando la neuritogénesis, el crecimiento axonal y la plasticidad cerebral [Huang & Reichard, 2001, Hongdi M. al., 2007], esto explicaría porque las neuritas de las neuronas de

Purkinje en el cerebelo de la rata *taiep* se encuentra aumentadas (datos no publicados). Sin embargo, en la rata *taiep* el incremento de BDNF no es capaz de disminuir la ataxia cerebelosa, ya que está reportado que la deficiencia de BDNF causa ataxia en un modelo de ratón, y los ratones transgénicos de BDNF previene la ataxia [Hongdi M. et al., 2007]. Además, el incremento de BDNF estaría aumentando la liberación de glutamato [Schinder & Poo, 2000] y la actividad de los receptores NMDA, a través de la disminución de la actividad inhibitoria de los receptores GABAérgicos [Tanakaer et al., 1997; Frerking et al., 1998; Wardel & Poo, 2003], sugiriendo una mayor actividad neuronal. El incremento de BDNF ha sido implicado en la cascada de cambios electrofisiológicos en el estado epiléptico [Ernfors et al., 1991, Nibuya et al., 1995], que pudiera estar asociado en la rata *taiep*. Además, se ha encontrado que la privación parcial de sueño muestra una acción rápida sobre el incremento de los niveles de BDNF [Schmitt et al., 2016], que podría estar asociado con las alteraciones de sueño que presenta la rata *taiep*.

La disminución de GDNF y NGF en edades tempranas nos sugiere que existe un decremento de los factores de crecimiento involucrados en el crecimiento, diferenciación y supervivencia celular, procesos que son necesarios para las funciones cerebrales y la actividad regenerativa [Hoyng et al., 2014], Mientras que el incremento de GDNF a los 8 meses de edad podría causar la pérdida de células de Purkinje e inducir el incremento de la proliferación de las células de Bergman, astrocitosis y vacuolación de la capa molecular [Luz et al., 2016]. Relacionándose con el aumento de la muerte celular en la rata *taiep* a los 6 meses de edad en el cerebelo y tallo cerebral [Soto-Rodriguez et al., 2012].

La disminución del transcrito de VEGF promovería una disminución en su traducción lo cual conduciría a la pérdida de los procesos de neurogénesis/angiogénesis y la reparación de tejido nervioso en edades adultas (Schänzer et al., 2004), contribuyendo con el proceso neurodegenerativo en la rata *taiep*. Por otra parte, la suplementación de taurina en la rata *taiep* produce regulación positiva en corteza cerebral de NGF, VEGF y GDNF, sugiriendo que en

esta región se estaría promoviendo los procesos de neuroprotección. En ratas infantiles promovió la regulación positiva de los factores de crecimiento como IGF-1 y FGF-2 en tallo cerebral, siendo en esta última aumentada también en corteza-hipocampo junto con GDNF, sugiriendo que a esta edad se estaría promoviendo los procesos de proliferación y mielinización.

Con esto se observa que el efecto de la suplementación de taurina desde la etapa gestacional puede regular la expresión de quimiocinas y factores de crecimiento, y de igual forma, la manera en que las regule dependerá del estado patológico, donde en condiciones normales produce un aumento de quimiocinas en la corteza-hipocampo, que estarían participando en un proceso inflamatorio, relacionándose con el aumento del estrés nitrosativo en esta misma región, mientras que en la rata *taiep* se presenta un efecto neuroprotector, promoviendo los procesos de mielinización en el desarrollo neuronal en las regiones de cerebelo y tallo cerebral, a través de la regulación de quimiocinas, y factores de crecimiento que participen en la migración, proliferación y diferenciación de los OPCs a los 15 días de edad. Además, la taurina es capaz de disminuir quimiocinas inflamatorias, disminuyendo la astrogliosis reactiva, la activación de la microglía, y la sobreproducción de radicales libres, los cuales se encuentran presentes en la mutante de mielina (Fig. 48).

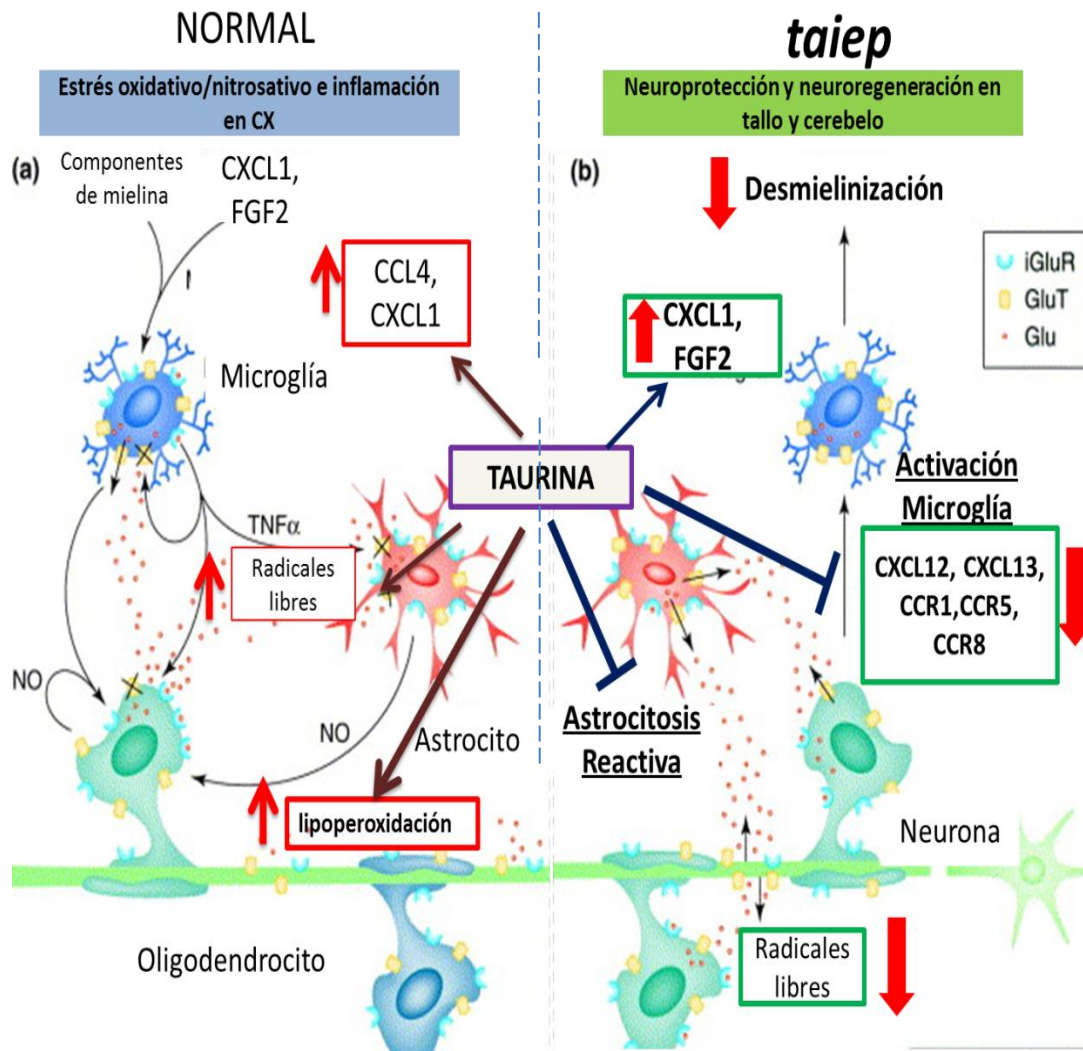


Figura 48 Efecto dual de la suplementación de taurina.

La suplementación de taurina desde la etapa embrionaria, presenta un efecto dual, dependiendo del estado fisiológico o patológico del animal. a) En condiciones sanas produce un deterioro en la región de la corteza-hipocampo, aumentando la lipoperoxidación y el proceso inflamatorio. b) En la rata *taiep* presenta un efecto anti-inflamatorio al disminuir quimiocinas inflamatorias y radicales libres, además de promover los procesos de mielinización, regulando quimiocinas y factores de crecimiento que se requieren para estos procesos.

## CONCLUSIÓN

La suplementación de taurina desde la gestación tuvo un efecto neuroprotector en la rata *taiep* en las regiones que presentan mayor desmielinización, disminuyendo el estrés nitrosativo (nitritos y lipoperoxidación) dependiente de la región y de la edad, a través de la disminución de las isoformas de NOS y el proceso inflamatorio (CCR2, CCL4, CCR5, CCR1, CXCL12), viéndose reflejado en una disminución en la respuesta al daño por las enzimas antioxidantes (GPx y SOD) en el día 15 de edad, además promover la regulación positiva del ARNm de IGF-1, así como en la expresión de CXCL1, CXCR4 y FGF2 en edades infantiles dependiente de la región, sin observarse un daño en los aspectos cognitivos en edades tempranas. Sin embargo, en la rata control, Sprague-Dawley, la suplementación de taurina desde la gestación causó incremento la lipoperoxidación y la disminución de SOD3 en corteza cerebral-hipocampo, y disminución de factores de crecimiento dependiente de la edad, viéndose reflejado en un déficit en los aspectos cognitivos de referencia no espacial en edades tempranas.

## PERSPECTIVAS

Analizar el efecto de la suplementación de taurina en la rata *taiep* sobre:

- El contenido de mielina, a través de tinción de azul de toluidina
- Morfología celular: oligodendrocitos y neuronas, tinción de hematoxilina-eosina, inmunofluorescencia contra tubulina, Cinesina y dineina.
- Astrogliosis, a través de inmunofluorescencia contra GFAP
- Muerte celular, a través de caspasa-3, apostáina y H&E
- Neurogénesis, a través de BRdU e inmunofluorescencia contra nestina, olig1, olig2 o PBM, doblecortina, NeuN

## ANEXOS

### ➤ Buffer de carbonatos (para sensibilizar la placa de ELISA).

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.795 g

NaHCO<sub>3</sub> 1.465 g

NaN<sub>3</sub> 0.1 g

H<sub>2</sub>O 50mL

Adicionar las sales en 40 mL de agua destilada y aforar a 50 mL.

### ➤ PBS

KCl 0.20131 g

NaCl 8.06472 g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.163308 g

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.149876 g

A 900 mL de agua destilada agregar las sales y regular el pH con HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N, aforar a 1L.

### ➤ PBS-Tween 20:

Por cada 100 mL de PBS 0.1 mL de Tween-20.

### ➤ Solución de albúmina 1mg/mL

Pesar 1 mg de albúmina y diluir en 1 mL de agua destilada.

### ➤ Solución de albúmina 0.5%

Pesar 0.5 g de albúmina de suero bovino y disolverla en 100 mL de PBS.

## BIBLIOGRAFIA

1. Adamis D., Meagher D., 2011. Insulin-like growth factor I and the pathogenesis of delirium: a review of current evidence. *Aging Res.* 9514-03
2. Adler, M. W., Rogers, T. J., 2005. Are chemokines the third major system in the brain. *J. Leukoc. Biol.* 78, 1204–1209
3. Aerts L., Van Assche FA., 2002. Taurine and taurine-deficiency in the perinatal period. *J Perina. Med* 30:281–286
4. Afifi AK., 2003. The basal ganglia: a neural network with more than motor function. *Semin Pediatr Neurol* 10(1):3–10
5. Aggarwal S., Yurlova L., Simons M., 2011. Central nervous system myelin: structure, synthesis and assembly. *Trends Cell Biol.* 21 (10): 585-93
6. Ahmad S., Singh N., Glazer RI., 1999. Role of AKT1 in 17beta-estradiol- and insulin-like growth factor I (IGF-I)-dependent proliferation and prevention of apoptosis in MCF-7 breast carcinoma cells. *Biochem Pharmacol.* 1;58(3):425-30.
7. Aicher A., Heeschen C., Mildner-Rihm C., Urbich C., Ihling C., Technau-Ihling K., Zeiher AM., Dimmeler S., 2003. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells. *Nat Med* 9:1370–1376
8. Al-Majed AA., Brushart TM., Gordon T., 2000. Electrical stimulation accelerates and increases expression of BDNF and trkB mRNA in regenerating rat femoral motoneurons. *Eur J Neurosci.* 12(12):4381-90.
9. Alderton WK., Cooper CE., Knowles RG., 2001. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J.* 357:593–615
10. Aleman A., Torres-Aleman I., 2009. Circulating insulin-like growth factor I and cognitive function: neuromodulation throughout the lifespan. *Prog. Neurobiol.* 89(3): 256-65
11. Altamura C., Maes M., Dai J., Meltzer HY., 1995. Plasma concentrations of excitatory amino acids, serine, glycine, taurine and histidine in major depression. *Eur Neuropsychopharmacol* 5(1):71–75
12. Amantea D, Russo R, Bagetta G, Corasaniti MT. 2005. From clinical evidence to molecular mechanisms underlying neuroprotection afforded by estrogens. *Pharmacol Res.* 52:119–132.
13. Amiri KI, Ha HC, Smulson ME, Richmond, 2006. A. Differential regulation of CXC ligand 1 transcription in melanoma cell lines by poly (ADP-ribose) polymerase-1. *Oncogene.* 25:7714–7722.
14. Ananchaipatana P.; Ananchaipatana. Y.; Naiphinich, Kotchabhakdi. *Journal Experimental and Clinical Sciences* 2015. Protective role of taurine in developing offspring affected by maternal alcohol consumption. 14: 660-671
15. Anch AM., Laposky AD., 2000. Rat sleep and eye movement density as biological markers of demyelinating disease. *Physiol Behav* 71:269-27
16. Ansel KM, et al. 2000. A chemokine-driven positive feedback loop organizes lymphoid follicles. *Nature* 406(6793):309–314
17. Armstrong R., Harvath L., Dubois-Dalcq M. 1991. Astrocytes and O-2A progenitors migrate toward distinct molecules in a microchemotaxis chamber. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 633:520–522.
18. Armstrong RC. 2007. Growth factor regulation of remyelination: behind the growing interest in endogenous cell repair of the CNS. *Future, Neurol,* 2(6); 689-97
19. Armstrong RC., Le TQ., Flint NC., Vana AC., Zhou YX., 2006. Endogenous cell repair of chronic demyelination. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 65(3): 245-56
20. Arndt H., Smith CW., Granger DN., 1993. Leukocyte-endothelial cell adhesion in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Hypertension.* 21:667–67
21. Askwith T, Zeng W, Eggo MC, Stevens MJ., 2012. Taurine reduces nitrosative stress and nitric oxide synthase expression in high glucose-exposed human Schwann cells. *Exp Neurol.* 233(1):154-62.
22. Atsushi Toyoda, Wataru L. 2013. Antidepressant-Like Effect of Chronic Taurine Administration and Its Hippocampal Signal Transduction in Rats., *Medicine and Biology* . 2013. 775.
23. Bagaeva LV, Rao P., Powers JM., Segal BM., 2006. CXC chemokine ligand 13 plays a role in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol.* 176(12):7676–7685.

24. Bajetto A., Bonavia R., S. Barbero, Florio T., G. Schettini 2001a. Las quimiocinas y sus receptores en el sistema nervioso central. *Frontiers in Neuroendocrinología* 22 147-184.
25. Banisadr G, Gosselin R-D, Mechighel P., Rostene W., Kitabgi P., Parsadaniantz SM., 2005 Constitutive neuronal expression of CCR2 chemokine receptor and its colocalisation with neurotransmitters in normal rat brain: functional effect of MCP-1/CCL2 on calcium mobilisation in primary cultured neurons. *J Comp Neurol.* 492:178–192.
26. Banisadr G, Queraud-Lesaux F, Bouterin MC, Pelaprat D, Zalc B, Rostene W, Haour F, Parsadaniantz SM. 2002. Distribution, cellular localisation and functional role of CCR2 chemokine receptors in adult rat brain. *J Neurochem.*;81:257–269
27. Banisadr Ghazal, Terra J. Frederick, Caroline Freitag, Dongjun Ren, Hosung Jung, Stephen D Miller, and Richard J. Miller, 2011. The role of CXCR4 signaling in the migration of transplanted oligodendrocyte progenitors into the cerebral white matter *Neurobiol Dis.* 44(1): 19–27.
28. Bao-Chun Jiang, De-Li Cao, Xin Zhang, Zhi-Jun Zhang, Li-Na He, Chun-Hua Li, Wen-Wen Zhang, Xiao-Bo Wu, Temugin Berta, Ru-Rong Ji, and Yong-Jing Gao, 2016. CXCL13 drives spinal astrocyte activation and neuropathic pain via CXCR5. *The Journal of clinical invest.* 126(2): 745-761
29. Barbacid M. 1994. The Trk family of neurotrophin receptors. *J Neurobiol.* 25:1386–1403.
30. Barde YA., Edgar D., Thoenen H., 1982. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J.* 1:549–553
31. Barna BP. Pettay J., Barnett GH. Zhou P., Iwasaki K., Estes ML., 1994. Regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression in adult human non-neoplastic astrocytes is sensitive to tumor necrosis factor (TNF) or antibody to the 55-kDa TNF receptor. *J Neuroimmunol.* 50:101–107.
32. Barnabe-Heider F., Miller FD., 2003. Endogenously produced neurotrophins regulate survival and differentiation of cortical progenitors via distinct signaling pathways. *J Neurosci.* 23:5149–5160.
33. Barua M, Liu Y, Quinn MR., 2001. Taurine chloramine inhibits inducible nitric oxide synthase and TNF-alpha gene expression in activated alveolar macrophages: decreased NF-kappaB activation and IkappaB kinase activity. *J. Immunol* 167:2275–2281
34. Beall CJ. Mahajan S. Kuhn DE. Kolattukudy PE., 1996. Site-directed mutagenesis of monocyte chemoattractant protein-1 identifies two regions of the polypeptide essential for biological activity. *Biochem J.* 313:633–640.
35. Bellinghausen I, Reuter S, Martin H, Maxeiner J, Luxemburger U, Türeci Ö, Grabbe S, Taube C, Saloga J. 2012. Enhanced production of CCL18 by tolerogenic dendritic cells is associated with inhibition of allergic airway reactivity. *J Allergy Clin Immunol.* 130(6):1384-93.
36. Benarroch E.E., 2012. Insulin-like growth factors in the brain and their potential clinical implications. *Neurology.* 79(21):2148-53.
37. Benraiss A, et al. 2001. Adenoviral brain-derived neurotrophic factor induces both neostriatal and olfactory neuronal recruitment from endogenous progenitor cells in the adult forebrain. *J. Neurosci.*21:6718–6731
38. Berning EJ1, Bernhardson N, Coleman K, Farhat DA, Gushrowski CM, Lanctot A, Maddock BH, Michels KG, Mugge LA, Nass CM, Yearsley SM, Miller RR Jr. Ethanol- and/or Taurine-Induced Oxidative Stress in Chick Embryos. *J Amino Acids.* 2013:240537. doi: 10.1155/2013/240537. Epub 2013 Mar 21.
39. Bernis ME., Oksdath M., Dupraz S., Nieto Guil A., Fernandez MM, Malchiodi EL., 2013. Wingleless-type family member 3A triggers neuronal polarization via cross-activation of the insulin-like growth factor-1 receptor pathway. *Front Cell Neurosci* 7: 194.
40. Bielecki B1, Mazurek A, Wolinski P, Glabinski A., 2007. Expression of chemokine receptors CCR7 and CCR8 in the CNS during ChREAE. *Scand J Immunol.* 66(4):383-92.
41. Binder DK, et al. 1999b. Selective inhibition of kindling development by intraventricular administration of TrkB receptor body. *J. Neurosci.*;19:1424–1436.
42. Black, J.A. Fjell J., Did-hajj S., Duncan I.D., O'Connor L.T., Fried, K. Waxman, S.G. Abnormal expression of SNS/PN3 sodium channel in cerebellar Purkinje cells following loss of myelin in the taiep rat. *Molecular Neuroscience* 1999; 10, 913-918

43. Blaževski J., Petković F., Momčilović M., Jevtić B, Mostarica Stojković M., Miljković D., 2015. Tumor necrosis factor stimulates expression of CXCL12 in astrocytes. *Immunobiology*. 220(7):845-50
44. Bohme GA., Bon C., Lemaire M., Reibaud M., Piot O, Stutzmann JM., Doble A., Blanchard JC., 1993. Altered synaptic plasticity and memory formation in nitric oxide synthase inhibitor-treated rats. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90:9191–9194
45. Bonansco C1, Fuenzalida M, Olivares V, Molina C, Roncagliolo M. 2007. Asynchronous transmission in the CA3-CA1 hippocampal synapses in the neurological mutant taiep rat. *J Neurosci Res*. 85(1):223-9.
46. Bose Shambhunath, Cho Jungsook, 2013. Role of chemokine CCL2 and its receptor CCR2 in neurodegenerative diseases. *J. Arch. Pharm. Res*. 36: 1039
47. Bredt SD., Ferris CD., Snyder SG. 1992. Nitric oxide synthase regulatory sites. Phosphorylation by cyclic AMP-dependent protein kinase, protein kinase C, and calcium/calmodulin protein kinase, identify cation of fl avin and calmodulin binding sites. *J Biol Chem* 267:10976–10981
48. Brinar, V. V., 2011. Understanding demyelinating disorders of childhood. *The Lancet*, 10:689.
49. Briscoe J., Pierani A., Jessell T.M., Ericson J., 2000. A homeodomain protein code specifies progenitor cell identity and neuronal fate in the ventral neural tube. *Cell*. 101:435–445
50. Brown GC., 2010. Nitric oxide and neuronal death. *Nitric Oxide. Mol Neurobiol* 23:153–165.
51. Brown GC., Neher JJ., 2010. Inflammatory neurodegeneration and mechanisms of microglial killing of neurons. *Mol Neurobiol*. 41:242–247.
52. Brown Z., Strieter RM., Neild GH. Thompson RC. Kunkel SL. Westwick J., 1992. IL-1 receptor antagonist inhibits monocyte chemotactic peptide 1 generation by human mesangial cells. *Kidney Int*. 42:95–101.
53. Brune B, Dimmeler S, Molina y Vedia L, Lapetina EG., 1994; Nitric oxide: a signal for ADP-ribosylation of proteins. *Life Sci*. 54:61–70.
54. Bulley S., Shen W., 2010. Reciprocal regulation between taurine and glutamate response via Ca<sup>2+</sup>-dependent pathways in retinal third-order neurons. *J Biomed Sci* 17(1):55
55. Calabrese V1, Boyd-Kimball D, Scapagnini G, Butterfield DA., 2004. Nitric oxide and cellular stress response in brain aging and neurodegenerative disorders: the role of vitagenes. *In Vivo*. 18(3):245-67.
56. Carro E., Torres-Aleman I., 2006. Serum insulin-like growth factor in brain function. *Keio J. Med*. 55(2): 59-63
57. Casañas-Sánchez V., Pérez JA., Fabelo N., Quinto-Aleman D., Díaz ML. 2015. Docosahexaenoic (DHA) modulates phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase (Gpx4) gene expression to ensure self-protection from oxidative damage in hippocampal cells. *Front Physiol*. 22;6:203.
58. Cau SB1, Carneiro FS, Tostes RC., 2012. Differential modulation of nitric oxide synthases in aging: therapeutic opportunities. *Front Physiol*. 25;3:218.
59. Chan CY., Sun HS., Shah SM., Agovic MS., Ho I., Friedman E., Banerjee SP., 2012. Direct interaction of taurine with the NMDA glutamate receptor sub-type via multiple mechanisms. *18th annual Taurine meeting. Marrakesh, Morocco*.
60. Chan CY1, Singh I, Magnuson H, Zohaib M, Bakshi KP, Le François B, Anazco-Ayala A, Ledzde EJ, Tom A, YeeMon K, Ragnauth A, Friedman E, Banerjee SP. 2015. Taurine Targets the GluN2b-Containing NMDA Receptor Subtype. *Adv Exp Med Biol.*; 803:531-44.
61. Chan-Palay V., Lin CT., Palay S., 1982a. Taurine in the mammalian cerebellum: demonstration by autoradiography with [3H]taurine and immunocytochemistry with antibodies against the taurine-synthesizing enzyme, cysteine-sulfuric acid decarboxylase. *Proc Natl Acad Sci US* 79:2695–2699
62. Chan-Palay V., Palay SL, Wu JY., 1982b. Sagittal cerebellar microbands of taurine neurons: immunocytochemical demonstration by using antibodies against the taurine-synthesizing enzyme cysteine sulfuric acid decarboxylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:4221–4225
63. Chang L1, Zhao J, Xu J, Jiang W, Tang CS, Qi YF. 2004. Effects of taurine and homocysteine on calcium homeostasis and hydrogen peroxide and superoxide anions in rat myocardial mitochondria. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 31(4):237-43.

64. Chepkova AN, Doreulee N, Yanovsky Y, Mukhopadhyah D, Haas HL, Sergeeva OA., 2002. Longlasting enhancement of corticostriatal neurotransmission by taurine. *Eur J Neurosci* 16:1523–1530
65. Cho HJ., Xie QW., Calaycay J, Mumford RA, Swiderek KM, Lee TD, Nathan C., 1992. Calmodulin is a subunit of nitric oxide synthase from macrophages. *J Exp Med.* 176:599–604
66. Chomczynski. Piotr, Sacchi Nicoletta. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry*, vol. 162 (1): 156-159, 1987.
67. Christopher Y. ChanEmail authorHerless S. SunSanket M. ShahMervan S. Agoviclvana HoEitan FriedmanShailesh P. Banerjee, 2013. Direct Interaction of Taurine with the NMDA Glutamate Receptor Subtype via Multiple Mechanisms. *Taurine* 8 pp 45-52
68. Cocchi F. ,DeVico A. L. ,Garzino-Demo A. ,Arya S. K. ,Gallo R. C. ,Lusso P. 1995. Identification of RANTES, MIP-1 $\alpha$ , and MIP-1 $\beta$  as the Major HIV-Suppressive Factors Produced by CD8+ T Cells. *Science*270 : 1811 - 1815 .
69. Colafrancesco V1, Villoslada P. 2011. Targeting NGF pathway for developing neuroprotective therapies for multiple sclerosis and other neurological diseases. *Arch Ital Biol.* 149(2):183-92.
70. Conner JM, et al. 1997. Distribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA in the normal adult rat CNS: evidence for anterograde axonal transport. *J Neurosci.* 17:2295–2313.
71. Corinna Trebst, Susan M. Staugaitis, Pia Kivisäkk, Don Mahad, Martha K. Cathcart, Barbara Tucky, Tao Wei, Mysore R. Sandhya Rani, Richard Horuk, Kenneth D. Aldape, Carlos A. Pardo, Claudia F. Lucchinetti, Hans Lassmann, and Richard M. Ransohoff. 2003 CC Chemokine Receptor 8 in the Central Nervous System Is Associated with Phagocytic Macrophages. *Am J Pathol.* Feb; 162(2): 427–4.
72. Cortés MC, Gavito B, Ita ML, Valencia, J, Eguibar JR. 2005. Characterization of the spontaneous and gripping-induced immobility episodes on taiep rats. *Synapse*; 58:95-101. 3.
73. Cortés MC, Ita ML, Eguibar JR. 2004. The sleep-wake cycle is disorganized and out of rhythm in taiep rats. *The Society for Neuroscience.* 5.
74. Cortés MC., Eguibar JR., 2010. Rhythmic recruiting responses are higher during drowsy state in the myelin mutant rat *taiep*. [Submitted for publication to *Epilepsy*].
75. Crane BR., Arvai AS., Ghosh DK., Wu C., Getzoff ED, Stuehr DJ., Tainer JA., 1998. Structure of nitric oxide synthase oxygenase dimer with pterin and substrate. *Science.* 279:2121–2126
76. Croitoru-Lamoury J1, Guillemin GJ, Boussin FD, Mognetti B, Gigout LI, Chéret A, Vaslin B, Le Grand R, Brew BJ, Dormont D., 2003. Expression of chemokines and their receptors in human and simian astrocytes: evidence for a central role of TNF alpha and IFN gamma in CXCR4 and CCR5 modulation. *Glia.* 41(4):354-70.
77. Croll SD., et al., 1999. Brain-derived neurotrophic factor transgenic mice exhibit passive avoidance deficits, increased seizure severity and in vitro hyperexcitability in the hippocampus and entorhinal cortex. *Neuroscience.*;93:1491–1506.
78. D'Ercole AJ., Ye P, O'Kusky JR.. 2002. Mutant mouse models of insulin-like growth factor actions in the central nervous system. *Neuropeptides* 36:209–220.
79. Dale N., Kandel ER. L-glutamate may be the fast excitatory transmitter of *Aplysia* sensory neurons.
80. Danilov A.I., M. Andersson, N. Bavand, N.P. Wiklund, T. Olsson, L. Brundin, 2003. Nitric oxide metabolite determinations reveal continuous inflammation in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 136:112–118
81. De Ryck M, Schallert T, Teitelbaum P. Morphine versus haloperidol catalepsy in the rat: a behavioral analysis of postural support mechanisms. *Brain Res.* 1980 Nov 10;201(1):143-72.
82. De Velazquez, Capitulo 6, Enfermedades de la mielina, en *Apuntes de Neurología*, Editorial Quiron, Madrid, España, 2002. <http://en.infodoctor.org/neuro/>
83. Devalaraja RM, Nanney LB, Du J, Qian Q, Yu Y, Devalaraja MN, Richmond A., 2000. Delayed wound healing in CXCR2 knockout mice. *J. Invest. Dermatol.* 115 (2): 234–44.
84. Di Penta A., Moreno B., Reix S, Fernandez-Diez B, Villanueva M, Errea O, Escala N, Vandenbroeck K, Comella JX, Villoslada P., 2013 Oxidative stress and proinflammatory cytokines contribute to demyelination and axonal damage in a cerebellar culture model of neuroinflammation. *PLoS One.* 8(2):e54722.

85. Dimmeler S, Zeiher AM. Nitric oxide—an endothelial cell survival factor. *Cell Death Differ.* 1999;6:964–968.
86. Duncan, I. D., Lunn, K. F., Holmgren, B., Urba Holmgren, R. & Brignolo-Holmes, L. The taiep rat: a myelin mutant with an associated oligodendrocyte microtubular defect. *Journal of Neurocytology* 1992 **21**, 870–84.
87. Durand D., 1984. The somatic shunt cable model for neurons. *Biophys. J.* 46:645–653.
88. during Postnatal Development of the Myelin Mutant taiep Rat
89. Edman LC., Mira H, Arenas E., 2008. The beta-chemokines CCL2 and CCL7 are two novel differentiation factors for midbrain dopaminergic precursors and neurons. *Exp Cell Res.* Jun 10;314(10):2123-30. doi: 10.1016/j.yexcr.2008.02.019. Epub 2008 Mar 8.
90. Eguibar JR, Cortés MC, Valencia J. 1998.  $\alpha 1$  adrenergic receptors are involved in the occurrence of immobility episodes in the taiep rat. *Soc Neurosci Abstract* 24:1202.
91. Eguibar JR, Cortés MC, Roncagliolo M. The myelin mutant rat *taiep* showed an alteration in the central components of somatosensory and motor evoked potentials. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 2008; 119:S153.
92. El Idrissi A (2006) Taurine 6. Taurine and brain excitability. *Adv Exp Med Biol* 583(5):315–322
93. El Idrissi A (2008) Taurine improves learning and retention in aged mice. *Neurosci Lett* 436:19–22.
94. El Idrissi A, Trenkner E (2004) Taurine as a modulator of excitatory and inhibitory neurotransmission. *Neurochem Res* 29(1):189–197
95. Elisabetta Capuozzo , Laura Pecci , Alessia Baseggio Conrado, Mario Fontana. Thiotaurine Prevents Apoptosis of Human Neutrophils: A Putative Role in Inflammation 2013, *Advances in Experimental Medicine and Biology* 775.
96. Elkarib AO, Sheng JJ, Betz AL, Malvin RL. The central effects of a nitric oxide synthase inhibitor (N-omega-nitro-L-arginine) on blood pressure and plasma renin. *Clin Exp Hypertension.* 1993; 15:819–832
97. Emery B. 2010, Regulation of oligodendrocyte differentiation and myelination. *Science* 330 (6005).
98. Ennaceur A, Neave N, Aggleton JP. 1997. Spontaneous object recognition and object location memory in rats: the effects of lesions in the cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix. *Exp Brain Res*; 113: 509-19.
99. Ericson Mia, PeiPei Chau, Louise Adermark, Bo Söderpalm. Rising Taurine and Ethanol Concentrations in Nucleus Accumbens Interact to Produce the Dopamine-Activating Effects of Alcohol. *Advances in Medicine and Biology* 2013, 978-1-4614
100. Erfors P, et al. Increased levels of messenger RNAs for neurotrophic factors in the brain during kindling epileptogenesis. *Neuron.* 1991; 7:165–176.
101. Fan G., Feng C., Li Y., Wang C., Yan J., Feng J., Shi X., Bi Y. 2009. Selection of nutrients for prevention or amelioration of lead-induced learning and memory impairment in rats. *Ann Occup Hyg.*;53(4):341-351.
102. Fatemi SH, Reutiman TJ, Folsom TD, Huang H, Oishi K, Mori S, Smee DF, Pearce DA, Winter C, Sohr R, Maternal JG (2008) Maternal infection leads to abnormal gene regulation and brain trophy in mouse offspring: implications for genesis of neurodevelopmental disorders. *Schizophr Res* 99:56–70
103. Fawcett JP, et al. Detection of brain-derived neurotrophic factor in a vesicular fraction of brain synaptosomes. *J Biol Chem.* 1997; 272:8837–8840.
104. Fawcett JP, et al. Evidence that brain-derived neurotrophic factor from presynaptic nerve terminals regulates the phenotype of calbindin-containing neurons in the lateral septum. *J Neurosci.* 2000; 20:274–282
105. Fehsel K, Jalowy A, Qi S, Burkart V, Hartmann B, Kolb H. Islet cell DNA is a target of inflammatory attack by nitric oxide. *Diabetes.* 1993, 42:496–500.
106. Fernandez E, Lolis E (2002). «Structure, function, and inhibition of chemokines». *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **42**: 469-99.
107. Ferrer I, et al. BDNF and full-length and truncated TrkB expression in Alzheimer disease. Implications in therapeutic strategies. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1999; 58:729–739.
108. Fischer FR, Santambrogio L, Luo Y, Berman MA, Hancock WW, Dorf ME: Modulation of experimental autoimmune encephalomyelitis: effect of altered peptide ligand on chemokine and chemokine receptor expression. *J Neuroimmunol* 2000, 110:195-208

109. Fischer L, et al. CXCL13 and CXCL12 in central nervous system lymphoma patients. *Clin Cancer Res.* 2009;15(19):5968–5973.
110. Fleming I, Busse R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2003; 284:R1–R12
111. Flores AI, Narayanan SP, Morse EN, Shick HE, Yin X, Kidd G, Avila RL, Kirschner DA, Macklin WB. 2008. Constitutively active Akt induces enhanced myelination in the CNS. *J Neurosci* 28:7174–7183.
112. Flynn G, Maru S, Loughlin J, Romero IA, Male D. Regulation of chemokine receptor expression in human microglia and astrocytes. *J Neuroimmunol.* 2003 Mar; 136(1-2):84-93.
113. Forster R, Mattis AE, Kremmer E, Wolf E, Brem G, Lipp M. A putative chemokine receptor, BLR1, directs B cell migration to defined lymphoid organs and specific anatomic compartments of the spleen. *Cell.* 1996;87(6):1037–1047.
114. Förstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, Kleinert H. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension.* 1994; 23:1121–1131.
115. Förstermann U, Mülsch A, Böhme E, Busse R. Stimulation of soluble guanylate cyclase by an acetylcholine-induced endothelium-derived factor from rabbit and canine arteries. *Circ Res.* 1986; 58:531–538. [PubMed]
116. Förstermann U. Regulation of nitric oxide synthase expression and activity. In: Mayer B, editor. *Handbook of Experimental Pharmacology—Nitric Oxide.* Berlin: Springer; 2000. pp. 71–91.
117. Franconi F. et al (2004) Taurine administration during lactation modifies hippocampal CA1 neurotransmission and behavioural programming in adult male mice. *Brain Res Bull* 63:491–497
118. Franklin and Ffrench 2008 Remyelination in the CNS: From biology to therapy. *Nat. Rev. Neurosci.* 9:839-855
119. Franklin R.J. 2002. Why does remyelination fail in multiple sclerosis *Nat. Rev. Neurosci.* 3:705–714
120. Fredholm BB, Dunwiddie TV., 1988. How does adenosine inhibit transmitter release. *Trends Pharmacol Sci* 9:130–134
121. Frerking M, Malenka RC, Nicoll RA. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) modulates inhibitory, but not excitatory, transmission in the CA1 region of the hippocampus. *J Neurophysiol.* 1998;80:3383–3386.
122. Frosini M, Sesti C, Dragoni S, Valoti M, Palmi M, Dixon HB, Machetti F, Sgaragli G (2003) Interaction of taurine and structurally related analogues with the GABAergic system and taurine binding sites of rabbit brain. *Br J Pharmacol* 138:1163–1171
123. Frost E., Kiernan B.W., Faissner A., Ffrench-Constant C., 1996. Regulation of oligodendrocyte precursor migration by extracellular matrix: Evidence for substrate-specific inhibition of migration by tenascin-C. *Dev. Neurosci.* 18:266–273
124. Fruttiger M., Karlsson L., Hall A.C., Abramsson A., Calver A.R., Boström H., Willetts K., Bertold C.H., Heath J.K., Betsholtz C., 1999. Defective oligodendrocyte development and severe hypomyelination in PDGF-A knockout mice. *Development.* 126:457–467
125. Fu L, et al. Fibroblast growth factor19 increases metabolic rate and reverses dietary and leptin-deficient diabetes. *Endocrinology.* 2004;145:2594–2603.
126. Fuenzalida M1, Aliaga E, Olivares V, Roncagliolo M, Bonansco C. 2009. Developmental increase of asynchronous glutamate release from hippocampal synapses in mutant taiep rat. *Synapse.* 63(6):502-9.
127. Fujioka H, Akema T (2010) Lipopolysaccharide acutely inhibits proliferation of neural precursor cells in the dentate gyrus in adult rats. *Brain Res* 1352:35–42
128. Fulton D, Gratton JP, McCabe TJ, Fontana J, Fujio Y, Walsh K, Franke TF, Papapetropoulos A, Sessa WC. Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt. *Nature.* 1999;399:597–601.
129. Furchgott RF, Cherry PD, Zawadzki JV, Jothianandan D. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1984;53:557–573
130. Furlan R., Bergami A., Cantarella D., Brambilla E., Taniguchi M., 2003. Activation of invariant NKT cells by alphaGalCer administration protects mice from MOG35-55-induced EAE: critical roles for administration route and IFN-gamma. *Eu. J. Immunol.* 33(7): 1830-8

131. Galarreta M, Bustamante J, Martin del Río R, Solís JM (1996) Taurine induces a long-lasting increase of synaptic efficacy and axon excitability in the hippocampus. *J Neurosci* 16:92–102
132. Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1989;83:1774–1777.
133. Garthwaite J. Glutamate, nitric oxide and cell–cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci.* 1991;14:60–67
134. Gaut JP, Yeh GC, Tran DH, Byun J, Henderson JP, Richter GM, Brennan ML, Lulis AJ, Belaaouaj A, Hotchkiss RS, Heinecke JW (2001) Neutrophils employ the myeloperoxidase system to generate antimicrobial brominating and chlorinating oxidants during sepsis. *Proc Natl Acad Sci* 98:11961–11966
135. *Glabinski AR, Tuohy VK, Ransohoff RM.* Expression of chemokines RANTES, MIP-1alpha and GRO-alpha correlates with inflammation in acute experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neuroimmunomodulation.* 1998 May-Aug; 5(3-4):166-71.
136. Gleichmann, M., Gillen, C., Czardybon, M., Bosse, F., Greiner-Petter, R., Auer, J., et al. (2000). Cloning and characterization of SDF-1gamma, a novel SDF-1 chemokine transcript with developmentally regulated expression in the nervous system. *Eur. J. Neurosci.* 12, 1857–1866. doi: 10.1046/j.1460-9568.2000.00048.x
137. Godiska R, Chantry D, Dietsch GN, Gray PW: Chemokine expression in murine experimental allergic encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 1995, 58:167-176.
138. Goggi J, et al. The control of [125I]BDNF release from striatal rat brain slices. *Brain Res.* 2003;967:201–209
139. Goya I, Gutierrez J, Varona R, Kremer L, Zaballos A, Marquez G: Identification of CCR8 as the specific receptor for the human beta-chemokine I-309: cloning and molecular characterization of murine CCR8 as the receptor for TCA-3. *J Immunol* 1998, 160:1975-1981
140. Griesbeck O, et al. Are there differences between the secretion characteristics of NGF and BDNF? Implications for the modulatory role of neurotrophins in activity-dependent neuronal plasticity. *Microsc Res Tech.* 1999;45:262–275.
141. Gudi T, Hong GK, Vaandrager AB, Lohmann SM, Pilz RB. Nitric oxide and cGMP regulate gene expression in neuronal and glial cells by activating type II cGMP-dependent protein kinase. *FASEB J.* 1999;13:2143–2152.
142. Guilarte TR (1989) Regional changes in the concentrations of glutamate, glycine, taurine, and GABA in the vitamin B-6 deficient developing rat brain: association with neonatal seizures. *Neurochem Res* 14:889–897
143. Guyon A1, Skrzydelsi D, Rovère C, Rostène W, Parsadaniantz SM, Nahon JL. Stromal cell-derived factor-1alpha modulation of the excitability of rat substantia nigra dopaminergic neurones: presynaptic mechanisms. *J Neurochem.* 2006 Mar;96(6):1540-50. Epub 2006 Feb 10.
144. Hall J, Thomas KL, Everitt BJ. Rapid and selective induction of BDNF expression in the hippocampus during contextual learning. *Nat Neurosci.* 2000;3:533–535.
145. Hayashida K, Nanki T, Girschick H, Yavuz S, Ochi T, Lipsky PE. Synovial stromal cells from rheumatoid arthritis patients attract monocytes by producing MCP-1 and IL-8. *Arthritis Res.* 2001;3:118–126.
146. Heinisch S, Kirby LG. SDF-1alpha/CXCL12 enhances GABA and glutamate synaptic activity at serotonin neurons in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropharmacology.* 2010 Feb;58(2):501-14.
147. Hemmens B, Goessler W, Schmidt K, Mayer B. Role of bound zinc in dimer stabilization but not enzyme activity of neuronal nitric-oxide synthase. *J Biol Chem.* 2000;275:35786–35791.
148. Hemmens B, Mayer B. Enzymology of nitric oxide synthases. *Methods Mol Biol.* 1998;100:1–32.
149. Hieshima K, Imai T, Baba M, Shoudai K, Ishizuka K, Nakagawa T, Tsuruta J, Takeya M, Sakaki Y, Takatsuki K, Miura R, Opendakker G, Van Damme J, Yoshie O, Nomiyama H. A novel human CC chemokine PARC that is most homologous to macrophage-inflammatory protein-1 alpha/LD78 alpha and chemotactic for T lymphocytes, but not for monocytes. *J Immunol.* 1997 Aug 1; 159(3):1140-9.
150. Hollis ER 2nd, Lu P, Blesch A, Tuszynski MH (2009) IGF-I gene delivery promotes corticospinal neuronal survival but not regeneration after adult CNS injury. *Exp Neurol* 215: 53–59.

151. Holmgren B, Urbá-Holmgren R, Riboni L, Vega-Sáenz de Miera EC. Sprague-Dawley rat mutant with tremor, ataxia, tonic immobility episodes, epilepsy and paralysis. *Lab Anim Sci* 1989;39:226-228.
152. Holscher C, Rose SP. An inhibitor of nitric oxide synthesis prevents memory formation in the chick. *Neurosci Lett.* 1992;145:165–167
153. Hong YR., Lee H., Park MH., Lee JK., Lee JY., Suh HD., Jeong MS., Bae JS., Jin HK., 2015. CCL2 induces neural stem cell proliferation and neuronal differentiation in Niemann-Pick type C mice. *J Vet Med Sci.* 77(6):693-9.
154. Hongdi Meng, Sarah K. Larson, Rui Gao, Xiaoxi Qiao. 2007. BDNF transgene improves ataxic and motor behaviors in stargazer mice. *Brain Research* 1160:47-57
155. Horch HW, Katz LC. BDNF release from single cells elicits local dendritic growth in nearby neurons. *Nat Neurosci.* 2002;5:1177–1184.
156. Howells DW, et al. Reduced BDNF mRNA expression in the Parkinson's disease substantia nigra. *Exp Neurol.* 2000;166:127–135.
157. Huang EJ, Reichardt LF 2001 Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci* 24: 677–736
158. Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci.* 2001;24:677–736.
159. Hussy N, Deleuze C, Desarménien MG, Moos FC (2000) Osmotic regulation of neuronal activity: a new role for taurine and glial cells in a hypothalamic neuroendocrine structure. *Prog Neurobiol* 62:113–134
160. Ignarro LJ, Harbison RG, Wood KS, Kadowitz PJ. Activation of purified soluble guanylate cyclase by endothelium-derived relaxing factor from intrapulmonary artery and vein: stimulation by acetylcholine, bradykinin and arachidonic acid. *J Pharmacol Exp Ther.* 1986;237:893–900.
161. Isackson PJ, et al. BDNF mRNA expression is increased in adult rat forebrain after limbic seizures: temporal patterns of induction distinct from NGF. *Neuron.* 1991;6:937–948.
162. Ita ML, Cortés Mdel C, Valencia J, Eguibar JR. Activation of serotonin 5-HT1-receptors decreased gripping-induced immobility episodes in taiep rats. *Neurosci Lett.* 2009 Jan 9;449(2):147-50.
163. Itoh N, Ornitz DM. Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. *Trends Genet.* 2004;20:563–569.
164. Izumi Y, Clifford DB, Zorumski CF. Inhibition of long-term potentiation by NMDA-mediated nitric oxide release. *Science.* 1992;257:1273–1276
165. Izumi Y, Zorumski CF. Nitric oxide and long-term synaptic depression in the rat hippocampus. *Neuroreport.* 1993;4:1131–1134
166. Jakovcevski Igor, Radmila Filipovic,1,2 Zhicheng Mo,1,3 Sonja Rakic,1,4 and Nada Zecevic, 2009. Oligodendrocyte Development and the Onset of Myelination in the Human Fetal Brain. *Front Neuroanat.* 3: 5.
167. Jang JS, Piao SY, Cha Y-N, Kim C., 2009. Taurine chloramine activates Nrf2, increases HO-1 expression and protects cells from death caused by hydrogen peroxide. *J Clin Biochem Nutr* 45:37–43
168. Janusz Marcinkiewicz and Ewa Kontny 2014. Taurine and inflammatory diseases. *Amino Acids* 46:7–20
169. Jaworski J, Spangler S, Seeburg DP, Hoogenraad CC, Sheng M (2005) Control of dendritic arborization by the phosphoinositide-3'-kinase-Akt-mammalian target of rapamycin pathway. *J Neurosci* 25: 11300–11312
170. Jovanovic JN, et al. Brain-derived neurotrophic factor modulates fast synaptic inhibition by regulating GABA(A) receptor phosphorylation, activity, and cell-surface stability. *J Neurosci.* 2004;24:522–530.
171. Junyent F, Porquet D, de Lemos L et al (2011) Decrease of calbindin-d28k, calretinin, and parvalbumin by taurine treatment does not induce a major susceptibility to kainic acid. *J Neurosci Res* 89:1043–1051
172. Junyent F, Romero R, de Lemos L et al (2010) Taurine treatment inhibits CaMKII activity and modulates the presence of calbindin D28k, calretinin, and parvalbumin in the brain. *J Neurosci Res* 88:136–142

173. Kadi L, Selvaraju R, de Lys P, Proudfoot AE, Wells TN, Boschert T. 2006. Differential effects of chemokines on oligodendrocyte precursor proliferation and myelin formation in vitro. *J Neuroimmunol.* 174: 133-46.
174. Kang H, Schuman EM. Long-lasting neurotrophin-induced enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus. *Science.* 1995;267:1658–1662.
175. Khan BV, Harrison DG, Olbrych MT, Alexander RW, Medford RM. Nitric oxide regulates vascular cell adhesion molecule 1 gene expression and redox-sensitive transcriptional events in human vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93:9114–9119
176. Khorramdelazada Hossein, Vahid Bagheria, Gholamhossein Hassanshahia, Masoud Zeinalib, Alireza Vakilian, 2016. New insights into the role of stromal cell-derived factor 1 (SDF-1/CXCL12) in the pathophysiology of multiple sclerosis. *J Immunol.* 290:70-75
177. Kilb Werner, Sergei Kirischuk,\* and Heiko J. Luhmann, 2013. Role of tonic GABAergic currents during pre- and early postnatal rodent development *Front Neural Circuits.* 7: 139
178. Kim BS, Cho IS, Park SY, Schuller-Levis G, Levis W, Park E. Taurine chloramine inhibits NO and TNF- $\alpha$  production in zymosan plus interferon- $\gamma$  activated RAW 264.7 cells.
179. Kim BS., Cho IS, Park SY, Schuller-Levis G, Levis W, Park E. 2011. Taurine chloramine inhibits NO and TNF- $\alpha$  production in zymosan plus interferon- $\gamma$  activated RAW 264.7 cells *J Drugs Dermatol.* 10(6):659-65.
180. Kim C, Jang JS, Cho MR, Agarawal SA, Cha Y-N (2010a) Taurine chloramine induces heme oxygenase-1 expression via Nrf2 activation in murine macrophages. *Int Immunopharmacol* 10: 440–446
181. Kim C, Park E, Quinn MR, Schuller-Levis G (1996) The production of superoxide anion and nitric oxide by cultured murine leukocytes and the accumulation of TNF-alpha in the conditioned media is inhibited by taurine chloramine. *Immunopharmacology* 34:89–95
182. Kim CH, Rott LS, Clark-Lewis I, Campbell DJ, Wu L, Butcher EC. Subspecialization of CXCR5<sup>+</sup> T cells: B helper activity is focused in a germinal center-localized subset of CXCR5<sup>+</sup> T cells. *J Exp Med.* 2001;193(12):1373–1381.
183. Kim JW, Kim C (2005) Inhibition of LPS-induced NO production by taurine chloramine in macrophages is mediated through Ras-ERK-NF-kappaB. *Biochem Pharmacol* 70:1352–1360
184. Kim KS, Choi H-M, Oh DH, Kim C, Jeong JS, Yoo MC, Yang H-I (2010b) Effect of taurine chloramine on the production of matrix metalloproteinases (MMPs) in adiponectin- or IL-1 $\beta$ -stimulated fibroblast-like synoviocytes. *J Biomed Sci* 17(S1):S27
185. Kim KS, Park EK, Ju SM, Jung HS, Bang JS, Kim C, Lee YA, Hong SJ, Lee SH, Yang HI, Yoo MC (2007) Taurine chloramine differentially inhibits matrix metalloproteinase 1 and 13 synthesis in interleukin-1 $\beta$  stimulated fibroblast-like synoviocytes. *Arthritis Res Ther* 9:R80
186. Klemm WR. EEG and multiple-unit activity in limbic and motor systems during movement and immobility. *Physiol Behav.* 1971 Sep;7(3):337-43.
187. Kodama T., Lai YY., Siegel JM., 2003. Changes in inhibitory amino acid release linked to pontine-induced atonia: an in vivo microdialysis study. *J Neurosci.* 15;23(4):1548-54.
188. Kokaia M, et al. Suppressed epileptogenesis in BDNF mutant mice. *Exp Neurol.* 1995;133:215–224.
189. Kontro P, Oja SS (1987) Taurine and GABA release from mouse cerebral cortex slices: potassium stimulation releases more taurine than GABA from developing brain. *Brain Res* 465:277–291
190. Kröncke KD, Kolb-Bachofen V, Berschick B, Burkart V, Kolb H. Activated macrophages kill pancreatic syngeneic islet cells via arginine-dependent nitric oxide generation. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991;175:752–758
191. Krumbholz M, et al. Chemokines in multiple sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-regulation is differentially linked to CNS immune cell recruitment. *Brain.* 2006;129(Pt 1):200–211.
192. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991;88:4651–4655
193. Kusano KF, Nakamura K, Kusano H, Nishii N, Banba M, Ikeda T, Hashimoto K, Yamamoto M, Fujio H, Miura A, Ohta K, Morita H, Saito H, Emori T, Nakamura Y, Kusano I, Ohe T. Significance of the level of monocyte chemoattractant protein-1 in human atherosclerosis. *Circ J.* 2004;68:671–676.

194. L'Amoreaux WJ, Marsillo A, El Idrissi A (2010) Pharmacological characterization of GABAA receptors in taurine-fed mice. *J Biomed Sci* 17(Suppl 1):S14
195. Lahtinen S, et al. Decreased BDNF signalling in transgenic mice reduces epileptogenesis. *Eur J Neurosci*. 2002;15:721–734.
196. Laurino L, Wang XX, de la Houssaye BA, Sosa L, Dupraz S, Caceres A, et al. (2005) PI3K activation by IGF-1 is essential for the regulation of membrane expansion at the nerve growth cone. *J Cell Sci* 118: 3653–3662.
197. LeBlanc VR., 2009 The effects of acute stress on performance: implications for health professions education. *Acad Med*. 84 (10):S25-33.
198. Lee JH, Yang ES, Park JW. Inactivation of NADP+-dependent isocitrate dehydrogenase by peroxynitrite. Implications for cytotoxicity and alcohol-induced liver injury. *J Biol Chem*. 2003;278:51360–51371
199. Lekontseva O1, Chakrabarti S, Jiang Y, Cheung CC, Davidge ST. 2011 Role of neuronal nitric-oxide synthase in estrogen-induced relaxation in rat resistance arteries. *J Pharmacol Exp Ther*. 339(2):367-75.
200. Leon R, Wu H, Jin Y et al (2009) Protective function of taurine in glutamate-induced apoptosis in cultured neurons. *J Neurosci Res* 87:1185–1194
201. Leon-Chavez, B.A.; Aguilar-Alonso, P.; Gonzalez-Barrios, J.A. *Brain Research* **2006**, 1121, 221–230.
202. León-Chávez, B.A.; Guevara, J.; Galindo, S.; Luna, J.; Ugarte, A.; Villegas, O.; Mena, R.; Eguibar, J.R.; Martinez-Fong, D. *Brain Research* **2001**, 900,152-5
203. Lezama Asencio, P. 2006. Rol de quimiocinas y sus receptores en la inflamación. *Rev. Med. Vallejana* 3(2): 133-139.
204. Li FY1, Song J, Duncan ID. 2003. Mapping of taiep rat phenotype to rat Chromosome 9. *Mamm Genome*. 10:703-5.
205. Li R., Ma L, Huang H, Ou S, Yuan J, Xu T, Yu X, Liu X, Yang J, Chen Y, Peng X., 2016. Altered Expression of CXCL13 and CXCR5 in Intractable Temporal Lobe Epilepsy Patients and Pilocarpine-Induced Epileptic Rats. *Neurochem Res*.
206. Lidsky TI, Banerjee SP (1992) Clozapine's mechanisms of action: non-dopaminergic activity rather than anatomical selectivity. *Neurosci Lett* 139:100–103
207. Lidsky TI, Banerjee SP (1993) Acute administration of haloperidol enhances dopaminergic transmission. *J Pharmacol Exp Ther* 265:1193–1198
208. Lidsky TI, Schneider JS, Yablonsky-Alter E, Zuck LG, Banerjee SP (1995) Taurine prevents haloperidol-induced changes in striatal neurochemistry and behavior. *Brain Res* 686:104–106
209. Lieb K., S. Engels, B.L. Fiebich, 2003. Inhibition of LPS-induced iNOS and NO synthesis in primary rat microglial cells. *Neurochem. Int.*, 42:131–137
210. Lin CT, Song GX, Wu JY (1985a) Is taurine a neurotransmitter in rabbit retina *Brain Res* 337:293–298
211. Lindholm D, et al. Activity-dependent and hormonal regulation of neurotrophin mRNA levels in the brain—implications for neuronal plasticity. *J Neurobiol*. 1994;25:1362–1372.
212. Lindner M, Trebst C, Heine S, T Skripuletz, Koutsoudaki PN, Stangel M. The chemokine receptor CXCR2 is differentially regulated on glial cells in vivo but is not required for successful remyelination after cuprizone-induced demyelination. *Glía*. 2008 Ago 1; 56 (10): 1104-1113.
213. Lindvall O, et al. Neurotrophins and brain insults. *Trends Neurosci*. 1994;17:490–496.
214. Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, Lei SZ, Chen HS, Sucher NJ, Loscalzo J, Singel DJ, Stamler JS. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*. 1993;364:626–632
215. Liu CM, Hur EM, Zhou FQ (2012) Coordinating Gene Expression and Axon Assembly to Control Axon Growth: Potential Role of GSK3 Signaling. *Front Mol Neurosci* 5: 3.
216. Liu XB, Hill P, Haile DJ. Role of the ferroportin iron-responsive element in iron and nitric oxide dependent gene regulation. *Blood Cells Mol Dis*. 2002;29:315–326.
217. Liu Y., Quinn MR., 2002. Chemokine production by rat alveolar macrophages is inhibited by taurine chloramine. *Immunol Lett*. 1;80(1):27-32.
218. Liu Y1, Holdbrooks AT1, Meares GP1, Buckley JA1, Benveniste EN2, Qin H 2015. Preferential Recruitment of Neutrophils into the Cerebellum and Brainstem Contributes to the Atypical Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Phenotype. *J Immunol*. 195(3):841-52.

219. Ljostad U, Mygland A. CSF B-lymphocyte chemoattractant (CXCL13) in the early diagnosis of acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol.* 2008;255(5):732–737.
220. Lohof AM, Ip NY, Poo MM. Potentiation of developing neuromuscular synapses by the neurotrophins NT-3 and BDNF. *Nature.* 1993;363:350–353
221. Lonze BE, Riccio A, Cohen S, Ginty DD (2002) Apoptosis, axonal growth defects, and degeneration of peripheral neurons in mice lacking CREB. *Neuron* 34: 371–385.
222. Love S. 2006. Demyelinating diseases. *Journal Clinical Pathology.* 59(11): 1151-1159
223. Ludwin SK., 1980. Chronic demyelination inhibits remyelination in the central nervous system. An analysis of contributing factors. *Lab Invest* 43(4); 382-7
224. Lund BT, Ashikian N, Ta HQ, Chakryan Y, Manoukian K, Groshen S, Gilmore W, Cheema GS, Stohl W, Burnett ME, Ko D, Kachuck NJ, Weiner LP. Increased CXCL8 (IL-8) expression in Multiple Sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2004 Oct; 155(1-2):161-71.
225. Luster AD 1998 quimioquinas - citocinas quimiotáticas que median la inflamación. *New England Journal of Medicine* 338 436 -445.
226. Luther SA. and Cyster JG., 2001. Chemokines as regulators of T-cell differentiation. *Nature Immunology* 2 102 -107
227. Luz Matthias, Erich Mohr, H. Christian Fibiger GDNF-induced cerebellar toxicity: A brief review. *NeuroToxicology* 52:46-56
228. Ma N, Adachi Y, Hiraku Y, Horiki N, Horike S, Imoto I, Pinlaor S, Murata M, Semba R, Kawanishi S (2004) Accumulation of 8-nitroguanine in human gastric epithelium induced by *Helicobacter pylori* infection. *Biochem Biophys Res Commun* 319:506–510
229. Ma Q., Zhao J, Cao W1, Liu J1, Cui S., 2015. Estradiol decreases taurine level by reducing cysteine sulfinic acid decarboxylase via the estrogen receptor- $\alpha$  in female mice liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 15;308(4):G277-86.
230. Ma Q., Zhao J., Cao W., Liu J., Cui S., 2015 Estradiol decreases taurine level by reducing cysteine sulfinic acid decarboxylase via the estrogen receptor- $\alpha$  in female mice liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 15;308(4):G277-86.
231. Magnusson KR, Koerner JF, Larson AA, Smullin DH, Skilling SR, Beitz AJ., 1991. NMDA-, kainate- and quisqualate-stimulated release of taurine from electrophysiologically monitored rat hippocampal slices. *Brain Res* 549:1–8
232. Mahad D., Callahan MK., Williams KA., Ubogu EE., Kivisäkk P., Tucky B., Kidd G., Kingsbury GA., Chang A., Fox RJ., Mack M., Sniderman MB., Ravid R., Staugaitis SM., Stins MF., Ransohoff RM., 2006. Modulating CCR2 and CCL2 at the blood-brain barrier: relevance for multiple sclerosis pathogenesis. *Brain.* 129(1):212-23.
233. Marcinkiewicz J, Biedroń R, Białecka A et al (2006) Susceptibility of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* to killing by MPO-halide system products. Implication for taurine bromamine as a new candidate for topical therapy in treating acne vulgaris. *Arch Immunol Ther Exp* 54(1):61–68
234. Marin R, Guerra B, Alonso R, Ramirez CM, Diaz M. 2005. Estrogen activates classical and alternative mechanisms to orchestrate neuroprotection. *Curr Neurovasc Res.* 2:287–301
235. Markus A, Zhong J, Snider WD (2002) Raf and akt mediate distinct aspects of sensory axon growth. *Neuron* 35: 65–76.
236. Marro BS., Grist JJ., Lane TE., 2016. Inducible Expression of CXCL1 within the Central Nervous System Amplifies Viral-Induced Demyelination. *J Immunol.* 196(4):1855-64.
237. Matthew J.M. Rowan, Simon Bulley , Lauren A. Purpura, Harris Ripps, Wen Shen. Taurine Regulation of Voltage-Gated Channels in Retinal Neurons. *Medicine and Biology* 2013, 775:10.1007
238. Maysami S1, Nguyen D, Zobel F, Pitz C, Heine S, Höpfner M, Stangel M. 2006. Modulation of rat oligodendrocyte precursor cells by the chemokine CXCL12. *Neuroreport.* 17(11):1187-90.
239. McCabe TJ, Fulton D, Roman LJ, Sessa WC. Enhanced electron flux and reduced calmodulin dissociation may explain ‘calcium-independent’ eNOS activation by phosphorylation. *J Biol Chem.* 2000;275:6123–6128
240. McFarland R1, Blokhin A, Sydnor J, Mariani J, Vogel MW. 2007. Oxidative stress, nitric oxide, and the mechanisms of cell death in Lurcher Purkinje cells. *Dev Neurobiol.* 67(8):1032-46.
241. McManus CM, Brosnan CF, Berman JW., 1998. Cytokine induction of MIP-1 alpha and MIP-1 beta in human fetal microglia. *J Immunol* 160:1449±55.

242. Michael J. Stuart, Frances Corrigan, and Bernhard T., 2014. Baune Knockout of CXCR5 increases the population of immature neural cells and decreases proliferation in the hippocampal dentate gyrus. *J Neuroinflammation*. 11: 31.
243. Midwinter RG1, Cheah FC, Moskovitz J, Vissers MC, Winterbourn CC.. 2006 IkappaB is a sensitive target for oxidation by cell-permeable chloramines: inhibition of NF-kappaB activity by glycine chloramine through methionine oxidation. *Biochem J*. May 15;396(1):71-8
244. Miki Furusho, Jeffrey L. Dupree, Klaus-Armin Nave, and Rashmi Bansal 2012. Fibroblast Growth Factor Receptor Signaling in Oligodendrocytes Regulates Myelin Sheath Thickness. *The Journal of Neuroscience*. 32(19):6631– 6641
245. Mikkelsen RB, Wardman P. Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms. *Oncogene*. 2003;22:5734–5754.
246. Miller R.H. 2002. Regulation of oligodendrocyte development in the vertebrate CNS. *Prog. Neurobiol*. 67:451–467
247. Miller R.H., Payne J., Milner L., Zhang H., Orentas D.M., 1997. Spinal cord oligodendrocytes develop from a limited number of migratory highly proliferative precursors. *J. Neurosci. Res*. 50:157–168
248. Miller RJ. Activation of the nuclear factor of activated T-cells (NFAT) mediates upregulation of CCR2 chemokine receptors in dorsal root ganglion (DRG) neurons: A possible mechanism for activity-dependent transcription in DRG neurons in association with neuropathic pain. *Mol Cell Neurosci*. 2008;37:170–177.
249. Milligan ED, Twining C, Chacur M, Biedenkapp J, O'Connor K, Poole S, Tracey K, Martin D, Maier SF, Watkins LR. Spinal glia and proinflammatory cytokines mediate mirror-image neuropathic pain in rats. *J Neurosci*. 2003;23:1026–1040.
250. Minichiello L, et al. Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning. *Neuron*. 1999;24:401–414.
251. Misra HP., 1974. Generation of superoxide free radical during the autoxidation of thiols. *J Biol Chem*. 10;249(7):2151-5.
252. Mohammadi M, Olsen SK, Ibrahimi OA. Structural basis for fibroblast growth factor receptor activation. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2005;16:107–137.
253. Möller JR1, Durr PG, Quarles RH, Duncan ID., 1997. Biochemical analysis of myelin proteins in a novel neurological mutant: the taiep rat. *J Neurochem*. Aug;69(2):773-9
254. Molteni R., Fumagalli F., Magnaghi V., Roceri M., Gennarelli M., 2001. Modulation of fibroblast growth factor-2 by stress and corticosteroids: from developmental events to adult brain plasticity. *Brain Res. Rev*. 37(1-3): 249-58
255. Montanini R, Gasco P (1974) Taurine in the treatment of diffuse cerebral arteriopathies. Clinical and electroencephalographic observations and psychological tests. *Clin Ter* 71:427–436
256. Mowla SJ, et al. Differential sorting of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in hippocampal neurons. *J Neurosci*. 1999;19:2069–2080.
257. Moyon Sarah, Anne Laure Dubessy, Marie Stephane Aigrot, Matthew Trotter, Jeffrey K. Huang, Luce Dauphinot, Marie Claude Potier, Christophe Kerninon, Stephane Melik Parsadaniantz, Robin J. M. Franklin and Catherine Lubetzki, 2015. Demyelination Causes Adult CNS Progenitors to Revert to an Immature State and Express Immune Cues That Support Their Migration. *Journal of Neuroscience*. 35(1)4-20
258. Mu T, Yang J, Li Z, Wu G, Hu J. 2015. Effect of taurine on reproductive hormone secretion in female rats. *Adv Exp Med Biol*. 803:449-56
259. Mueller CF, Laude K, McNally JS, Harrison DG. Redox mechanisms in blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:274–278.
260. Murdoch L. Finn A., 2000 Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood* 95(10):3032-43
261. Murer MG, Yan Q, Raisman-Vozari R. Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 2001;63:71–124.
262. Murphy PM, Baggiolini M, Charo SI, Hebert CA, Horuk R, K Matsushima, Miller LH, Oppenheim JJ & Power CA 2000 Unión Internacional de Farmacología, XXII. Nomenclatura para receptores de quimioquinas. *Opiniones farmacológica* 52 145 -176
263. Nakajima Y, Osuka K, Seki Y et al (2010) Taurine reduces inflammatory responses after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 27:403–410

264. Nakane M, Schmidt HH, Pollock JS, Förstermann U, Murad F. Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle. *FEBS Lett.* 1993;316:175–180.
265. Nathan CF, Hibbs JB. Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. *Curr Opin Immunol.* 1991;3:65–70
266. Nave K.A., Trapp B.D., 2008. Axon-glia signaling and the glial support of axon function. *Annu. Rev. Neurosci.* 31:535
267. Neote K., DiGregorio D., Mak J. Y., Horuk R., Schall T. J. (1993) *Cell* 72 : 415 - 425 .
268. Niblock MM, Brunso-Bechtold JK, Riddle DR (2000) Insulin-like growth factor I stimulates dendritic growth in primary somatosensory cortex. *J Neurosci* 20: 4165–4176.
269. Nibuya M, Morinobu S, Duman RS. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J Neurosci.* 1995;15:7539–7547.
270. O'Dell TJ, Hawkins RD, Kandel ER, Arancio O. Tests of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation: evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991;88:11285–11289.
271. O'Connor Lawrence T., Brian D. Goetz, Eduardo Couve, Jonathan Song\* and Duncan I.D., 2000 Intracellular Distribution of Myelin Protein Gene Products Is Altered in Oligodendrocytes of the taiep Rat. *Molecular and Cellular Neuroscience* 16, 396–407
272. Ogino T1, Hosako M, Hiramatsu K, Omori M, Ozaki M, Okada S., 2005. Oxidative modification of IkappaB by monochloramine inhibits tumor necrosis factor alpha-induced NF-kappaB activation. *Biochim Biophys Acta.* 15;1746(2):135-42.
273. Okamoto K, Kimura H, Sakai Y (1983b) Evidence for taurine as an inhibitory neurotransmitter in cerebellar stellate interneurons: selective antagonism by TAG (6-aminomethyl-3-methyl-4H,1,2,4-benzothiadiazine-1,1-dioxide). *Brain Res* 265:163–168
274. Okamoto K, Kimura H, Sakai Y. (1983) Taurine-induced increase of the Cl-conductance of cerebellar Purkinje cell dendrites in vitro. *Brain Res.*259:319–23.
275. Omari KM., John G, Lango R, Raine CS., 2006. Role for CXCR2 and CXCL1 on glia in multiple sclerosis. *Glia.* 53(1):24-31.
276. Ozdinler PH, Macklis JD (2006) IGF-I specifically enhances axon outgrowth of corticospinal motor neurons. *Nat Neurosci* 9: 1371–1381.
277. Pan C, Giraldo GS, Prentice H, Wu J-Y (2010) Taurine protection of PC12 cells against endoplasmic reticulum stress induced by oxidative stress. *J Biomed Sci* 17(Suppl 1):S1–S17
278. Pan C, Prentice H, Price AL, Wu J-Y (2011) Beneficial effect of taurine on hypoxia- and glutamate-induced endoplasmic reticulum stress pathways in primary neuronal culture. *Amino Acids* 43:845–855.
279. Pantopoulos K, Hentze MW. Nitric oxide signaling to iron-regulatory protein: direct control of ferritin mRNA translation and transferrin receptor mRNA stability in transfected fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:1267–1271.
280. Park E, Schuller-Levis G, Quinn MR (1995) Taurine chloramine inhibits production of nitric oxide and TNF-alpha in activated RAW 264.7 cells by mechanisms that involve transcriptional and translational events. *J Immunol* 154:4778–4784
281. Pencea V, et al. Infusion of brain-derived neurotrophic factor into the lateral ventricle of the adult rat leads to new neurons in the parenchyma of the striatum, septum, thalamus, and hypothalamus. *J Neurosci.* 2001;21:6706–6717.
282. Pfenninger KH, Laurino L, Peretti D, Wang X, Rosso S, Morfini G, et al. (2003) Regulation of membrane expansion at the nerve growth cone. *J Cell Sci* 116: 1209–1217.
283. Phillips HS, et al. BDNF mRNA is decreased in the hippocampus of individuals with Alzheimer's disease. *Neuron.* 1991;7:695–702.
284. Pillarisetti, K., and Gupta, S. K. (2001). Cloning and relative expression analysis of rat stromal cell derived factor-1 (SDF-1)1: SDF-1 alpha mRNA is selectively induced in rat model of myocardial infarction. *Inflammation* 25, 293–300. doi: 10.1023/A:1012808525370
285. Pivarcsi A, Gombert M, Dieu-Nosjean MC, Lauerma A, Kubitza R, Meller S, Rieker J, Muller A, Da Cunha L, Haahtela A, Sonkoly E, Fridman WH, Alenius H, Kemeny L, Ruzicka T, Zlotnik A, Homey B. CC chemokine ligand 18, an atopic dermatitis-associated and dendritic cell-derived chemokine, is regulated by staphylococcal products and allergen exposure. *J Immunol.* 2004 Nov 1; 173(9):5810-7

286. Poon K., Abramova D., Ho HT., Leibowitz S., 2016. Prenatal fat-rich diet exposure alters responses of embryonic neurons to the chemokine, CCL2, in the hypothalamus. *Neuroscience*. 2;324:407-19.
287. Pozdnyakov N, Lloyd A, Reddy VN, Sitaramayya A. Nitric oxide-regulated endogenous ADP-ribosylation of rod outer segment proteins. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993;192:610–615.
288. Prieto GJ, Urbá-Holmgren R, Holmgren B. Sleep and EEG disturbances in a rat neurological mutant (*taiep*) with immobility episodes: A model of narcolepsy-cataplexy. *EEG Clin Neurophysiol* 1991;79:141-147.
289. Prins M, Dutta R, Baselmans B, Brevé JJ, Bol JG, Deckard SA, van der Valk P, Amor S, Trapp BD, de Vries HE, Drukarch B, van Dam AM. 2014 Discrepancy in CCL2 and CCR2 expression in white versus grey matter hippocampal lesions of Multiple Sclerosis patients. *Acta Neuropathol Commun*. 23;2:98. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Aug 1;90(15):7163-7.
290. Progressive Deterioration of Central Components of Auditory Brainstem Responses
291. Purves D et al (2008) *Neuroscience*, 4th edn, Modulation of movement by the cerebellum. Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA, pp 475–494
292. Qian T., Chen R., Nakamura M3, Furukawa T., Kumada T., Akita T., Kilb W., Luhmann HJ., Nakahara D., Fukuda A., 2014. Activity-dependent endogenous taurine release facilitates excitatory neurotransmission in the neocortical marginal zone of neonatal rats. *Front Cell Neurosci*. 10;8:33.
293. Quinn MR, Miller CL (1992) Taurine allosterically modulates fl unitrazepam binding to synaptic membranes. *J Neurosci Res* 33:136–141
294. Rabinovsky ED The multifunctional role of IGF-1 in peripheral nerve regeneration. *Neurol Res*. 2004 Mar; 26(2):204-10.
295. Radoslaw Rola, Yani Zouc, Ting-Ting Huangc, d, Kelly Fishmana, Jennifer Baurea, Susanna Rosia, e, Heather Millikene, Charles L. Limolif, John R. Fike, Lack of extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) in the microenvironment impacts radiation-induced changes in neurogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*. 42(8):1133–1145
296. Rainey-Barger EK1, Rumble JM, Lalor SJ, Esen N, Segal BM, Irani DN. The lymphoid chemokine, CXCL13, is dispensable for the initial recruitment of B cells to the acutely inflamed central nervous system. *Brain Behav Immun*. 2011 25(5):922-31.
297. Rapôsoa Catarina, Rayana Leal de Almeida Lunab, Ana Karolina Santana Nunesb, Rodolfo Thoméc, Christina Alves Peixoto, 2014. Role of iNOS-NO-cGMP signaling in modulation of inflammatory and myelination processes. *Brain Research Bulletin Volume 104*
298. Ray J, Peterson DA, Schinstine H, F Gage H. *Proc Natl Acad Sci EE.UU*. Proliferation, differentiation, and long-term culture of primary hippocampal neurons. 1993; 90 : 3602 a 3606.
299. Riboni, L., Luna F. A Golgi and morphometric study of the cerebelar cortex of a new neurological rat mutant: *taiep*. *Med. Sci. Res* 1993; 21, 187-188
300. Rivera C, et al. BDNF-induced TrkB activation down-regulates the K<sup>+</sup> –Cl<sup>-</sup> cotransporter KCC2 and impairs neuronal Cl<sup>-</sup> extrusion. *J Cell Biol*. 2002;159:747–752.
301. Robinson S, Tani M, Strieter RM, Ransohoff RM, Miller RH. The chemokine growth-regulated oncogene-alpha promotes spinal cord oligodendrocyte precursor proliferation. *J Neurosci*. 1998 Dec 15; 18(24):10457-63.
302. Roncagliolo M., M. 2004. Altered synaptic and electrical properties of lumbar motoneurons in the neurological glial mutant *taiep* rat. *Exp Brain Res* 156:104-110.
303. Roncagliolo Manuel Juana Benitez José R. Eguibar. *Audiology Neuro-Otology*, 2000, 5:267-275.
304. Rottlaender A., Villwock H., Addicks K., Kuerten S., 2011. Neuroprotective role of fibroblast growth factor-2 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Immunology* 133(3): 370-8
305. Rumble JM., Huber AK, Krishnamoorthy G, Srinivasan A, Giles DA, Zhang X1, Wang L1, Segal BM., 2015. Neutrophil-related factors as biomarkers in EAE and MS. *J Exp Med*. 212(1):23-35.
306. Russo VC, Gluckman PD, Feldman EL, Werther GA. The insulin-like growth factor system and its pleiotropic functions in brain. *Endocr Rev*. 2005 Dec; 26(7):916-43.
307. Rustay NR, Wahlsten D, Crabbe JC (2003) In fl uence of task parameters on rotarod performance and sensitivity to ethanol in mice. *Behav Brain Res* 141(2):237–249
308. Sabo JK., Cate HS., 2013. Signalling Pathways that inhibit the capacity of precursor cells for myelin repair. *Int. J.Mol. Sci*. 14(1); 1031-49

309. Saransaari P, Oja SS (1991) Excitatory amino acids evoke taurine release from cerebral cortex slices from adult and developing mice. *Neuroscience* 45:509–523
310. Saransaari P, Oja SS (1998) Release of endogenous glutamate, aspartate, GABA and taurine from hippocampal slices from adult and developing mice in cell-damaging conditions. *Neurochem Res* 23:567–574
311. Saransaari P, Oja SS (1999a) Involvement of metabotropic glutamate receptors in taurine release in the adult and developing mouse hippocampus. *Amino Acids* 16:165–179
312. Saransaari P, Oja SS (1999b) Taurine release modified by nitric oxide-generating compounds in the developing and adult mouse hippocampus. *Neuroscience* 89:1103–1111
313. Saransaari P, Oja SS (2000a) Taurine release modified by GABAergic agents in hippocampal slices from adult and developing mice. *Amino Acids* 18:17–30
314. Saransaari P, Oja SS (2000b) Modulation of the ischemia-induced taurine release by adenosine receptors in the developing and adult mouse hippocampus. *Neuroscience* 97:426–430
315. Saransaari P, Oja SS (2002) Taurine release in the developing and adult mouse hippocampus: involvement of cyclic guanosine monophosphate. *Neurochem Res* 27:15–20
316. Sava BA1, Chen R1, Sun H1, Luhmann HJ1, Kilb W1. 2014. Taurine activates GABAergic networks in the neocortex of immature mice. *Front Cell Neurosci.* 4;8:26
317. Sawita Khimsuksri , J. Michael Wyss , Atcharaporn Thaeomor , Jarin Paphangkorakit, Dusit Jirakulsomchok, Sanya Roysommuti Perinatal Taurine Exposure Programs Patterns of Autonomic Nerve Activity Responses to Tooth Pulp Stimulation in Adult Male Rats. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2103, 978-1-4614
318. Schänzer A1, Wachs FP, Wilhelm D, Acker T, Cooper-Kuhn C, Beck H, Winkler J, Aigner L, Plate KH, Kuhn HG., 2004. Direct stimulation of adult neural stem cells in vitro and neurogenesis in vivo by vascular endothelial growth factor. *Brain Pathol.* 14(3):237-48.
319. Scharfman HE, et al. Hippocampal excitability increases during the estrous cycle in the rat: a potential role for brain-derived neurotrophic factor. *J Neurosci.* 2003;23:11641–11652
320. Scharfman HE, et al. Spontaneous limbic seizures after intrahippocampal infusion of brain-derived neurotrophic factor. *Exp Neurol.* 2002;174:201–214.
321. Scharfman HE, Goodman JH, Sollas AL. Actions of brain-derived neurotrophic factor in slices from rats with spontaneous seizures and mossy fiber sprouting in the dentate gyrus. *J Neurosci.* 1999;19:5619–5631.
322. Scharfman HE. Hyperexcitability in combined entorhinal/hippocampal slices of adult rat after exposure to brain-derived neurotrophic factor. *J Neurophysiol.* 1997;78:1082–1095.
323. Schinder AF, Poo M. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. *Trends Neurosci.* 2000;23:639–645.
324. Schleicher M, Yu J, Murata T, Derakhshan B, Atochin D, Qian L, Kashiwagi S, Di Lorenzo A, Harrison KD, Huang PL, Sessa WC. The Akt1-eNOS axis illustrates the specificity of kinase-substrate relationships in vivo. *Sci Signal.* 2009;2:ra4
325. Schlessinger J. Common and distinct elements in cellular signaling via EGF and FGF receptors. *Science.* 2004;306:1506–1507.
326. Schmitt Karen, Edith Holsboer-Trachsler & Anne Eckert BDNF in sleep, insomnia, and sleep deprivation. *Journal Annals of Medicine.* 48(2016):1-2
327. Schuman EM, Madison DV. A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation. *Science.* 1991;254:1503–1506
328. Schuman ER, Madison DV (1994) Nitric oxide and synaptic function. *Annu Rev Neurosci* 17:153–183
329. Scolnick JA, Cui K, Duggan CD, Xuan S, Yuan XB, Efstratiadis A, et al. (2008) Role of IGF signaling in olfactory sensory map formation and axon guidance. *Neuron* 57: 847–857. doi: 10.1016/j.neuron.2008.01.027.
330. Sellebjerg F, et al. Increased cerebrospinal fluid concentrations of the chemokine CXCL13 in active MS. *Neurology.* 2009;73(23):2003–2010.
331. Sen CK, Khanna S, Resznick AZ, Roy S, Packer L (1997) Glutathione regulation of tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced NF- $\kappa$ B activation in skeletal muscle-derived L6 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 237:645–649

332. Shailesh P. Banerjee, Andre R., Christopher Y. Chan, Mervan S. Agovic, Vincent Sostris, Louis Vidal, and Eitan Friedman. Neuropsychopharmacological Actions of Taurine. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2013, 775
333. Sharma A., J. Greenman, D. M. Sharp, L. G. Walker, J. R. T. Monson Vascular endothelial growth factor and psychosocial factors in colorectal cancer
334. Sharma AN1, da Costa e Silva BF2, Soares JC3, Carvalho AF4, Quevedo J5. Role of Trophic Factors GDNF, IGF-1 and VEGF in Major Depressive Disorder: A comprehensive review of human studies. *J Affect Disord.* 2016 Jun;197:9-20.
335. Shinichi Yoshimura, Yasushi Takagi, junio Harada, Tetsuyuki Teramoto, Sunu S. Thomas, Cristiano Waeber, Joanna C. Bakowska, Xandra Breakefield O., y Michael A. Moskowitz. 2001. FGF-2 regulation of neurogenesis in adult hippocampus after brain injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98(10): 5874–5879.
336. Siegel JM., Shouse MN., 1992. Pontine regulation of REM sleep components in cats: integrity of the pedunculopontine tegmentum (PPT) is important for phasic events but unnecessary for atonia during REM sleep. *Brain Res.* 31;571(1):50-63.
337. Siegel JM1, Nienhuis R, Fahringer HM, Paul R, Shiromani P, Dement WC, Mignot E, Chiu C. 1991. Neuronal activity in narcolepsy: identification of cataplexy-related cells in the medial medulla. *Science.* May 31;252(5010):1315-8.
338. Silva LA, Silveira PC, Ronsani MM, Souza PS, Scheffer D, Vieira LC, Benetti M, De Souza CT, Pinho RA (2011) Taurine supplementation decreases oxidative stress in skeletal muscle after eccentric exercise. *Cell Biochem Funct* 29:43–49
339. Simpson JE, Newcombe J, Cuzner ML, Woodroofe MN. 1998. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and other beta-chemokines by resident glia and inflammatory cells in multiple sclerosis lesions. *J Neuroimmunol.* 84:238±49.
340. Singer CA1, Figueroa-Masot XA, Batchelor RH, Dorsa DM. 1999. The mitogen-activated protein kinase pathway mediates estrogen neuroprotection after glutamate toxicity in primary cortical neurons. *J Neurosci.* 1;19(7):2455-63.
341. Skaper Stephen D. 2017. Nerve growth factor: a neuroimmune crosstalk mediator for allseasons. *Immunology.*
342. Smith JR, Braziel RM, Paoletti S, Lipp M, Uguccioni M, Rosenbaum JT. Expression of B-cell-attracting chemokine 1 (CXCL13) by malignant lymphocytes and vascular endothelium in primary central nervous system lymphoma. *Blood.* 2003;101(3):815–821.
343. Sorensen TL. Ransohoff RM. Strieter RM. Sellebjerg F. Chemokine CCL2 and chemokine receptor CCR2 in early active multiple sclerosis. *Eur J Neurol.* 2004;11:445–449.
344. Soto-Rodríguez G, Martínez-Fong D, Arroyo R, Aguilar-Alonso P, Rubio H, Eguibar J. R, Ugarte A, Torres-Soto M, González-Barríos JA, Cebada J, Brambila E, Leon-Chavez, BA. Nitric oxide production is associated to increased lipoperoxidation and active caspase-3 in demyelinated brain regions of the taiep rat. 3, 695-704.
345. Soto-Rodríguez, G.;Martinez-Fong, D.; Aguilar-Alonso, P. *Advances in Bioscience and Biotechnology* **2015**
346. Stamatovic SM, Shakui P, Keep RF, Moore BB, Kunkel SL, Rooijen NV, Andjelkovic AV. 2005. Monocyte chemoattractant protein-1 regulation of blood-brain barrier permeability. *J Cereb Blood Flow Metab.* 25:593–606.
347. Steinert JR, Chernova T, Forsythe ID. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia. *Neuroscientist.* 2010;16:435–452
348. Stumm, R. K., Zhou, C., Ara, T., Lazarini, F., Dubois-Dalcq, M., Nagasawa, T., et al. (2003). CXCR4 regulates interneuron migration in the developing neocortex. *J. Neurosci.* 23, 5123–5130.
349. Su Y., W. Fanb, Z. Mac, X. Wena, W. Wangb, Q. Wub, H. Huang, 2014. Taurine improves functional and histological outcomes and reduces inflammation in traumatic brain injury. *Neuroscience.* 266:56-65
350. Suge R, Hosoe N, Furube M, Yamamoto T, Hirayama A, Hirano S, Nomura M (2007) Specific timing of taurine supplementation affects learning ability in mice. *Life Sci* 81:1228–1234
351. Suge R, Nobuo H, Furube M, Yamamoto T, Hirayama A, Hirano S, Nomura M., 2007. Specific timing of taurine supplementation affects learning ability in mice. *Life Sci* 81:1228–1234
352. Suge Rie, Hosoe N, Furube M, Yamamoto T, Hirayama A, Hirano S, Nomura M. 2007. Specific timing of taurine supplementation affects learning ability in mice. *Life Sci.* 22;81(15):1228-34

353. Sugiura Hiromichi, Shinya Okita, Toshihiro Kato, Toru Naka, Shosuke Kawanishi, Shiho Ohnishi, Yoshiharu Oshida, and Ning Ma., 2013 Protection by Taurine Against INOS-Dependent DNA Damage in Heavily Exercised Skeletal Muscle by Inhibition of the NF- $\kappa$ B Signaling Pathway.
354. Sun M, Gu Y, Zhao Y et al (2011) Protective functions of taurine against experimental stroke through depressing mitochondria-mediated cell death in rats. *Amino Acids* 40:1419–1429
355. Sun M, Zhao Y-M, Gu Y, Xu C (2012) Therapeutic window of taurine against experimental stroke in rats. *Transl Res* 160:223–229.
356. Sun M, Zhao Y, Gu Y, Xu C (2009) Inhibition of nNOS reduces ischemic cell death through down-regulating calpain and caspase-3 after experimental stroke. *Neurochem Int* 54(5–6):339–346
357. Sunnemark D1, Eltayeb S, Wallström E, Appelsved L, Malmberg A, Lassmann H, Ericsson-Dahlstrand A, Piehl F, Olsson T. 2003 Differential expression of the chemokine receptors CX3CR1 and CCR1 by microglia and macrophages in myelin-oligodendrocyte-glycoprotein-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Pathol.* 13(4):617-29.
358. Taber KH, Lin C-T, Liu J-W, Thalmann R, Wu J-Y (1986) Taurine in hippocampus: localization and postsynaptic action. *Brain Res* 386:113–121
359. Taber KH, Lin CT, Liu JW et al (1986) Taurine in hippocampus: localization and postsynaptic action. *Brain Res* 386:113–121
360. Takatani T, Takahashi K, Uozumi Y et al (2004a) Taurine prevents the ischemia-induced apoptosis in cultured neonatal rat cardiomyocytes through Akt/caspase-9 pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 316:484–489.
361. Takatani T, Takahashi K, Uozumi Y et al (2004b) Taurine inhibits apoptosis by preventing formation of the Apaf-1/caspase-9 apoptosome. *Am J Physiol Cell Physiol* 287:C949–C953
362. Tamai I, Senmaru M, Terasaki T, Tsuji A (1995) Na(+)- and Cl(-)-dependent transport of taurine at the blood-brain barrier. *Biochem Pharmacol* 50:1783–1793
363. Tanaka T, Saito H, Matsuki N. Inhibition of GABAA synaptic responses by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in rat hippocampus. *J Neurosci.* 1997;17:2959–2966.
364. Taranukhin AG, Taranukhina EY, Saransaari P et al (2010) Neuroprotection by taurine in ethanolinduced apoptosis in the developing cerebellum. *J Biomed Sci* 17(1):S1–S12
365. Taranukhin AG, Taranukhina EY, Saransaari P, Djatchkova IM, Pelto-Huikko M, Oja SS (2008) Taurine reduces caspase-8 and caspase-9 expression induced by ischemia in the mouse hypothalamic nuclei. *Amino Acids* 34(1):169–174
366. Temple S, Qian X. *Neuron.* FGF, neurotrophins, and the control of cortical neurogenesis. 1995; 15 : 249-252.
367. Tiffany HL, Lautens LL, Gao JL, Pease J, Locati M, Combadiere C, Modi W, Bonner TI, Murphy PM: Identification of CCR8: a human monocyte and thymus receptor for the CC chemokine I-309. *J Exp Med* 1997, 186:165-170.
368. Tirota Emanuele, Richard M. Ransohoff, Thomas E. Lane, 2011. CXCR2 signaling protects oligodendrocyte progenitor cells from IFN- $\gamma$ /CXCL10-mediated apoptosis. *Glia.* 59:1518-1528
369. Toby Lawrence, 2009. The Nuclear Factor NF- $\kappa$ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* Dec. 1(6): a001651
370. Toda N, Ayajiki K, Okamura T. Control of systemic and pulmonary blood pressure by nitric oxide formed through neuronal nitric oxide synthase. *J Hypertens.* 2009;27:1929–1940.
371. Togashi H, Sakuma I, Yoshioka M, Kobayashi T, Yasuda H, Kitabatake A, Saito H, Gross SS, Levi R. A central nervous system action of nitric oxide in blood pressure regulation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992;262:343–347
372. Tolwani RJ, et al. BDNF overexpression increases dendrite complexity in hippocampal dentate gyrus. *Neuroscience.* 2002;114:795–805.
373. Toyoda Hiromi, Taku Miyagawaa, , , Asako Koikeb, Takashi Kanbayashic, Aya Imanishic, Yohei Sagawac, Nozomu Kotoriid, e, Tatayu Kotoriie, Yuji Hashizumed, Kimihiro Ogid, Hiroshi Hiejimad, Yuichi Kameif, Akiko Hidag, Masayuki Miyamotoh, Makoto Imaii, Yota Fujimuraj, Yoshiyuki Tamuraj, Azusa Ikegamik, Yamato Wadal, Shunpei Moriyam, Hirokazu Furuyan, Masaki Takeuchio, p, Yohei Kirinop, q, Akira Meguroo, Elaine F Remmersp, Yoshiya Kawamurar, Takeshi Otowas, Akinori Miyashitat, 2015. A polymorphism in CCR1/CCR3 is associated with narcolepsy. *Brain, Behavior, and Immunity.* 49: 148–155

374. Tsai H.H., Frost E., To V., Robinson S., French-Constant C., Geertman R., Ransohoff R.M., Miller R.H. 2002. The chemokine receptor CXCR2 controls positioning of oligodendrocyte precursors in developing spinal cord by arresting their migration. *Cell.* ;110:373–383
375. Tsankova NM, Berton O, Renthal W, Kumar A, Neve RL, Nestler EJ (2006) Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat Neurosci* 9:519–525
376. Twining CM. Sloane EM. Milligan ED. Chacur M. Martin D. Poole S. Marsh H. Maier SF. Watkins LR. Peri-sciatic proinflammatory cytokines, reactive oxygen species, and complement induce mirror-image neuropathic pain in rats. *Pain.* 2004;110:299–309.
377. Tyler WA, Gangoli N, Gokina P, Kim HA, Covey M, Levison SW, Wood TL. 2009. Activation of the mammalian target of rapamycin (mTOR) is essential for oligodendrocyte differentiation. *J Neurosci* 29:6367–6378
378. Vallstedt A., Klos J.M., Ericson J., 2005. Multiple dorsoventral origins of oligodendrocyte generation in the spinal cord and hindbrain. *Neuron.* 45:55–67
379. Van Coillie E. Van Damme J. Opdenakker G. The MCP/eotaxin subfamily of CC chemokines. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1999;10:61–86.
380. Verani A., Scarlatti G., Comar M., Tresoldi E., Polo S., Giacca M., Lusso P., Siccardi A. G., Vercelli D. C–C Chemokines Released by Lipopolysaccharide (LPS)-stimulated Human Macrophages Suppress HIV-1 Infection in Both Macrophages and T Cells. *J. Exp. Medicina.* 1997. 185 : 805 - 816 .
381. Vicario I., Schimmang T., 2003. Transfer of FGF-2 via HSV-1-based amplicon vectors promotes efficient formation of neurons from embryonic stem cells. *J. Neurosci. Methods* 123(1):55-60
382. Vries MH, Wagenaar A, Verbruggen SE, Molin DG, Dijkgraaf I, Hackeng TH, Post MJ., 2015. "CXCL1 promotes arteriogenesis through enhanced monocyte recruitment into the pericollateral space". *Angiogenesis.* 18 (2): 163–71
383. Wang P, Xie K, Wang C, Bi J., 2014. Oxidative stress induced by lipid peroxidation is related with inflammation of demyelination and neurodegeneration in multiple sclerosis. *Eur Neurol.*;72(3-4):249-54
384. Wardle RA, Poo MM. Brain-derived neurotrophic factor modulation of GABAergic synapses by post-synaptic regulation of chloride transport. *J Neurosci.* 2003;23:8722–8732.
385. Watanabe M., Toyama Y., Nishiyama A., 2002. Differentiation of proliferated NG2-positive glial progenitor cells in a remyelination lesion. *J. Neurosci. Res.* 69(6): 7-56
386. Whittle N, Sartori SB, Dierssen M, Lubec G, Singewald N (2007) Fetal Down syndrome brains exhibit aberrant levels of neurotransmitters critical for normal brain development. *Pediatrics* 120:e1465–e1471
387. Wrigley Sarah, Donia Arafa1 and Daniela Tropea, 2017 Insulin-Like Growth Factor 1: At the Crossroads of Brain Development and Aging. *Front. Cell. Neurosci.* 11:14
388. Wu G, Yang J, Sun C, Luan X, Shi J, Hu J (2009) Effect of taurine on alcoholic liver disease in rats. *Amino Acid* 36:457–464
389. Wu G., Takashi Matsuwaki , Yoshinori Tanaka , Keitaro Yamanouchi , Jianmin Hu , and Masugi Nishihara. Taurine Counteracts the Suppressive Effect of Lipopolysaccharide on Neurogenesis in the Hippocampus of Rats. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2013, 978-1-46
390. Wu H, Jin Y, Wei J et al (2005) Mode of action of taurine as a neuroprotector. *Brain Res* 1038:123–131
391. Wu H, Jin Y, Wei J, Jin H, Sha D, Wu J-Y (2005) Mode of action of taurine as a neuroprotector. *Brain Res* 1038:123–131
392. Wu J-Y, Prentice H (2010) Role of taurine in the central nervous system. *J Biomed Sci* 17(1):S1–S6
393. Wu J-Y, Tang XW, Tsai WH (1992) Taurine receptor: kinetic analysis and pharmacological studies. *Adv Exp Med Biol* 315:263–268
394. Wu JY (1982) Purification and characterization of cysteine sulfinic acid decarboxylase and L-glutamate decarboxylase from bovine brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:4270–4274
395. Wu JY, Lin CT, Thalmann R et al (1985) Immunocytochemical and physiological identification of taurine neurons in the mammalian CNS. *Prog Clin Biol Res* 179:261–270

396. Wu M, Roncagliolo P, Bonansco C, Roncagliolo M. Immature developmental pattern of the monosynaptic reflex in isolated spinal cord of glial mutant *taiep* rats. *Dev Brain Res* 2004;153:197-202
397. Xia MQ, Qin SX, Wu LJ, Mackay CR, Hyman BT. Immunohistochemical study of the beta-chemokine receptors CCR3 and CCR5 and their ligands in normal and Alzheimer's disease brains. *Am J Pathol.* 1998 Jul; 153(1):31-7.
398. Xu Cui, Michael Chopp, Alex Zacharek, Ruizhuo Ning, Xiaoshuang Ding, Cynthia Roberts, and Jieli Chen, 2013. Endothelial Nitric Oxide Synthase Regulates White Matter Changes via the BDNF/TrkB Pathway after Stroke in Mice. Published online. ; 8(11): e80358.
399. Xuekun Li, Basam Z. Barkho Yuping Luo, Richard D. Smrt, Nicholas J. Santistevan, Changmei Liu, Tomoko Kuwabara, Fred H. Gage, and Xinyu Zhao, 2008. Epigenetic Regulation of the Stem Cell Mitogen Fgf-2 by Mbd1 in Adult Neural Stem/Progenitor Cells. *J Biol Chem.* 283(41): 27644–27652
400. Yablonsky-Alter E, Gashi E, Lidsky TI, Wang HY, Banerjee SP (2005) Clozapine protection against gestational cocaine-induced neurochemical abnormalities. *J Pharmacol Exp Ther* 312:297–302
401. Yamada K, Nabeshima T. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes. *J Pharmacol Sci.* 2003;91:267–270.
402. Yamamoto BK1, Davy S. 1992 Dopaminergic modulation of glutamate release in striatum as measured by microdialysis. *J Neurochem.* May;58(5):1736-42.
403. Yang F., Li JS., Yan P., Liu YH, Wang DN., 2004. Effect of taurine on NOS activity in hippocampus of rat exposed lead *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* 22(3):203-6.
404. Yao S.Y., A. Ljunggren-Rosea, N. Chandramohana, W.O. Whetsell Jr.b, S. Sriram, 2010. In vitro and in vivo induction and activation of nNOS by LPS in oligodendrocytes. *Journal of Neuroimmunology.* 10:1016
405. Yarbrough GG, Singh DK, Taylor DA (1981) Neuropharmacological characterization of a taurine antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 3:604–613
406. Ye P., D'Ercole AJ., 1999. Insulin-like growth factor I protects oligodendrocytes from tumor necrosis factor-alpha-induced injury. *Endocrinology* 140(7): 3063-72
407. Yermilov V, Rubio J, Becchi M, Friesen MD, Pignatelli B, Ohshima H (1995) Formation of 8-nitroguanine by the reaction of guanine with peroxynitrite in vitro . *Carcinogenesis* 16:2045–2050
408. Yoo SE1, Chen L, Na R, Liu Y, Rios C, Van Remmen H, Richardson A, Ran Q., 2012. Gpx4 ablation in adult mice results in a lethal phenotype accompanied by neuronal loss in brain. *Free Radic Biol Med.* 1;52(9):1820-7.
409. Zebrowska-Lupina I1, Porowska A. 1987 Anticatalytic effect of taurine: interaction with antiparkinsonian agents. *Pol J Pharmacol Pharm.* 39(4):329-35.
410. Zechel S., Werner S., Unsicker K., Von Bohlen Und HO., 2010. Expression and functions of fibroblast growth factor 2 (FGF2) in hippocampal formation. *Neuroscientist.* 16(4): 357-73
411. Zeger M, Popken G, Zhang J, Xuan S, Lu QR, Schwab MH, Nave KA, Rowitch D, D'Ercole AJ, Ye P. 2007. Insulin-like growth factor type 1 receptor signaling in the cells of oligodendrocyte lineage is required for normal in vivo oligodendrocyte development and myelination. *Glia* 55:400–411.
412. Zheng Jiang , Simon Bulley , Joseph Guzzone , Harris Ripps, Wen Shen. The Modulatory Role of Taurine in Retinal Ganglion Cells. *Adv Exp Med Biol.* 2013;775:53-68
413. Zhou L, Zhu DY. Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric Oxide.* 2009;20:223–230
414. Zuccato C, et al. Loss of huntington-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science.* 2001;293:493–498