



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DEPARTAMENTO DE ANÁLISIS CLÍNICOS



TESIS

**“ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO SOBRE LAS VÍAS
NEUROQUÍMICAS EN TALLO Y CEREBELO EN UN MODELO
DE TUBULINOPATÍAS.”**

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL
TÍTULO DE LICENCIADA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

pQFB. GRAJALES SANTIAGO MELISSA ALEJANDRA

DIRECTORA DE TESIS

D.C. BERTHA ALICIA LEÓN CHÁVEZ

LABORATORIO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO CLÍNICAS

CODIRECTORA

M.C. ANA KARINA AGUILAR PERALTA

LABORATORIO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO CLÍNICAS

JUNIO 2022

Agradecimientos

Desde el día en que nací, mi vida ha sido un milagro. No ha sido perfecta, bonita o tranquila, mucho menos despreocupada, ha estado llena de luchas, desafíos, tristeza y dolor pero en ella he visto la mano de Dios obrando a cada segundo y en cada momento oscuro él me ha acompañado. Le agradezco infinitamente por su cuidado, por mi familia y las oportunidades que ha puesto en mi camino. No me resta más que darle las gracias por el viaje que termina y pedirle sabiduría para el que comienza, “...*guíame tú al caminar hacia el mar de cristal.*”

Agradezco a la Doctora Bertha por abrirme las puertas de su laboratorio y adoptar a aquella niña que en el verano del 2015 llegó sin saber qué hacer de su vida. Gracias por su paciencia, su tiempo y los conocimientos que ha compartido conmigo, le agradezco las oportunidades y el apoyo que me ha dado para seguir desarrollando mis habilidades profesionales, es un honor ser parte de la familia León.

Quiero agradecerle a los Doctores, maestros y estudiantes del grupo de trabajo León, a ellos que me arrojaron durante la carrera y que han sido mis mentores, guías y amigos. Recuerdo el día que llegué al laboratorio, el D. C. Víctor me asignó mi primer tarea: vigilar el autoclave, fueron los 15 minutos más aterradores de mi vida y solo pensaba “*Vaya que saben cómo dar la bienvenida, no volveré a este lugar*”, 6 años después estoy terminando la tesis con él como mi sinodal y debo culparlo por ser el detonante que me hizo elegir la carrera de Químico Farmacobiólogo. Ese mismo día conocí a los jóvenes ilustres: Alex y Kary, quienes se encontraban en la misma situación que yo actualmente: defender la tesis de licenciatura, recuerdo estar en ambas ponencias y pensar: “*¡Dios, son tan geniales! Algún día quiero ser como ellos*”. Muchas exposiciones, defensas y seminarios han pasado desde aquel día y continuo pensando que son los mejores. Estoy agradecida con ustedes por permitirme aprender y por ayudarme a desarrollar aptitudes, destrezas y habilidades para formarme como profesionalista, jamás me negaron una explicación, siempre me instaron a progresar y confiaron en mi cuando mi confianza falló. Alejandro y Ana Karina, ha sido un regalo haberlos conocido como estudiantes de licenciatura y verlos

convertirse próximamente en doctores, quiero que sepan que son mi modelo a seguir y que les doy las gracias por ser mis hermanos mayores.

Le agradezco a mis amigos de la universidad, Melanie, Denisse, Erika, Kathy, Jorge, recuerdo gratamente esa tarde lluviosa cuando me les pegué porque estaba sola, recuerdo como enfrentamos las tareas, proyectos, exámenes y a los profesores. Gracias por quedarse conmigo, por aceptar a mi persona en sus vidas y darme su amistad cuando más lo necesitaba, juntos recorrimos este camino de preparación profesional, descubrimiento y crecimiento en el que definimos las personas que somos. Gracias a David, Jesús, Jaqui, Yisus y Ari por hacer mis años universitarios más amenos y hacer que las horas libres pasaran rápidamente en los pasillos de la facultad. Gracias a Gary, Vale, Lili y Bere, mis fieles amigos de la prepa, quienes sabían cómo distraerme de las presiones universitarias y me apoyaron en cumplir mis sueños aunque no entendían de qué iba la carrera, me hicieron sentir que iba por buen camino con solo decir: *“Me gusta que ames lo que haces”*. Todos ellos son la familia que elegí y la que me eligió, soy feliz de que crezcamos juntos y espero que nuestra amistad trascienda las barreras del tiempo y el espacio perdurando muchos años. *“Los amigos que haces en la universidad son amigos que tendrás de por vida, incluso si pasan años sin hablar. Lejos pero no perdidos.”*

Los más importantes: Mi familia: Mamá, David y Fer, gracias por aguantar mis locuras profesionales, por escuchar aunque no les agradaban la mayoría de las cosas que les contaba sobre los laboratorios, perdón por los desvelos y los sacrificios que tuvimos que hacer para darme la oportunidad de estudiar. Solo nosotros sabemos cuánto nos han costado estas carreras, pero primero Dios, pronto habrán profesionistas en la familia. Siempre contarán con mi apoyo tal como yo cuento con el suyo, después de todo somos lo único que tenemos, pero al menos estamos juntos.

Haré una mención honorífica para mi amigo, mi escudero, mi valiente compañero de desvelos, lágrimas, días nublados, soleados, tristes y felices, aquel que con solo una mirada me hacía saber que todo estaba bien y que yo podía con cualquier cosa que se me pusiera en frente. A él, que con sus paseos me ayudaba a tomarme un respiro después de un día cansado y estresante, gracias a Santiago por pasar incontables noches esperándome mientras

terminaba tareas y proyectos y por recibirme cada día desbordando alegría y felicidad. Despierto por ti, pequeño tesoro, *"I could write a song a hundred miles long, well, that's where I belong and you belong with me. Home is wherever I'm with you."*

Dedicatoria

A mi Madre, ¿Recuerdas lo asustada que estabas hace 24 años? Yo siento ese mismo temor ahora pero tengo una ventaja: te tengo a ti, no estoy sola y tampoco tú lo estás. Hay muchas, demasiadas y un sinfín de cosas en las que no estamos de acuerdo y parece que nunca coincidimos en nada, tu eres blanco y yo negro, pero te quedaste conmigo, me elegiste antes y aún lo haces ahora y eso es lo que importa. Te amo, lo hago con todo mi corazón.

Por último, te dedico este logro a ti. Te agradezco por tu perseverancia, tu esfuerzo y empeño, gracias por no rendirte ni tomar caminos fáciles y luchar por lo que quieres. Honestamente no sé lo que nos depare el futuro, quizá tus próximos días no sean fáciles, enfrentarás muchas cosas, tendrás demasiadas preocupaciones y responsabilidades, te reencontrarás con la tristeza y el desánimo, la decepción y depresión, tampoco faltará el estrés, estarás cansada e incluso harta, pero sé que lo que te propongas lo lograrás, ¿Cómo lo sé? Porque hemos escuchado muchas veces: "No puedes hacerlo, no puedes lograrlo", por ello sé que lo harás, cumplirás tus metas y tus sueños, porque aunque el camino sea cuesta arriba y lento, avanzarás a tu ritmo, paso a paso pero segura. No te rindas estudiante, puedes cumplir todo lo que te propongas y derrumbar cada muro que esté frente a ti: Todo estará bien.

"I want to live life and never be cruel and I want to live life and be good to you. I want to live life and always be true and live my life and have friends around."

"So don't forget your darkest hours, light the way to a life empowered"

"I don't believe in no-win scenarios, this is your Kobayashi Maru test and you're The Captain Kirk. Your voyage is made to boldly go where no man has gone before. Live long and prosper."

Índice

Agradecimientos	2
Dedicatoria	4
Índice	5
Lista de abreviaturas	6
Lista de Figuras	9
Lista de tablas	10
Palabras clave	10
Resumen	11
Marco teórico	13
<i>taiep</i>	13
Cerebelo	14
Tallo cerebral	16
Glutamato	18
Receptores de Glutamato	19
Regulación del glutamato por los astrocitos:	23
Ácido gamma aminobutírico (GABA)	25
Serotonina	25
Enfermedades desmielinizantes y dismielinizantes	27
Justificación	31
Pregunta de investigación	32
Objetivo general	32
Objetivos específicos	32
Diseño de la investigación	33
Diagrama de trabajo	35
Metodología	36
Resultados y discusión	41
Conclusiones parciales	57
Conclusión	57
Perspectivas	58
Bibliografía	59

Lista de abreviaturas

SD	<i>Sprague-Dawley</i>
IEs	Episodios de Inmovilidad inducidos por agarre
ASYN EPSCs	Corrientes postsinápticas excitatorias asincrónicas
TDAH	Trastorno por Déficit de atención con hiperactividad
LC	Locus coeruleus
NR	Núcleos del Rafé
CAB	Cerebro Anterior Basal
NPOM	Núcleo preóptico medio
APVL	Área preóptica ventrolateral
SOL	Sueño de Ondas Lentas
REMs / sMOR	Sueño de Movimiento de ojos rápido
TEA	Trastorno del Espectro autista
Ca ²⁺	Calcio
ATP	Adenosín trifosfato
Glu	Glutamato
IP3	Inositol trifosfato
SNC	Sistema Nervioso Central
BHE	Barrera Hematoencefálica
GABA	Ácido gama aminobutírico
Gly	Glicina
GluR	Receptores de glutamato
NMDA	N-methyl D-aspartato

AMPA	a-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-ácido propiónico
KAR	Receptores de Kainato
Mg ²⁺	Magnesio
K ⁺	Potasio
Na ⁺	Sodio
NMDAR2B/NR2B	Subunidad 2B del receptor NMDA
mGluR	Receptores de glutamato metabotrópicos
DAG	Diacilglicerol
PLC	Fosfolipasa C
AC	Adenil ciclasa
AMPc	Monofosfato de adenosina cíclico
EAAT	Transportadores de aminoácidos excitatorios
GS	Glutamina sintetasa
SN1	Transportador electroneutral dependiente de sodio
TCA	Ciclo del ácido tricarboxílico
Cl ⁻	Cloro / Cloruro
GABAA-ρ	Receptores GABA rho
5-HT	5-hidroxitriptamina / Serotonina
EDSNC	Enfermedades Desmielinizantes del Sistema Nervioso Central
EM	Esclerosis múltiple
NMO	Neuromielitis óptica (NMO)
EAD	Encefalomiелitis aguda diseminada (EAD)
mRNA/s	RNA mensajero/s

KEGG	Enciclopedia de Genes y Genomas de Kioto
TRIZol	Reactivo TRI: fenol e isotiocianato de guanidina
TA	Temperatura Ambiente
RNA	Ácido Ribonucleico
EtOH	Etanol
GBM	Grado biología molecular
BrEt	Bromuro de etidio
MP	Ácido 3-mercaptopropiónico
CPA	Ciclopentiladenosina
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
ELA	Esclerosis lateral amiotrófica
GABAp1/p1	Subunidad rho1 de GABA
GABRD/ GABRδ	Subunidad delta del receptor GABAA
TTR	Transtirretina
shRNA	RNA silenciadores
PKA	Proteína cinasa A
Epac	Factor de intercambio directamente activado por cAMP
sAPPα	Péptido soluble APP

Lista de Figuras

Figura 1	Estructura celular del cerebelo.
Figura 2	Clasificación de los receptores de glutamato
Figura 3	Estructura del receptor NMDA
Figura 4	Captación y metabolismo de glutamato por los astrocitos.
Figura 5	Tipos y subtipos de receptores de serotonina.
Figura 6	Diagrama de trabajo.
Figura 7	Especificaciones de búsqueda de transcritos
Figura 8	Procesos en donde coinciden los transcritos de interés.
Figura 9	Mapa de interés donde se observan los transcritos introducidos
Figura 10	Sinapsis glutamatérgica
Figura 11	Sinapsis GABAérgica
Figura 12	Sinapsis Serotoninérgica

Lista de tablas

- Tabla 1. Estructura celular del tallo cerebral.
- Tabla 2. Tipos de receptores de glutamato metabotrópicos y su función.
- Tabla 3. Enfermedades desmielinizantes y sus características
- Tabla 4. Enfermedades dismielinizantes y sus características
- Tabla 5. Transcritos relacionados con glutamato regulados positiva y negativamente.
- Tabla 6. Transcritos relacionados con GABA regulados positiva y negativamente.
- Tabla 7. Transcrito relacionado con Serotonina regulado positivamente.

Palabras clave

taiep, *SD*, tubulinopatías, hipomielinización, desmielinización, dismielinización, neuroquímica, tallo, cerebelo, astrocito, neurona, neurotransmisores, microarreglos, Kegg, mapas bioinformáticos.

Resumen

Las enfermedades neurodegenerativas ocupan el primer lugar del tipo no contagiosas que afectan a la población adulta. Actualmente, la investigación clínica se ha centrado en retardar la aparición de los síntomas y ofrecer una mejor calidad de vida para los pacientes que las padecen, sin embargo, aún no se desarrolla una cura exitosa. Por lo que, es importante conocer los mecanismos afectados que nos puedan sugerir una estrategia terapéutica.

Dentro de las enfermedades neurodegenerativas se destacan 2 grupos importantes: las enfermedades del tipo desmielinizantes y dismielinizantes, que, si bien ambas están relacionadas con degeneración de la mielina, las características son totalmente diferentes. La búsqueda de modelos biológicos que presenten una alteración miélnica y que ayuden a comprender un poco la fisiopatología de las enfermedades relacionadas con la pérdida de mielina va en aumento y pocos de estos modelos son aptos para el estudio de estas patologías.

En 1989, investigadores del Instituto de Fisiología de la BUAP identifican un mutante del tipo autosómico recesivo espontáneo, causado por la cruce consanguínea entre ratas de la cepa *Sprague-Dawley* (SD). Esta rata recibió el nombre *taiep*, acrónimo que hace referencia a los signos motores de curso progresivo que presenta, iniciando con temblor, seguido de ataxia, episodios de inmovilidad tónica, epilepsia y parálisis progresiva del tren posterior, estos signos que presenta la convirtieron en un modelo apto para el estudio de enfermedades de tipo neurológico, como son las desmielinizantes/dismielinizantes y que ayudan a evaluar deficiencias cognitivas y motoras.

El objetivo de este trabajo fue analizar bioinformáticamente los transcritos participantes en las vías neuroquímicas relacionadas con Glutamato, GABA y serotonina en tallo y cerebelo obtenidos de un microarreglo realizado en la rata *taiep* al mes de edad, para poder encontrar anomalías tempranas en la expresión génica y relacionarlos con la patología de la rata *taiep*.

El microarreglo nos permitió encontrar alteraciones génicas presentes en la rata *taiep* y analizarlos por medio de la plataforma KEGG, los principales transcritos afectados estaban relacionados a las vías neuroquímicas, lo que nos ayudó a conocer la relación de estos transcritos con la patología *taiep*.

Los transcritos afectados con regulación negativa fueron 3 receptores de glutamato, uno de tipo ionotrópico Grik1 (Kainato 1, rno 29559) y dos metabotrópicos Grm2 (glutamate receptor, metabotropic 2 – mGluR2, rno 24415) y Grm3 (glutamate receptor, metabotropic 3 – mGluR3, rno 23316); únicamente se encontró uno regulado positivamente de tipo ionotrópico: Grin2b (glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 2B – NMDAR2B, rno 24410), esto sugiere que existe una alteración en la regulación pre y postsináptica y de la glía, que pudiera estar causando un incremento de la excitabilidad neuronal o una forma de promover la neuroplasticidad. Por otro lado, la excitabilidad podría estar compensada por una regulación positiva de Gad2 (glutamate decarboxylase 2 (EC:4.1.1.15), rno 29689), que incrementa la transformación de glutamato a GABA; y el aumento el receptor de GABAA, Gabrd (gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor delta, rno 29689), esto se ve acompañado de una regulación negativa de Gabrr1 (gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor, rho 1, rno 29694). Además, la regulación positiva de Htr7 (5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 7, rno 65032), propone una regulación de la transmisión sináptica y excitabilidad a través de GABAA.

Estos resultados muestran que a la temprana edad de un mes la rata *taiep* ya muestra una afectación a nivel transcripcional en la neuroquímica de glutamato que empata con lo reportado previamente a nivel fisiológico, y que existe un mecanismo de compensación, incrementando las sinapsis inhibitorias.

Marco teórico

taiep

En 1989 investigadores del instituto de fisiología de la BUAP encontraron una mutación de origen autosómico recesivo espontáneo debida a la cruce consanguínea entre ratas de la cepa *Sprague-Dawley* (SD). Este modelo fue nombrado *taiep*, debido a los signos motores de carácter progresivo que presenta: temblor (al mes de edad), ataxia (4° mes), inmovilidad tónica (a partir del 5° y 6° mes), epilepsia (durante el 3° y 11° mes) y parálisis progresiva del tren posterior (a partir del 7° mes) **(Holmgren B et al., 1989)**. La rata *taiep* muestra una alteración en la síntesis de mielina que causa hipomielinización y desmielinización progresiva, lo que conduce al desarrollo de trastornos neuromotrices **(Holmgren B et al., 1989)** causado por una alteración en el transporte de proteínas del citosol a la membrana debido a una acumulación en los microtúbulos de los oligodendrocitos **(Duncan ID et al., 1992)**.

El modelo *taiep* ha sido caracterizado a nivel molecular **(Soto-Rodríguez G, 2012)**, celular **(Leon Chavez BA et al., 2001)** y fisiológico **(Eguibar JR et al., 2009)** lo que ha permitido comprender los mecanismos celulares que subyacen al proceso de hipomielinización-desmielinización que presenta la rata.

La investigación de **(Leon-Chavez BA et al., 2006) León Chávez y colaboradores en 2006** demuestra que este proceso se ve acompañado por un incremento del estrés oxidativo-nitrosativo a partir del primer mes de edad y hasta la etapa adulta de la rata, en la cual hay un proceso inflamatorio crónico, causando un decremento de la quimiocina CXCL1, el receptor CXCR4 y de factores de crecimiento como FGF2, sugiriendo que existe un déficit de los factores estimulantes de la remielinización **(Soto-Rodríguez G et al., 2015)**.

También se ha demostrado que la patología *taiep* es ocasionada por una mutación puntual en el gen *Tubb4a* que codifica para la proteína β -tubulina 4a, específicamente en la Ala302Thr **(Duncan ID et al., 2017); (Garduno-Robles A et al., 2020)**. Todos estos mecanismos en conjunto afectan el proceso de formación de la vaina de mielina, disminuyendo su concentración y calidad, a lo largo del desarrollo de la rata **(Moller JR et al., 1997)**. Esto impulsó la búsqueda de opciones terapéuticas para contrarrestar los signos y síntomas que inducen

la neurodegeneración y afectan la actividad motriz (**Vargas-Castro V et al., 2021**).

Eguibar y colaboradores sugieren que puede haber un problema relacionado con la modificación en la comunicación neuroquímica en el cerebro de la rata *taiep*, encuentran que los episodios de inmovilidad inducidos por agarre (IEs) están modulados por receptores postsinápticos de serotonina (**Eguibar JR et al., 2009**) y que los agonistas de los receptores de dopamina D2-D3 centrales disminuyen estos episodios, mientras que la mayoría de los antagonistas D2 o D3 lo agravan (**Eguibar JR et al., 2010**). Otros estudios han descrito una alteración en la transmisión sináptica en las neuronas centrales, las cuales presentan corrientes postsinápticas excitatorias asincrónicas (ASYN EPSCs), esta transmisión asincrónica es causada por un fallo en los mecanismos de liberación de glutamato en el desarrollo postnatal de ratas *taiep* (**Fuenzalida M et al., 2009**). Sin embargo, esto por sí solo no podría explicar el amplio rango de signos que presenta la rata a lo largo de su vida, por lo que se ha planteado estudiar éstas y otras vías neuroquímicas afectadas que podrían ayudar a entender cómo se desarrolla el proceso neurodegenerativo de la rata *taiep*. Se ha encontrado que el defecto de las regiones afectadas en edades tempranas es de tipo progresivo caudo-rostral, mostrando una astrogliosis reactiva, estrés nitrosativo, hipomielinización-desmielinización y muerte celular por apoptosis y necrosis (**Soto-Rodriguez G et al, 2012; Leon Chavez BA et al., 2001; Moller JR et al., 1997**), siendo el tallo cerebral y cerebelo al mes de edad las regiones más afectadas en la rata *taiep*.

Cerebelo

El cerebelo se encuentra ubicado en la parte dorsal del cerebro (**Hibi M and Shimizu T, 2012**), cuenta con 5 tipos de células neuronales: Células de Purkinje, en canasta, estrelladas, de Golgi y de cesta cuya actividad es inhibitoria, mientras que el quinto tipo, las células granulares, presentan una actividad excitatoria; también están presentes las fibras aferentes a la corteza cerebelar: trepadoras y musgosas, estas fibras llevan información acústica, somatosensorial, vestibular y visual, proveniente de la corteza, centros motores espinales y del tronco encefálico (**Delgado-Garcia JM, 2001**).

Está formado por una corteza de materia gris, compuesta de tres capas: la capa externa, media e interna y representa aproximadamente el 10% del peso total del cerebro, mientras que su superficie es de aproximadamente el 75% de la corteza cerebral **(Delgado-Garcia JM, 2001)**.

- La capa externa o molecular contiene células estrelladas, células de canasta y las dendritas de las células de Purkinje, estas células tienen actividad GABAérgica, además, hay axones de las células granulares (fibras paralelas), cuya actividad es glutamatérgica.
- La capa intermedia está constituida por los cuerpos neuronales de las células de Purkinje (GABAérgicas).
- La capa interna o granular tiene células granulares, en menor proporción se encuentran células de Golgi, células de Lúgaro y células en forma de brocha **(Algara, 2015)**.

En el humano se han estimado 100 mil millones de células granulares, 200 millones de células en cesto y 30 millones de células de Purkinje **(Suárez, 2008)**.

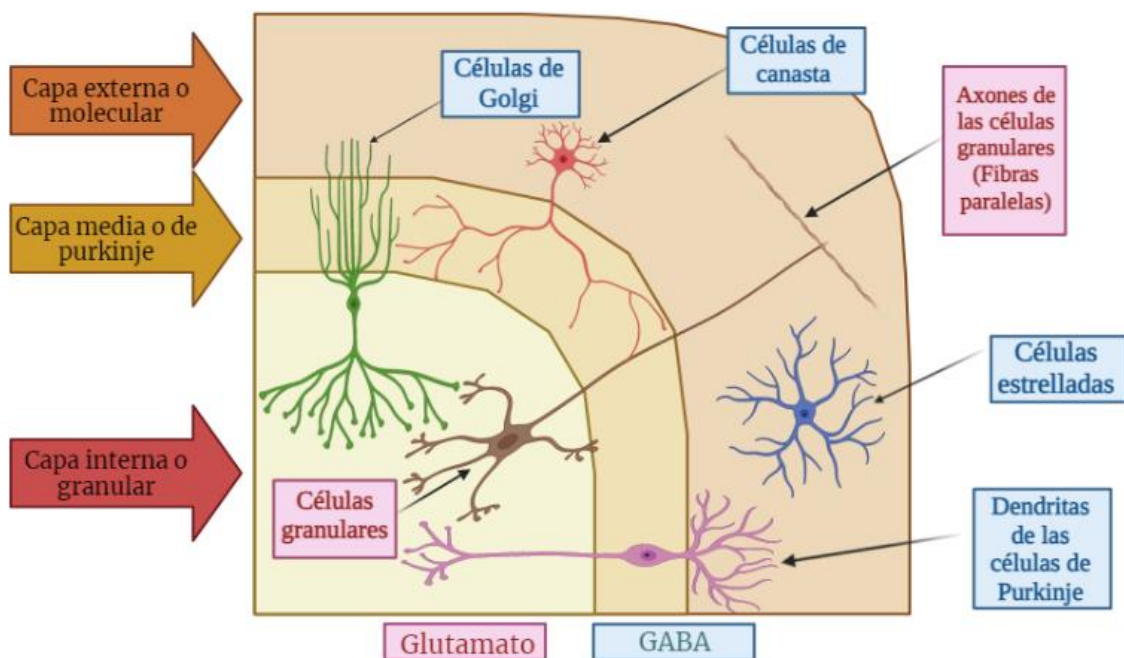


Figura 1. Estructura celular del cerebelo. Se muestra la estructura cerebelar y la composición celular de cada capa: externa, media e interna, así como el tipo de actividad que presenta cada neurona (Modificada de **Algara, 2015**).

Durante años se ha estudiado su papel en el control motor, la percepción sensorial (**Hibi M and Shimizu T, 2012**) en funciones cognitivas y emocionales (**Rodriguez F et al., 2005**); (**Ito M, 2008**). Se ha demostrado que el daño cerebelar en etapas postnatales conrae mayores consecuencias que un daño ocurrido en la edad adulta (**Stoodley CJ, 2016**), de ahí el hecho de que sea asociado a patologías como ataxia espinocerebelar (**Koeppen AH, 2005**), autismo, Trastorno por Déficit de atención con hiperactividad (TDAH) y dislexia (**Stoodley CJ, 2016**).

Tallo cerebral

Cada región del tallo cerebral presenta una actividad específica, de acuerdo con (**Franco-Perez J et al., 2012**) **Pérez y colaboradores del 2012**, estas regiones se distribuyen de la siguiente manera:

Tabla 1. Estructura celular del tallo cerebral.

Región	Actividad	Función
Locus coeruleus (LC)	Noradrenérgica	Estas neuronas son la principal fuente de Noradrenalina en la médula espinal, el cerebelo, tálamo, hipocampo y la neocorteza (Lindvall O and Bjorklund A, 1974). Presentan actividad noradrenérgica que está relacionada con la plasticidad sináptica, el control motor, la homeostasis energética, entre otras funciones (Lippiello P et al., 2015).

<p>Núcleos del Rafé (NR)</p>	<p>Serotoninérgica</p>	<p>Estas neuronas tienden a ser de mayor tamaño y gran parte de ellas presentan autorreceptores de serotonina 5HT1-A presinápticos, también tienen la función de sintetizar catecolaminas. El 10% de los axones neuronales se extienden hacia la amígdala, las células medianas parecen proyectarse hacia el caudado, putamen y el bulbo olfatorio (Steinbusch H et al., 1981). Está relacionado con el sueño y la vigilia, donde participa liberando serotonina al cerebro, (Siegel A et al., 1999). Se han encontrado receptores 5-HT7 distribuidos ampliamente (Beaudet G et al., 2014).</p>
<p>Cerebro Anterior Basal (CAB)</p>	<p>Acetilcolinérgica</p>	<p>Estas neuronas están implicadas en la generación del sueño, atención, funciones motoras, memoria y aprendizaje (Orta-Salazar E et al., 2014).</p>
<p>Núcleo preóptico medio. (NPOM) y el Área preóptica ventrolateral (APVL)</p>	<p>GABAérgica</p>	<p>Estas neuronas con actividad GABAérgica presentan una alta actividad durante el SOL (Sueño de Ondas Lentas) y el sMOR (Sueño de Movimiento Ocular Rápido), inhibiendo sistemas relacionados con la vigilia y el despertar (Monti JM, 2011).</p>
<p>Área hipotalámica posterior</p>	<p>Histaminérgica</p>	<p>Los axones de estas neuronas se desplazan hacia todo el Sistema nervioso central. Están activadas</p>

		durante la vigilia y se asocia con la regulación de la temperatura corporal (Saper et al., 2001) .
--	--	---

De ahí la capacidad multifuncional del tronco cerebral y su relación con enfermedades como el Trastorno del Espectro autista (TEA) que presenta anomalías en los núcleos auditivos del tronco encefálico **(Smith A et al., 2019)**, esto se ha relacionado con la patología de la rata *taiep*, donde **(Roncagliolo M et al., 2000) Roncagliolo y colaboradores en el 2000** encuentran que hay un deterioro de los componentes centrales de las respuestas auditivas durante el desarrollo posnatal de la *taiep* en esta región cerebral.

La comunicación astrocito-astrocito y astrocito-neurona puede ocurrir de dos maneras, la primera ocurre mediante oscilaciones resultantes de la liberación de calcio (Ca^{2+}) de los almacenes intracelulares o por medio de los neurotransmisores liberados por las neuronas donde estas liberan ATP (Adenosín trifosfato) o Glutamato (Glu) activando receptores acoplados a proteínas G causando el aumento de Inositol trifosfato (IP3) finalizando en la liberación de Ca^{2+} **(Guillamon-Vivancos T et al., 2015)**.

A través de conexiones duales con neuronas y vasos sanguíneos, los astrocitos proporcionan nutrientes a las neuronas, eliminan los productos del metabolismo, controlan la cantidad de flujo sanguíneo que perfunde el Sistema Nervioso Central (SNC) y mantienen la integridad de la barrera hematoencefálica (BHE), también se ha sugerido su participación en la construcción de circuitos durante el desarrollo neuronal y la reconstrucción de estos después de una lesión **(Guillamon-Vivancos T et al., 2015)**. Los astrocitos mantienen la neuromodulación a través de la captación de glutamato, del Ácido gama aminobutírico (GABA) y glicina (Gly), los metabolizan y liberan sus precursores a las neuronas.

Glutamato

Es el neurotransmisor excitatorio más abundante en el SNC, un incremento en las concentraciones de glutamato en el espacio sináptico y extra sináptico conduce a una hiperexcitación neuronal que desencadena

determinados eventos fisiológicos. Si la hiperexcitación se mantiene, causa un proceso conocido como "excitotoxicidad del glutamato", que puede causar muerte neuronal.

Receptores de Glutamato

Los receptores de glutamato (GluR) se dividen en dos grupos: ionotrópicos y metabotrópicos, **(Figura 2)**.

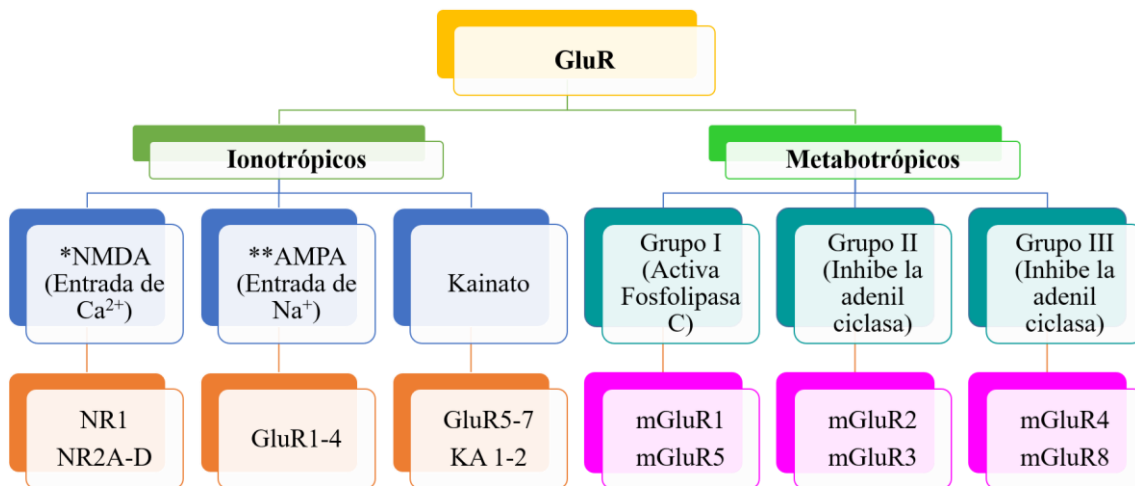


Figura 2. Clasificación de los receptores de glutamato. *N-methyl D-aspartato (NMDA), **a-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-ácido propiónico (AMPA).

Debido a la participación de los receptores ionotrópicos N-metil D-aspartato (NMDA) y Kainato, así como los metabotrópicos del grupo II mGluR2/3 con la sinapsis glutamatérgica es que destacaremos su importancia en esta investigación.

El glutamato media la transmisión sináptica rápida a través de tres clases de receptores ionotrópicos: N-metil D-aspartato, a-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-ácido propiónico (AMPA) y receptores de Kainato (KAR), cuya función es la hiperpolarización o despolarización de la membrana plasmática, de acuerdo con la especificación iónica del canal y el gradiente transmembrana presente.

Los receptores ionotrópicos NMDA se caracterizan por depender del voltaje, ser bloqueados por Magnesio (Mg^{2+}) y usar a la Glicina como coagonista. Se encuentra formado por un heterómero de 2 familias de subunidades, la

subunidad NR1 que tiene 8 isoformas y la subunidad NR2 formada por 4 subunidades NR2A, NR2B, NR2C y NR2D; estos receptores son permeables al influjo de Ca^{2+} y al flujo retrógrado de potasio (K^+). La unión a Glutamato ocurre por medio de la subunidad NR2 (**figura 3**), mientras que la Glicina usa la subunidad NR1 (**Fouillioux C et al., 2004**).

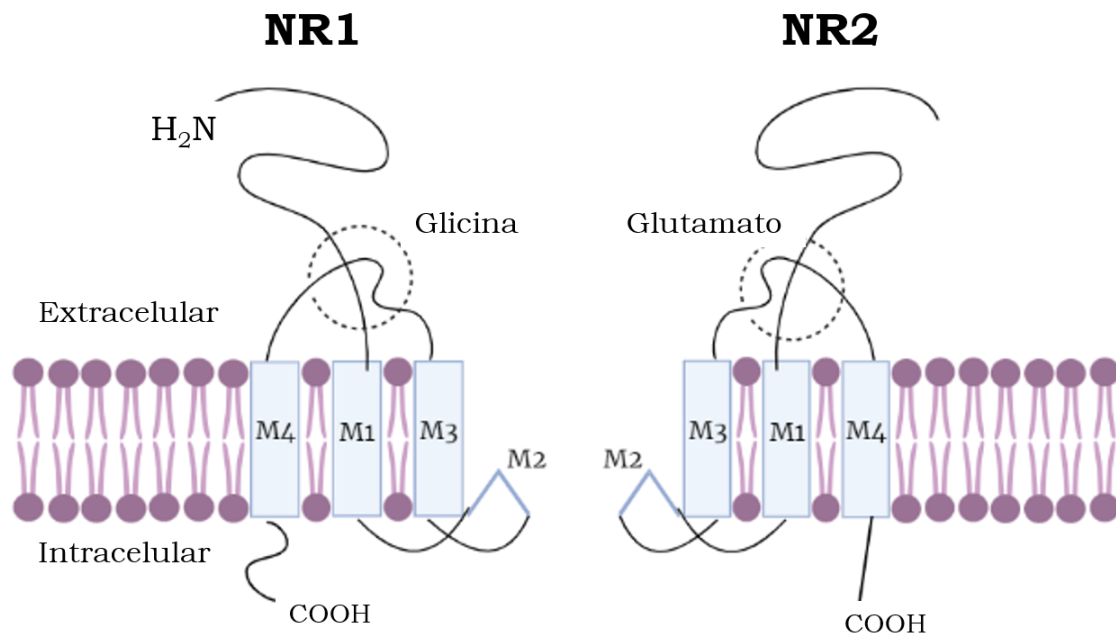


Figura 3. Estructura del receptor NMDA. Se muestra la estructura de las subunidades NR1 y NR2 de los receptores NMDA. (Modificada de **Fouillioux C et al., 2004**)

Estos receptores juegan un papel importante al participar en procesos específicos de acuerdo con la región donde se encuentren: la plasticidad sináptica, memoria y el aprendizaje, (**Llansola M et al., 2005**). En las neuronas de Purkinje del cerebelo se encuentra presente la subunidad 2B del receptor NMDA (NMDAR2B o NR2B) durante la primera etapa de vida participando en la migración celular que va de la capa germinal externa a la granular interna antes de la sinapsis (**Llansola M et al., 2005**).

La familia de los KAR se compone de cinco genes codificantes para las subunidades GluK1, GluK2, GluK3, GluK4 y GluK5. Se sabe que los receptores de Kainato se expresan en la corteza cerebelosa, en los axones de las fibras

paralelas y hacen sinapsis con las células de Purkinje donde pueden presentar un papel metabotrópico no canónico regulando la liberación de Glutamato y GABA, (**Falcon-Moya R et al., 2019**). Su activación presináptica regula la liberación de glutamato o GABA de manera positiva o negativa, participando en la modulación de la excitabilidad de las redes neuronales, mientras que en las terminaciones postsinápticas median la respuesta sináptica (**Bonfardin VD et al., 2012**).

Los receptores de glutamato metabotrópicos (mGluR) intervienen en las vías de transducción de señales a través de proteínas G. En estos receptores, la unión a glutamato activa o inhibe sistemas efectores acoplados a proteínas G, regulando así la transmisión sináptica y la excitabilidad neuronal, por ello la activación es más lenta, pero con una mayor duración. Se dividen en 3 grupos con funciones específicas:

Tabla 2. Tipos de receptores de glutamato metabotrópicos y su función.
(Modificada de **Fouilloux et al., 2004**).

Grupo	Función	Efecto
I Activación de la fosfolipasa C (PLC)	Genera segundos mensajeros: Diacilglicerol (DAG) que activa a la proteína Cinasa C; y el IP3 que media la liberación de iones de Ca ²⁺ de los depósitos intracelulares.	Excitación neuronal generando un feedback positivo que lleva a una sobreexcitación, causando apoptosis: Excitotoxicidad.
II y III Inhiben la Adenil ciclasa (AC)	Menor producción de Monofosfato de adenosina cíclico (AMPC) y menor liberación de Glutamato.	Tienen un efecto neuroprotector.

Los grupos II y III a menudo se localizan en terminales presinápticos o axones preterminales donde inhiben la liberación de neurotransmisores. Se sabe que de los ocho subtipos de receptores mGlu, los receptores mGlu2 y mGlu3 son los mejores "receptores neuroprotectores", ya que al ser activados inhiben la liberación de glutamato **(Lovinger DM, 1991); (Lovinger DM and McCool BA, 1995); (Cozzi A et al., 1997)**, inhiben los canales de calcio dependientes de voltaje **(Pin JP and Duvoisin R, 1995)** y estimulan la producción de factores neurotróficos en los astrocitos y la microglía **(Bruno V et al., 1997); (Ciccarelli R et al., 1999); (Matarredona ER et al., 2001)**.

Los receptores metabotrópicos de glutamato II (mGluR2 - Grm2) se encuentran en neuronas pre y postsinápticas **(Shigemoto R et al., 1996); (Shigemoto R et al., 1997)**, donde inhiben adenilato ciclasa **(Bruno V et al., 1997)**, canales de Ca^{2+} y activan canales de K^+ . Este receptor funciona también como un autorreceptor de glutamato, que una vez activado inhibe el vaciado del contenido vesicular en la terminal presináptica de las neuronas glutamatérgicas, **(Niswender CM and Conn PJ, 2010)**. **(Corti C et al., 2007)** Corti y colaboradores en el 2007 encontraron que la activación de mGluR2 en realidad podría ser dañina en términos de excitotoxicidad.

El receptor de glutamato metabotrópico 3 (mGluR3 – Grm 3) se encuentra preferentemente en neuronas y astrocitos. Un estudio realizado en cultivos de astrocitos expuestos a NMDA durante 10 minutos, demostró que el agonista LY379268 de los receptores mGlu2/3 induce un efecto neuroprotector, que se pierde si falta mGluR3 en los astrocitos del cultivo **(Corti C et al., 2007)**.

Aunque la mayoría de las células del SNC participan en el metabolismo del glutamato extracelular, los astrocitos son, con mucho, las células más eficientes en este proceso, ya que metabolizan aproximadamente cerca del 90% de todo el glutamato liberado.

La principal vía de la captación de glutamato se logra a través de dos tipos de transportadores de glutamato, independientes de Sodio (Na^+) y transportadores dependientes de Na^+ (Kainato, NMDA, etc.). Esta captación de glutamato astrocítico mediada por exocitosis dependiente de Ca^{2+} , ocurre

utilizando una maquinaria similar a la usada por las neuronas en la liberación sináptica de glutamato, **(Mahmoud S et al., 2019)**.

Regulación del glutamato por los astrocitos:

El glutamato puede ser retirado del espacio sináptico mediante los transportadores de aminoácidos excitatorios (EAAT) ubicados en la terminal presináptica de células gliales vecinas, o la neurona postsináptica. En la glía, el glutamato se convierte en glutamina, que luego se transporta de regreso a la terminal presináptica y se convierte nuevamente en glutamato.

El glutamato se puede metabolizar en los astrocitos por una de dos vías principales **(Figura 4)**:

- a) Captación de glutamato: después de la liberación de glutamato de las neuronas presinápticas, solo el 20% es captado por los receptores postsinápticos para transmitir impulsos excitatorios, mientras que los astrocitos captan el 80% restante mediante sus transportadores EAAT-1 y EAAT-2 (encargados de la captación de glutamato) localizados en la superficie peri-sináptica.

- b) Metabolismo del glutamato: En los astrocitos, la glutamina sintetasa (GS) convierte el glutamato en glutamina, esta se libera al espacio extracelular por el transportador electroneutral dependiente de sodio (SN1), tras lo cual la glutamina es captada por los transportadores del sistema, hacia las neuronas donde es utilizada para síntesis de glutamato o GABA **(Mahmoud S et al, 2019) (Figura 4)**.

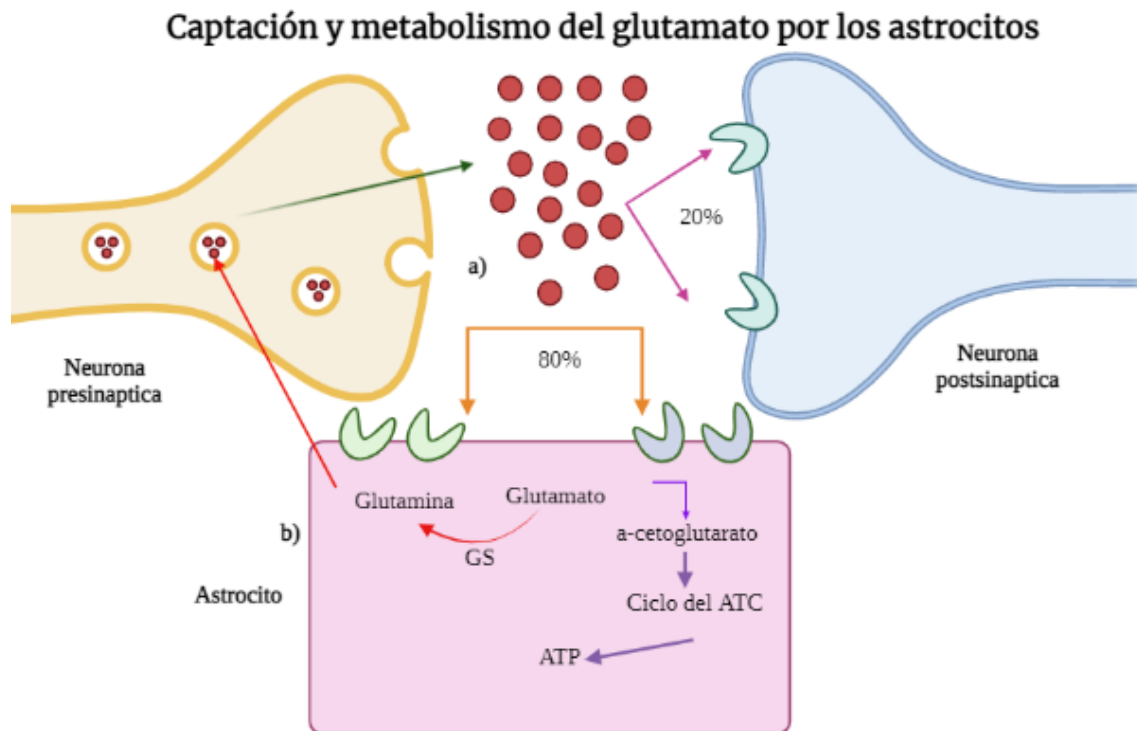


Figura 4. Captación y metabolismo de glutamato por los astrocitos. Se muestra el metabolismo del glutamato por los astrocitos (**Flechas rojas**), y el metabolismo oxidativo (**Flechas moradas**) (Modificada de **Mahmoud S et al., 2019**)

Por otro lado, el glutamato podría metabolizarse oxidativamente a α -cetoglutarato y así, ser usado en el Ciclo del ácido tricarboxílico (TCA), que se utiliza en la síntesis de ATP. Una proporción significativa de glutamato se metaboliza oxidativamente al α -cetoglutarato, que sirve como sustrato para la producción de ATP. Cabe destacar que el metabolismo oxidativo del glutamato da como resultado la producción de una enorme cantidad de ATP en los astrocitos, que supera el ATP necesario para la captación de glutamato.

La preferencia entre estas dos vías metabólicas depende, principalmente, de la concentración de glutamato en el espacio extracelular. Si es inferior a 0.2 mM, el glutamato se metaboliza a glutamina para proporcionar glutamato a las neuronas, mientras que el metabolismo oxidativo se ve favorecido si la concentración de glutamato extracelular es superior a 0.2 mM para proporcionar la energía necesaria para la absorción de glutamato (**Mahmoud S et al., 2019**).

Ácido gamma aminobutírico (GABA)

El GABA es el neurotransmisor inhibitorio más abundante en el SNC de los mamíferos. Se libera mediante la activación de los potenciales de acción y es necesario para la comunicación Neurona-Glía **(Watanabe M et al., 2002)**. Este neurotransmisor participa en procesos específicos como la proliferación, diferenciación y migración de los precursores neuronales y gliales **(al-Dahan MI and Thalmann RH, 1996); (Barres BA et al., 1990); (McCarthy MM et al., 2002); (Peters A, 1991)** y también se le ha relacionado extensamente con la promoción del sueño **(Chung S et al., 2017)**.

El GABA se une a tres principales receptores: GABA_A, GABA_B y GABA_C. Los receptores de tipo GABA_A y GABA_C son ionotrópicos y median las respuestas a GABA rápidamente para desencadenar la apertura de los canales cloruro (Cl⁻), mientras que los receptores GABA_B son metabotrópicos y median respuestas más lentas de GABA al activar las proteínas G e influir en los sistemas de segundos mensajeros **(Bettler B et al., 2004); (Shaye H et al., 2020)**.

Los receptores GABA_A son los principales sitios para la neurotransmisión inhibitoria rápida en el SNC, están regulados por mecanismos de fosforilación, lo que afecta tanto a sus propiedades funcionales como a su movilidad y tráfico en la superficie celular, además está compuesto por 5 subunidades (2 subunidades α , dos subunidades β y una subunidad γ o δ) acomodadas en un anillo y de manera concéntrica se encuentra el canal cloruro **(Wisden W et al., 2019)**.

Por su parte, los receptores GABA_A- ρ (GABA-rho) o GABA_C son canales iónicos activados por ligandos y se conforman por 5 subunidades ρ **(Connolly CN et al., 1996)**. Estos receptores se han detectado en la retina, en astrocitos cerebelosos y se ha propuesto su participación en la regulación del desarrollo glial del cerebelo **(Petriz A et al., 2014)**.

Serotonina

La 5-hidroxitriptamina (5-HT), o mejor conocida como serotonina, es una hormona biogénica que funciona como neurotransmisor, hormona y mitógeno. En el cerebro, la inervación de serotonina se encuentra desde la corteza,

amígdala, tálamo, núcleos de rafé y el locus coeruleus; se ha relacionado estrechamente con la promoción de la vigilia, la inhibición del sueño REM (**Monti JM, 2011**), regulación del comportamiento alimentario, agresión, dolor ansiedad y el estado de ánimo (**Bradley PB et al., 1986**).

Los receptores 5-HT se dividen en 7 familias con sus correspondientes receptores:

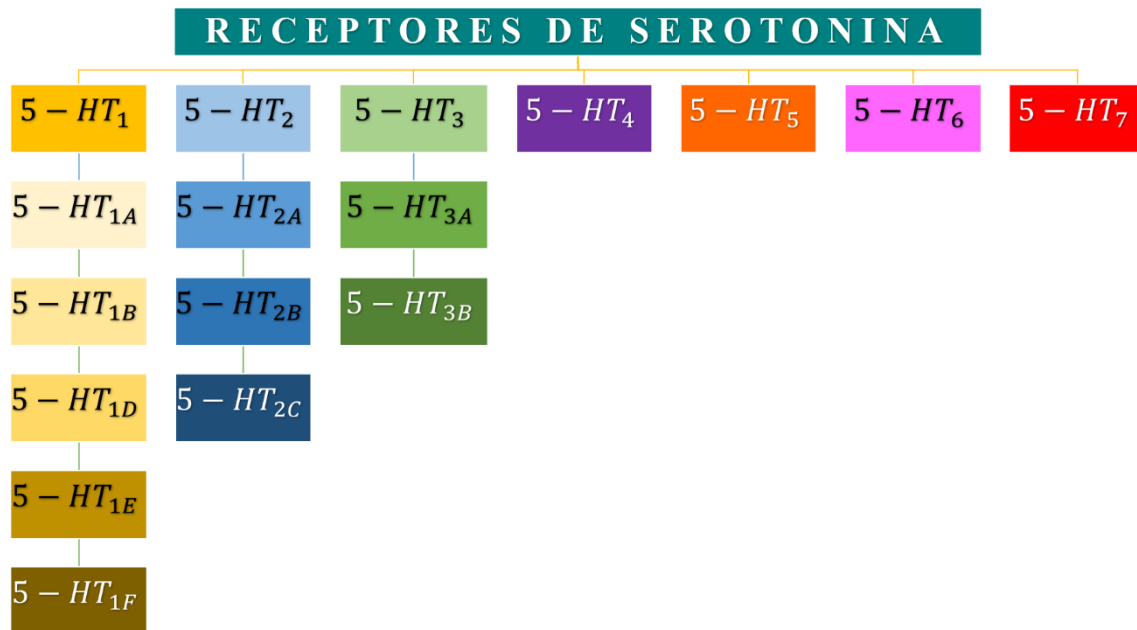


Figura 5. Receptores de Serotonina. Se muestran los tipos y subtipos de receptores de serotonina (5-HT).

Todas las subunidades, exceptuando a la 5-HT₃, están acopladas a proteínas G, mientras que el subtipo 5-HT₃ activa un canal catiónico (Na⁺, Ca²⁺ o K⁺) regulado por 5-HT que conduce a la despolarización de células monoaminérgicas, aminoacidérgicas y colinérgicas, (**Monti JM, 2011**).

Los subtipos de receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{1B} participan en la inhibición de adenilato ciclasa provocando la hiperpolarización de la membrana. Por su parte, los subtipos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C} activan la fosfolipasa C despolarizando a la célula huésped, a través de la salida de calcio del Retículo Endoplasmático Liso (**Monti JM, 2011**).

El receptor 5-HT₇ fue el último miembro en incorporarse a la familia de Serotonina, se trata de un receptor acoplado a proteínas G. La actividad del receptor 5-HT₇ estimula a la AC y se localiza en las neuronas piramidales de la

corteza cerebral, tálamo, hipocampo y tallo cerebral, **(Gustafson EL et al., 1996)**. Este receptor está implicado en la regulación de los ritmos circadianos de los mamíferos **(Glass JD et al., 2003)** y en la termorregulación **(Hedlund PB and Sutcliffe JG, 2004)**.

Enfermedades desmielinizantes y dismielinizantes

Diversas enfermedades presentan alteraciones en la síntesis, transporte y empaquetamiento de la mielina y dependiendo del origen se les puede clasificar como enfermedades de tipo desmielinizante y dismielinizante.

En las Enfermedades desmielinizantes del Sistema Nervioso Central (EDSNC) del sistema inmune y afecta a la mielina que se formó de manera normal, **(Savransky A, 2018)**. Entre las enfermedades del tipo desmielinizante se encuentran las siguientes **(Tabla 3)**:

Tabla 3. Enfermedades desmielinizantes y sus características.

Enfermedad	Definición	Patología
Esclerosis múltiple (EM)	Es una enfermedad crónica inflamatoria autoinmune de tipo progresivo, predomina en el sexo femenino. (Tenenbaum SN, 2017) . Se observan lesiones en la sustancia blanca, cuerpo caloso, tallo cerebral, cerebelo y médula espinal, (Toro J and Vallejo, 1994) .	La desmielinización se ve acompañada por una destrucción axonal que varía entre pacientes (Ferguson B et al., 1997) y un daño en los oligodendrocitos con proliferación astrocítica (Prineas JW et al., 1993) ; (Toro J and Vallejo, 1994) . Hay una reacción linfocitaria y mononuclear donde se activan los linfocitos T y macrófagos, los cuales se unen a proteínas de la mielina activando cascadas

		inflamatorias (Vogel DY et al., 2013).
Neuromielitis óptica (NMO)	Enfermedad inflamatoria autoinmune localizada en el cuarto ventrículo del tallo cerebral y en la región infratentorial del cerebelo. Se caracteriza por Neuritis óptica y mielitis transversa (Savransky A, 2018).	Se generan anticuerpos específicos contra la acuaporina 4 (IgG-AQP4) expresado en los terminales de los astrocitos, el epéndimo ventricular y las sinapsis interneurales. Este canal está encargado de regular el flujo del agua entre el cerebro-sangre y cerebro-líquido cefalorraquídeo (Lennon VA et al., 2004); Tenembaum SN, 2007).
Encefalomiелitis aguda diseminada (EAD)	Trastorno del tipo desmielinizante e inflamatorio inmunomediado del SNC que afecta a la sustancia blanca encefálica (Tenembaum SN., 2007).	Se trata de una encefalopatía aguda asociada a infiltrados multifocales de monocitos (Reik L, 1980). El tallo cerebral, el nervio óptico y el cerebelo se ven afectados (Toro J and Vallejo, 1994).

Las enfermedades dismielinizantes enlistadas en la **Tabla 4** se caracterizan por una alteración o falla en la producción o conservación de la mielina (**Toro J and Vallejo, 1994**). Las leucodistrofias son de origen congénito, donde la ausencia de mielina es primaria y se alteran los mecanismos encargados de mantener la mielina y muestran una mutación en el gen de Tubb4.

Tabla 4. Enfermedades dismielinizantes y sus características

Enfermedad	Definición	Características
<p>Leucodistrofia metacromática</p>	<p>Es la leucodistrofia más común. Se trata de una dismielinización de la sustancia blanca central y periférica (Toro J and Vallejo, 1994).</p>	<p>Ocurre una acumulación del sulfato cerebrósido (Toro J and Vallejo, 1994) a causa de la deficiencia de la enzima arilsulfatasa, vital para el metabolismo de la mielina, participando en la degradación de la misma impidiendo la acumulación de productos de degradación neurotóxicos (Bermejo VP et al., 2011)</p>
<p>Adrenoleucodistrofia (Enfermedad de Addison Schielder o Schaumburg)</p>	<p>Enfermedad que presenta insuficiencia renal con dismielinización de la sustancia blanca afectando los lóbulos occipitales y parietales (Bermejo VP et al., 2011)</p>	<p>Ocurre un defecto en la β-oxidación peroxisomal de los ácidos grasos saturados de cadena larga, debido a la incapacidad de que estos ácidos grasos sean metabolizados habrá una acumulación anormal a nivel hístico. Cuando estos se integran a los lípidos complejos que forman la mielina, hay un proceso de desmielinización y degeneración mielínica. (Toro J and Vallejo, 1994).</p>
<p>Enfermedad de Krabbe</p>	<p>Enfermedad autosómica recesiva del tipo progresivo, se</p>	<p>Se debe a un defecto en el gen <i>Galc</i>, que causa una producción insuficiente de la</p>

	<p>presentan crisis tónicas, atrofia óptica, sordera y deterioro cognitivo (Kohlschutter A, 2013).</p>	<p>enzima galactocerebrósido beta-galactosidasa (galactosilceramidasa), enzima fundamental para la producción de mielina (Kohlschutter A, 2013).</p>
<p>Enfermedad de Tay-Sachs</p>	<p>Enfermedad autosómica recesiva dismielinizante o conocida como idiocia amaurotica (Toro J and Vallejo, 1994).</p>	<p>El catabolismo de los gangliósidos está alterado debido a una ausencia o disminución de la hexosaminidasa A, que causa una acumulación del gangliósido GM2 (Toro J and Vallejo, 1994).</p>

En la mayoría de las enfermedades relacionadas con la pérdida de mielina el proceso de hipomielinización-desmielinización conduce a la degeneración axonal, interrumpiendo la comunicación neuronal entre el cerebro, la medula espinal y las extremidades **(Moller JR., 1997)**. Existen pocos modelos de animales innatos con un periodo de vida largo para evaluar el desarrollo de la degeneración mielínica, por lo que la búsqueda de modelos viables que simulen defectos causados por la pérdida de mielina representa un reto importante en la investigación clínica, es aquí donde se destaca la importancia de la rata *taiep*, que es un modelo apto para el estudio relacionado con enfermedades del tipo desmielinizantes/dismielinizantes.

Justificación

Las enfermedades hipomielizantes/desmielinizantes en el ser humano son un problema de salud latente. La incapacidad motriz que presentan los pacientes que sufren alguna enfermedad desmielinizante se debe a una degeneración progresiva de las vainas de mielina en regiones como tallo y cerebelo, por ello contar con un modelo animal que presente un cuadro similar a este tipo de enfermedades, como es la rata *taiep*, podría ayudar a comprender los mecanismos que regulan la expresión génica en estas patologías.

Actualmente no se conocen por completo los mecanismos moleculares involucrados en la regulación génica neural en la rata *taiep*, por lo que conocer el perfil de expresión de los transcritos de RNA que se encuentran modificados al mes de edad donde el proceso de hipo-desmielinización genera los primeros signos motores y causa neurodegeneración, nos ayudará a comprender las posibles alteraciones neuroquímicas en el tallo y cerebelo de la rata *taiep*.

Este trabajo buscó estudiar los transcritos expresados en la rata *taiep* al mes de edad en tallo y cerebelo, así como evaluar su impacto en las vías de señalización en las que participan.

Pregunta de investigación

¿Cuáles son los transcritos de las vías neuroquímicas relacionadas con Glutamato, GABA y Serotonina que se encuentran modificados en la rata *taiep*?

Hipótesis

La alteración de los transcritos de las vías neuroquímicas contribuye a la patología *taiep*.

Objetivos

Objetivo general

- Analizar bioinformáticamente los transcritos modificados en las vías neuroquímicas relacionadas con Glutamato, GABA y Serotonina de tallo y cerebelo en la rata *taiep*.

Objetivos específicos

- Identificar los transcritos modificados en las vías neuroquímicas relacionados con Glutamato, GABA y Serotonina de tallo y cerebelo en la rata *taiep* a partir de un microarreglo.
- Proponer un mapa bioinformático de las vías neuroquímicas para encontrar transcritos modificados en la patología *taiep*.

Diseño de la investigación

TIPO DE ESTUDIO

Retrospectivo, de acuerdo con los datos obtenidos del microarreglo realizado en la rata *taiep* en la Unidad de Microarreglo del Instituto de Fisiología de la UNAM, se realizó el análisis bioinformático en la plataforma KEGG (Enciclopedia de Genes y Genomas de Kioto).

DEFINICIÓN DE UNIVERSO

Transcritos regulados positiva o negativamente obtenidos por el microarreglo de 5K genes de rata *taiep*.

TIPO DE MUESTREO

Muestreo específico, transcritos involucrados en vías neuroquímicas.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión: Ratas macho *Sprague-Dawley* (*SD*) y *taiep* de 1 mes de edad. Transcritos que fueron positivos para los fluoróforos Cy3 y Cy5. Transcritos que presentaron un valor de Z-score $\geq +2/-2$.

Criterios de exclusión: Ratas hembra *SD* y *taiep* de 1 mes de edad. Aquellos transcritos con un valor de Z-score $<+2/-2$.

Criterios de eliminación: Ratas mayores a un mes, desnutridas, enfermas, que presenten un cuadro diferente a la patología *taiep* o de cualquier otra cepa. Transcritos que solo fueron positivos para uno de los 2 fluoróforos: para Cy3 y no para Cy5, o para Cy5 y no para Cy3, según sea el caso.

DEFINICIÓN DE GRUPO CONTROL

Ratas macho *Sprague-Dawley*, clínicamente sanas de 1 mes de edad.

VARIABLES Y DEFINICIÓN DE VARIABLES

VARIABLES cualitativas: El mRNA de transcritos que tengan una regulación negativa y positiva, involucrados en una ruta neuroquímica.

MANEJO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS

Análisis de Z-score que evalúa la desviación estándar entre grupos de la distribución de los datos.

ASPECTOS BIOÉTICOS

Todos los trámites se realizaron de acuerdo con la legislación mexicana vigente, NOM-062-ZOO-1999 (SAGARPA), con base en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio. Los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales con el número de protocolo 09-102. Todos los procesos experimentales se realizaron con los cuidados necesarios para minimizar el sufrimiento de los animales.

RIESGOS DE LA INVESTIGACIÓN

En este trabajo no se presentan riesgos.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

En este trabajo no fue necesaria una carta de consentimiento informado.

Diagrama de trabajo

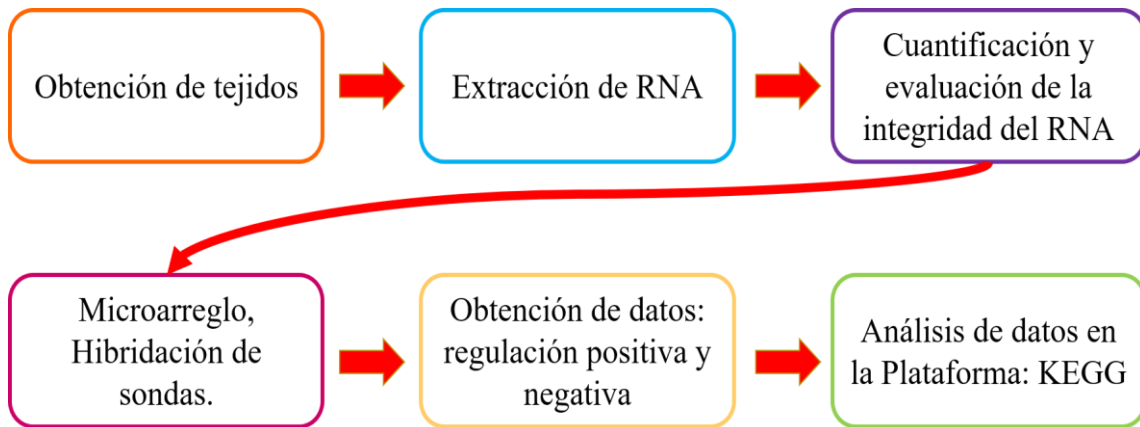


Figura 6. Diagrama de trabajo. Se muestra el proceso de trabajo durante la tesis.

Una vez obtenido el RNA total, se transportaron las muestras a la Unidad de Microarreglo del Instituto de fisiología celular de la UNAM, a cargo del doctor Jorge Ramírez Salcedo (<http://www.ifc.unam.mx/acerca-del-instituto/organizacion>).

Metodología

Preparación de animales:

Se emplearon ratas macho de la cepa Sprague-Dawley y *taiep* de 30 días de nacidas, los animales se mantuvieron bajo condiciones de bioterio controladas, con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas y temperatura de 22 °C ±2, con acceso de agua y alimento *ad libitum*.

Obtención de tejidos:

Se seleccionaron aleatoriamente ratas macho de las cepas *Sprague-Dawley* y *taiep* de 30 días de nacidas, en ambos casos la n fue de 5 ratas (n=5). Éstas fueron anestesiadas con pentobarbital a una dosis de 30 mg/Kg de peso y rápidamente se extrajeron los cerebros completos, de los que se disectó el tallo y cerebelo, estos fueron colocados inmediatamente en un tubo estéril libre de RNAsas y almacenados a -72 °C hasta su posterior uso.

Extracción del RNA:

Usando la técnica de TRIzol (Reactivo TRI: fenol e isotiocianato de guanidina; 1000 mL por 100 mg de tejido de tallo y cerebelo) se homogenizó mecánicamente la muestra (el pool de los tejidos de las 5 ratas) y se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente (TA). Se añadieron 200 µL de cloroformo, se agitó durante 15 s y se incubó por otros 5 min a TA. Posteriormente, se centrifugó a 12,500 rpm durante 15 min a 4°C y con una micropipeta se recuperó la fase acuosa en un tubo nuevo, a este se le añadieron 500 µL de Isopropanol, se mezcló e incubó durante 10 min a TA. Después de esto, se centrifugó a 12,000 rpm por 10 min a 4°C, pasado el tiempo se decantó el sobrenadante manteniendo el pellet de RNA (ácido ribonucleico) al fondo del tubo, se lavó con 1 mL de etanol (EtOH) al 75% con un golpe de vórtex y se centrifugó a 7,500 rpm durante 5 min. Se decantó el EtOH y finalmente, se resuspendió el pellet de RNA en agua grado biología molecular (GBM, libre de RNAsas).

Cuantificación del RNA:

A partir de la solución concentrada de RNA total, se tomó 1 μL y se adicionó a un microtubo que contenía 9 μL de agua grado biología molecular, obteniendo una dilución 1:10, de la cual se tomaron 2 μL para determinar la concentración y pureza (ratio 260/280 nm) de la muestra por medio de espectrofotometría en el NanoDrop 8000.

*La relación 260/280 nm tiene un valor ideal de 1.8 – 2, que significa que la muestra es pura. Un valor menor a 1.6 muestra contaminación con proteínas o fenoles.

Integridad del RNA:

Para evaluar la integridad del RNA se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con Bromuro de etidio (BrEt), en cada pozo se depositaron 8 μL de la mezcla de RNA diluido y buffer de carga, se corrió el gel a 80 voltios durante 1 hora. Pasado el tiempo se visualizó el gel en una cámara de luz UV para verificar que el RNA no se degradó durante todos los procedimientos realizados.

Microarreglo:

El experimento se realizó en la Unidad de Microarreglos del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM. El microarreglo se hizo en ciego y por duplicado: Se usaron 30 μg de RNA obtenidos del tallo y cerebelo del grupo control (*Sprague-Dawley*) y el grupo problema (*taiep*), como el experimento se realizó en ciego, una muestra fue marcada como "Número 1" y otra como "Número 2". En el primer experimento se marcó la muestra 1 con el fluoróforo Cy3, y la 2 con el fluoróforo Cy5 y se hibridó con el chip RN5K_05_26. En el segundo experimento la muestra 1 se marcó con el fluoróforo Cy5 y la muestra 2 con el Cy3, posterior a esto se hibridó con el chip Rn5K_05_27.

Análisis de Z-score:

Una vez obtenidos los resultados del microarreglo se realizó un análisis de Z-score. Al ser un modelo discriminante, el Z-score genera un valor estandarizado que especifica la ubicación exacta de un valor X dentro de una distribución describiendo su distancia desde la media en términos de unidades de desviación estándar, así las puntuaciones Z describen la ubicación exacta de una puntuación dentro de una distribución: (+) si están por encima o (-) si están por debajo de la media.

Así, se discriminaron los transcritos que estaban debajo de los valores de Z-score $\geq +2$ / -2 o que solo hayan dado positivo a un fluoróforo, trabajando únicamente con los transcritos que presentaban una regulación \geq a $+2/-2$, identificándolos como aquellos que se encontraban fuera de la normalidad.

Análisis de transcritos por medio de la plataforma KEGG:

Los transcritos que tuvieron una regulación positiva o negativa fueron analizados en “KEGG” (<https://www.genome.jp/kegg/>), haciendo uso de una de las herramientas que ofrece la plataforma: “KEGG MAPPER” (<https://www.genome.jp/kegg/mapper/search.html>), cuya función es el mapeo de rutas bioquímicas, metabólicas y genéticas. Con ayuda de bases de datos externas, esta plataforma se encargará de relacionar los transcritos y mostrará las vías de señalización o procesos en los que convergen.

Para realizar la búsqueda concerniente a esta investigación, accedimos a la plataforma de KEGG, donde se eligió la herramienta “Mapper” (<https://www.genome.jp/kegg/mapper/search.html>). En ella se especificó la búsqueda que se necesitó llevar a cabo (**Figura 7**):

1. Se eligió el organismo del que se obtuvieron los transcritos, en este caso *Rattus norvegicus*, cuya clave es “rno”.
2. En la ventanilla de “Identificadores KEGG” se colocaron las claves de acceso de los transcritos.
3. Se seleccionaron los filtros: “Incluir objetos: Igual que” e “Incluir Alias”, para hacer más específica nuestra búsqueda.

4. Ejecutamos la acción.

The screenshot shows the KEGG Mapper Search page. At the top left is the KEGG logo. The main title is "KEGG Mapper - Search". Below the title is a navigation bar with links: KEGG2, About, Reconstruct, Search, Color, Join, Convert ID, Assign KO, Taxonomy. The "Search tool" section explains that it searches various KEGG objects against KEGG pathway maps. The search interface includes a "Search mode" section with radio buttons for Reference, hsa, and other org (selected), and a text input field containing "rno" (annotated with a red circle and the number 1). Below this is a text area for "Enter query KEGG identifiers" containing the numbers 29559, 24415, 24416, and 24410 (annotated with a red circle and the number 2). To the right of the text area is a dropdown menu for "Examples:" with "Select" chosen. Below the text area is an "Or upload file:" section with a "Seleccionar archivo" button and "Ninguno archivo selec." text. Below that are "Filter1" and "Filter2" labels, and two checked checkboxes: "Include 'same as' objects" and "Include aliases (for hsa and other org modes)" (annotated with a red circle and the number 3). At the bottom of the search interface are "Exec" and "Clear" buttons (annotated with a red circle and the number 4).

Figura 7. Especificaciones de búsqueda de transcritos

5. La búsqueda nos arrojó una lista de los procesos individuales y grupales en los que convergen los transcritos que fueron introducidos. Se eligió el "rno" del proceso de nuestro interés que involucró a la mayor cantidad de transcritos introducidos (Figura 8).

KEGG Mapper Search Result

The screenshot shows the search results page. At the top are three tabs: "Pathway (20)", "Brite (3)", and "Module (0)". Below the tabs is a "Sort by the pathway list" link and a "Show matched objects" link. The results list includes:

- rno00980 Neuroactive ligand-receptor interaction - Rattus norvegicus (rat) (4)
- rno04724 Glutamatergic synapse - Rattus norvegicus (rat) (4) (annotated with a red circle and the number 4)
- rno:24410 Grin2b; glutamate receptor ionotropic, NMDA 2B precursor
- rno:24415 Grm2; metabotropic glutamate receptor 2 precursor
- rno:24416 Grm3; metabotropic glutamate receptor 3 precursor
- rno:29559 Grik1; glutamate receptor ionotropic, kainate 1 isoform 1 precursor
- rno05030 Cocaine addiction - Rattus norvegicus (rat) (3)
- rno04072 Phospholipase D signaling pathway - Rattus norvegicus (rat) (2)

A red box highlights the precursor entries for rno:24410, rno:24415, rno:24416, and rno:29559. A red arrow points to the "rno00980" entry.

Figura 8. Procesos en donde coinciden los transcritos de interés.

6. Una vez seleccionado el proceso de interés donde convergieron los transcritos, la plataforma nos arrojó un mapa en el que aparecieron marcados en rojo los transcritos que fueron introducidos. Dicho mapa se analizó de acuerdo con la función de cada transcrito y su nivel de expresión (**Figura 9**).

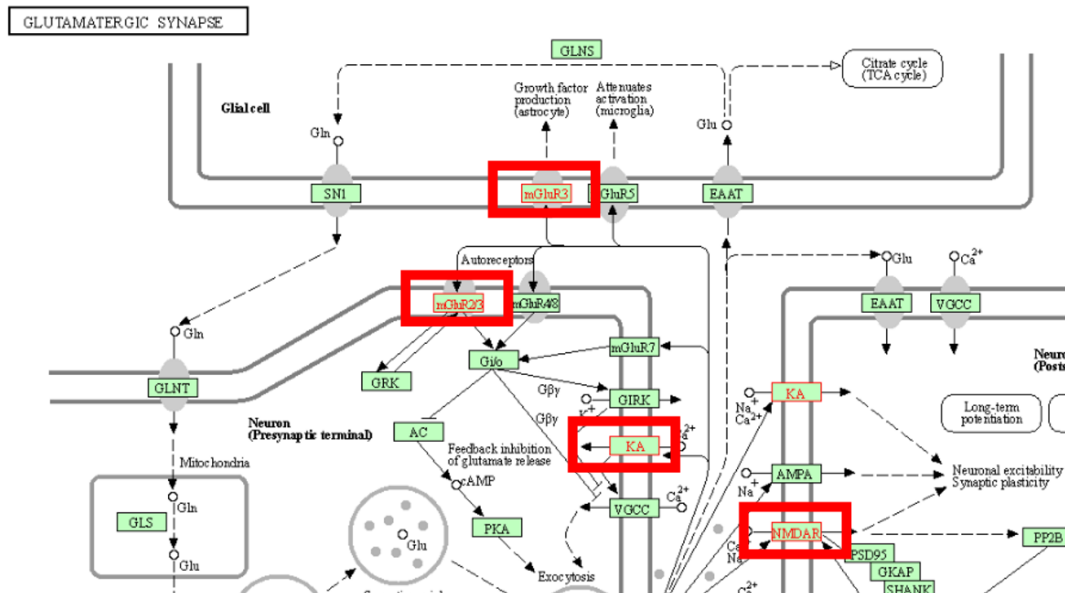


Figura 9. Mapa de interés donde se observan los transcritos introducidos (Rojo).

Resultados y discusión

El microarreglo de 5K genes nos permitió realizar un análisis de aquellos transcritos regulados positiva y negativamente participantes en diversos procesos fisiológicos, este desglose determinó que 241 transcritos tenían un valor de Z-score \geq a ± 2 y de estos, únicamente 59 transcritos estaban relacionados con la patología *taiep*. De relevancia en el presente estudio, únicamente se usaron aquellos relacionados con vías neuroquímicas determinando que solo 7 transcritos estaban involucrados con la liberación, síntesis y actividad de los neurotransmisores.

Aquellos seleccionados fueron ingresados a KEGG, donde se trabajó con los mapas proporcionados por la plataforma.

Sinapsis glutamatérgica

Con los resultados del microarreglo a partir del análisis Z-score, se encontraron alterados cuatro transcritos relacionados con glutamato, de los cuales tres estaban regulados negativamente y uno positivamente (**Tabla 5**). Los cuatro transcritos fueron analizados utilizando la plataforma KEGG que los correlacionó en un proceso conjunto: la sinapsis glutamatérgica (**Figura 10**).

Tabla 5. Transcritos relacionados con glutamato regulados positiva y negativamente.

Regulación	Transcritos	RNO
Negativa	Grik1; glutamate receptor, ionotropic, kainate 1	29559
	Grm2; glutamate receptor, metabotropic 2 – mGluR2	24415
	Grm3; glutamate receptor, metabotropic 3 – mGluR3	24416
Positiva	Grin2b; glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 2B – NMDAR2B	24410

GLUTAMATERGIC SYNAPSE

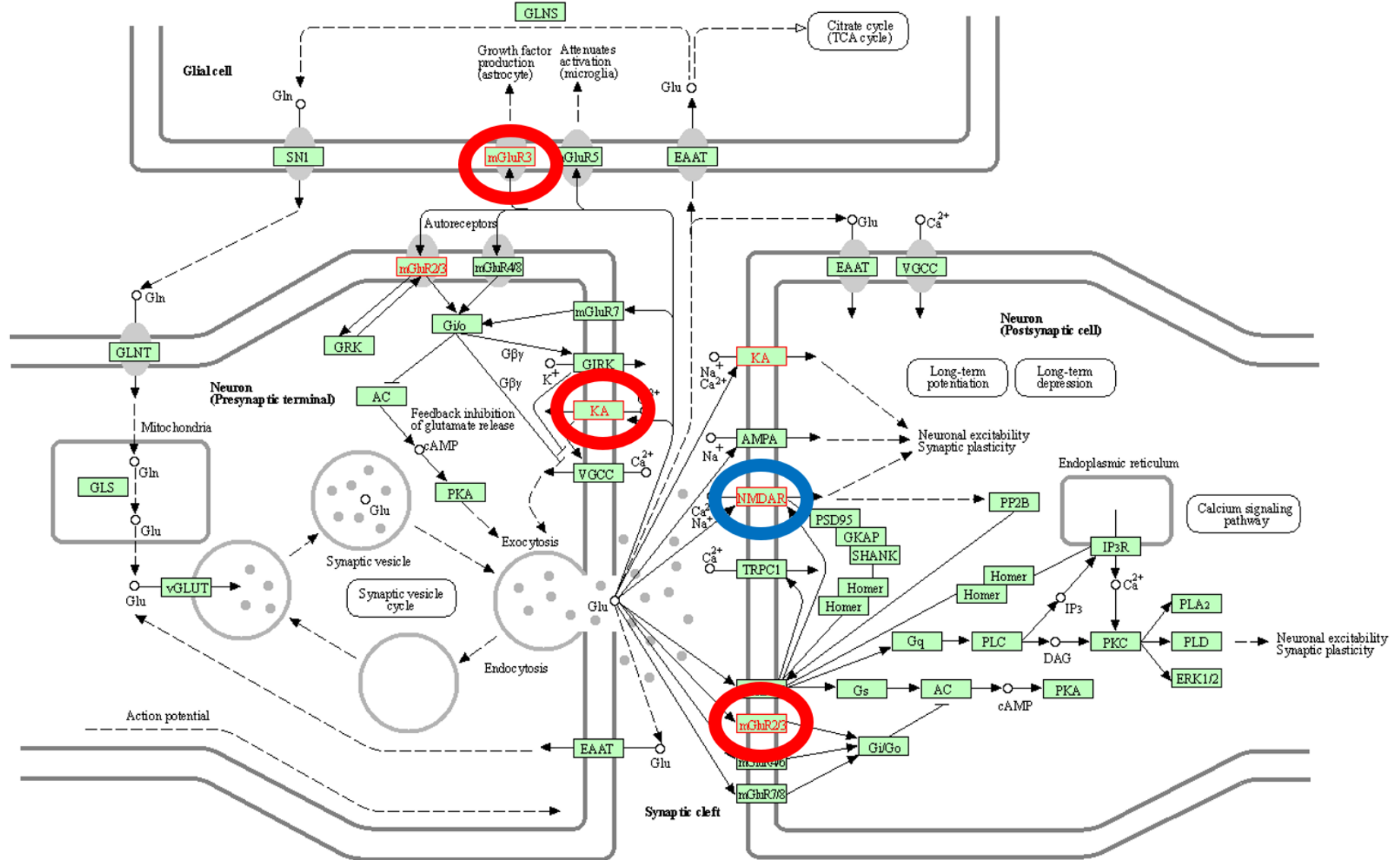


Figura 10. Sinapsis glutamatérgica. Se muestran los transcritos con una regulación negativa (**círculo rojo**) y positiva (**círculo azul**). La regulación negativa de mGluR3 en el astrocito estaría afectando la producción de factores de crecimientos necesarios para mantener el contacto y supervivencia de la neurona. En la neurona el transcrito que codifica para el mGluR3 a través de su acoplamiento a proteínas G1/o no inhibiría la activación de AC y promovería la exocitosis de Glu de la neurona presináptica, aumentando los niveles de Glu en la hendidura sináptica. El receptor en la mGluR3 en la neurona postsináptica a través de Gi/Go promueve la activación de PKA involucrado en la memoria de trabajo. La regulación negativa del mRNA de KA inhibe la recaptura de Glu presináptico y la activación del receptor postsináptico involucrado en la plasticidad sináptica excitatoria neuronal (**Jin LE et al., 2018**). Además, la regulación positiva de NMDAR incrementaría la excitabilidad de la neurona postsináptica. **Mapa obtenido y modificado de KEGG.**

De acuerdo con el mapa obtenido a través de KEGG los transcritos alterados participan en conjunto en el metabolismo, transporte y recaptura de glutamato por parte de las neuronas y las células gliales, principalmente los astrocitos, cuando existe un exceso de este neurotransmisor en el espacio extrasináptico. La glía juega un papel importante en la recaptura del glutamato por medio de los transportadores EAAT donde el neurotransmisor será convertido en glutamina y posteriormente será transportado a la terminal presináptica para ser transformado nuevamente en glutamato (**Figura 10**).

En la rata *taiep* al mes de edad hay una modificación de 4 transcritos que codifican para receptores de glutamato, dos metabotrópicos y dos ionotrópicos. De estos, tres transcritos se encontraron regulados negativamente (los receptores metabotrópicos mGluR2 y mGluR3, así como el receptor ionotrópico Kainato-GluR5), mientras que sólo la subunidad 2B del receptor ionotrópico NMDA mostró una regulación positiva (**Figura 10**).

El receptor ionotrópico de Glutamato NMDA está compuesto por 3 subunidades, la NR2A, NR2B y NR2C. Específicamente la subunidad 2B está ubicada en la terminal postsináptica donde participa en la excitabilidad neuronal y la plasticidad sináptica.

Llansola y colaboradores en el 2005 encuentran que, en condiciones fisiológicas, hasta los 15 días de edad, la subunidad 2B está normalmente sobreexpresada o presenta una regulación positiva, sin embargo, a partir de los 15 días postnatal debe ocurrir un intercambio de la subunidad NR2B por la NR2A y la NR2C, esto genera un cambio funcional en el receptor modificando el tiempo de apertura y cierre del canal, resultando en la consecuente disminución de la subunidad NR2B (**Llansola M et al., 2005**). En la rata *taiep* al mes de edad, los niveles de la subunidad 2B del receptor de NMDA se encontraron sobreexpresados.

Se ha demostrado que la regulación positiva de esta subunidad en edades mayores provoca excitotoxicidad y daño neuronal, tal como reporta Flores Soto en pacientes con la enfermedad de Huntington (**Flores-Soto ME et al., 2012**). Esto concuerda con lo reportado por **Fuller y colaboradores**, los cuales sugieren que una disminución en la expresión de la subunidad 2B puede tener

un efecto neuroprotector que se estaría llevando a cabo a través de la fosforilación de la subunidad causando la inhibición del receptor **(Fuller PI et al., 2006; Hashimoto R et al., 2002; Snyder EM et al., 2005)**.

En resumen, la regulación positiva de la subunidad 2B del receptor NMDA se ha asociado con Huntington y ELA **(Flores-Soto ME et al., 2012)**, participando en un proceso de excitotoxicidad y se sugiere que su disminución tiene un efecto neuroprotector **(Fuller PI et al., 2006)**.

Otro transcrito que en este modelo se ve afectado es el receptor ionotrópico de KA, Grik1 o GluK5, presente en axones que participan en vías de señalización relacionadas con la liberación de Ca^{2+} , **(Ouardouz M et al., 2009)**. En la terminal presináptica la activación de estos receptores genera el intercambio de Ca^{2+} por K^+ , lo que provoca la disminución del potencial de acción causando la apertura del canal con la consecuente activación de proteínas G, ejerciendo un papel metabotrópico no canónico y regulando así la liberación de Glutamato **(Falcon-Moya R et al., 2019)** de manera positiva o negativa, participando en la modulación de la excitabilidad de las redes neuronales. En la terminal postsináptica, este receptor participa en la excitabilidad neuronal y la plasticidad sináptica **(Bonfardin VD et al., 2012)**.

En la rata *taiep*, el receptor de Kainato GluK5 se encontró regulado negativamente afectando su función, esta regulación negativa del transcrito KA inhibe la recaptura de Glu presináptico y la activación del receptor postsináptico involucrado en la plasticidad sináptica excitatoria neuronal **(Jin LE et al., 2018)**. Se ha demostrado que el aumento de Ca^{2+} causa degeneración axonal, cuando incrementa la concentración intracelular **(Ouardouz M et al., 2009)**. En estudios relacionados con EM se reporta una gran cantidad de este receptor en los sitios de lesión y su aumento está relacionado con daño ocasionado en la barrera hematoencefálica **(Newcombe J et al., 2008)**.

Los últimos receptores de Glutamato afectados en la rata *taiep* fueron los metabotrópicos GluR2 y GluR3 que se encontraron regulados negativamente. Estos receptores se encontraron en la terminal presináptica, en la postsináptica y únicamente el mGluR3 se ubica en células gliales. En la terminal postsináptica mediante la activación de proteínas G estos receptores inhiben a la Adenilato

ciclasa, en este modelo, al estar regulados negativamente esta inhibición no se llevaría a cabo afectando la excitabilidad neuronal y la plasticidad sináptica. En patologías como la Ataxia cerebelosa paraneoplásica estos receptores están altamente expresado sugiriendo una actividad neuroprotectora al regular la excitabilidad neuronal **(Ruiz-Garcia R et al., 2020)**. Girardi y colaboradores en el 2007 usaron el ácido 3-mercaptopropiónico (MP) como inductor convulsivo y a la ciclopentiladenosina (CPA) para inducir ataques epilépticos en ratas, durante los ataques los niveles de mGluR2/3 en el cerebelo aumentaban, sugiriendo que una regulación positiva de estos receptores puede causar un efecto neuroprotector y/o un efecto apoptótico **(Girardi ES et al., 2007)**. Sin embargo, hay controversia con otros autores donde los agonistas de estos receptores disminuían las convulsiones **(Jacobson KA et al., 1996); (Boeck CR et al., 2005)**. Respecto a nuestro mutante, la rata *taiep* a esta edad no estaría involucrada en el proceso epiléptico (presente a los 3-11 meses de edad, **Holmgren B et al., 1989**), pero podría ser un indicio de que ocurre en edades posteriores al mes de edad.

En la terminal presináptica, estos receptores funcionan como autorreceptores, inhibiendo la adenilato ciclasa e impidiendo el vaciado del contenido vesicular de glutamato, ejerciendo un efecto neuroprotector, anti-apoptótico y disminuyendo la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) **(Bratek-Gerej E et al., 2021)**. Esto puede deberse a un mecanismo de retroalimentación negativa, en el que la disminución de glutamato a nivel presináptico tiene un efecto benéfico en condiciones patológicas **(Girardi ES et al., 2007)**. Sin embargo, en el caso de la regulación negativa de estos receptores que presenta la rata *taiep*, la liberación de glutamato no estaría regulada, este hallazgo podría sustentar lo reportado por Fuenzalida, donde el tono glutamatérgico se ve aumentado en el mutante *taiep* **(Fuenzalida M et al., 2009)**.

Finalmente, únicamente el receptor mGlu3 se encuentra en células gliales, principalmente en el astrocito, donde permanece estable desde el nacimiento hasta la etapa adulta **(Sun W et al., 2013)**. Aquí, el mGluR3 participa en la producción de factores de crecimiento y también regula la recaptura de Glu de la hendidura sináptica permitiendo su transformación a glutamina que será devuelta a la terminal presináptica de la neurona **(Bruno V et al., 1997)**.

En ratas neonatas, Zinni y colaboradores encontraron que el receptor mGluR3 normalmente disminuye el proceso inflamatorio regulado por la microglía **(Zinni M et al., 2021)**. En modelos que presentan enfermedades neurodegenerativas como la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) **(Berger JV et al., 2012)**, Esquizofrenia y EM mostraron que los astrocitos cercanos al sitio de lesión presentaban una regulación positiva de mGluR3 **(Planas-Fontanez TM et al., 2020)**, con estos estudios se ha establecido el papel del mGluR3 como mediador neuroprotector en la sinapsis tripartita **(D'Antoni S et al., 2008)**. En nuestro modelo este receptor presenta una regulación negativa, sugiriendo que al mes de edad la regulación negativa de mGluR3 podría aumentar el proceso inflamatorio, sin embargo, se deben realizar más estudios para comprobar este hallazgo.

La regulación negativa del receptor mGluR2 estaría asociada a una alteración principalmente presináptica, esto aumentaría la liberación de Glutamato. Por otro lado, la regulación negativa de mGluR3 mostraría una menor participación como receptor glial en prolongaciones de astrocitos, y en la terminal postsináptica de espinas en la corteza cerebral conllevando a una concentración mayor de glutamato en el espacio sináptico **(Jin LE et al., 2018)**.

Sinapsis GABAérgica

Los resultados del microarreglo y el análisis Z-score, mostraron la alteración de tres transcritos relacionados con GABA, uno de ellos presentaba una regulación negativa y los dos restantes una regulación positiva (**Tabla 6**). Estos transcritos fueron analizados mediante la plataforma KEGG que los relacionó con la sinapsis GABAérgica (**Figura 11**).

Tabla 6. Transcritos relacionados con GABA regulados positiva y negativamente

Regulación	Transcritos	RNO
Negativa	Gabrr1; gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor, rho 1	29694
Positiva	Gabrd; gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor, delta	29689
	Gad2: glutamate decarboxylase 2 (EC:4.1.1.15)	24380

Figura 11. Sinapsis GABAérgica. Se muestran los transcritos con una regulación negativa (**círculo rojo**) y positiva (**círculo azul**). GABAA y GABAC son causantes de la hiperpolarización de la neurona postsináptica, disminuyendo la excitabilidad de la neurona, este receptor puede ser internalizado al endosoma temprano y puede seguir dos vías: ser degradado o reciclado, en esta última se dirigirá hacia la membrana para ser reutilizado. **Mapa obtenido y modificado de KEGG.**

El primer transcrito que se vio alterado en el microarreglo, correspondió a Gad2 que, ubicado en la terminal presináptica, codifica para la enzima glutamato descarboxilasa (GAD). Esta enzima se activa rápidamente en respuesta a una mayor demanda de GABA y mediante la conversión de GABA a partir de glutamato contribuye a la síntesis y al llenado vesicular de GABA participando en su liberación hacia la hendidura sináptica **(Kakizaki T et al., 2021)**. Este transcrito presentó una regulación positiva, lo que sugiere que el medio intenta compensar el exceso de glutamato al convertirlo en GABA.

Una vez que GABA es liberado a la hendidura sináptica, activa 3 tipos de receptores en la terminal postsináptica, GABAA, B y C, que una vez activados pueden desencadenar diversas respuestas fisiológicas. Específicamente GABAA y GABA_C participan en la hiperpolarización disminuyendo la excitabilidad. En nuestros resultados encontramos regulada negativamente la subunidad rho1 (GABA_{p1} o $\rho 1$) de GABA_C, mientras que la subunidad delta del receptor GABAA (GABR δ) se encontró regulada positivamente **(Figura 11)**.

La distribución de GABA_{p1}, está determinada por la región y la etapa del desarrollo, en el cerebro inmaduro las neuronas de la corteza expresan principalmente esta subunidad, la cual participa en la migración celular **(Denter DG et al., 2010)**, mientras que en las terminales de la retina **(Zhang D et al., 1995)** y en las neuronas del hipocampo **(Rozzo A et al., 2002)** regula la producción, liberación y acción glutamatérgica **(Jones SM and Palmer MJ et al., 2009)**. Sin embargo, pocos estudios se han enfocado en determinar el papel que juega en tallo y cerebelo a edades tempranas donde, si bien están presentes, hay una baja expresión de estos **(Mejía C et al., 2008)**, además de que no se ha determinado del todo su función **(Petritz et al., 2014)**.

Específicamente la subunidad GABR δ de GABAA está presente en la región peri y extra sináptica **(Scheffer IE et al., 2005)** del cerebelo participando en la inhibición tónica **(Zhou L et al., 2019)** regulando así la excitabilidad neuronal del cerebro **(Brickley SG and Mody I, 2012)**. Este receptor que se encuentra regulado positivamente, puede ser internalizado al endosoma temprano y seguir una vía de degradación o ser reciclado a la membrana para ser reutilizado **(Leidenheimer NJ, 2008)**.

Se ha demostrado que en procesos patológicos como episodios de epilepsia (**Macdonald RL et al., 2010**), esquizofrenia (**Lewis DA et al., 2011**) y autismo hay un déficit en la neurotransmisión mediada por los receptores GABA_A debido a su sobreexpresión (**Coghlan S et al., 2012**). Además, está relacionado con el paso de Cl⁻, que se ha asociado con Epilepsia y catalepsia en modelos biológicos como la rata *taiep* (**Eguibar JR et al., 2009**).

Sinapsis Serotoninérgica

En el microarreglo realizado en la rata *taiep*, únicamente se encontró alterado un transcrito (*HTR7*) relacionado con el neurotransmisor Serotonina (**Tabla 7**). Dicho transcrito fue introducido en la plataforma KEGG y se corroboró su participación en la sinapsis serotoninérgica (**Figura 12**).

Tabla 7. Transcrito relacionado con Serotonina regulado positivamente.

Regulación	Transcrito	RNO
Positiva	Htr7; 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 7	65032

SEROTONERGIC SYNAPSE

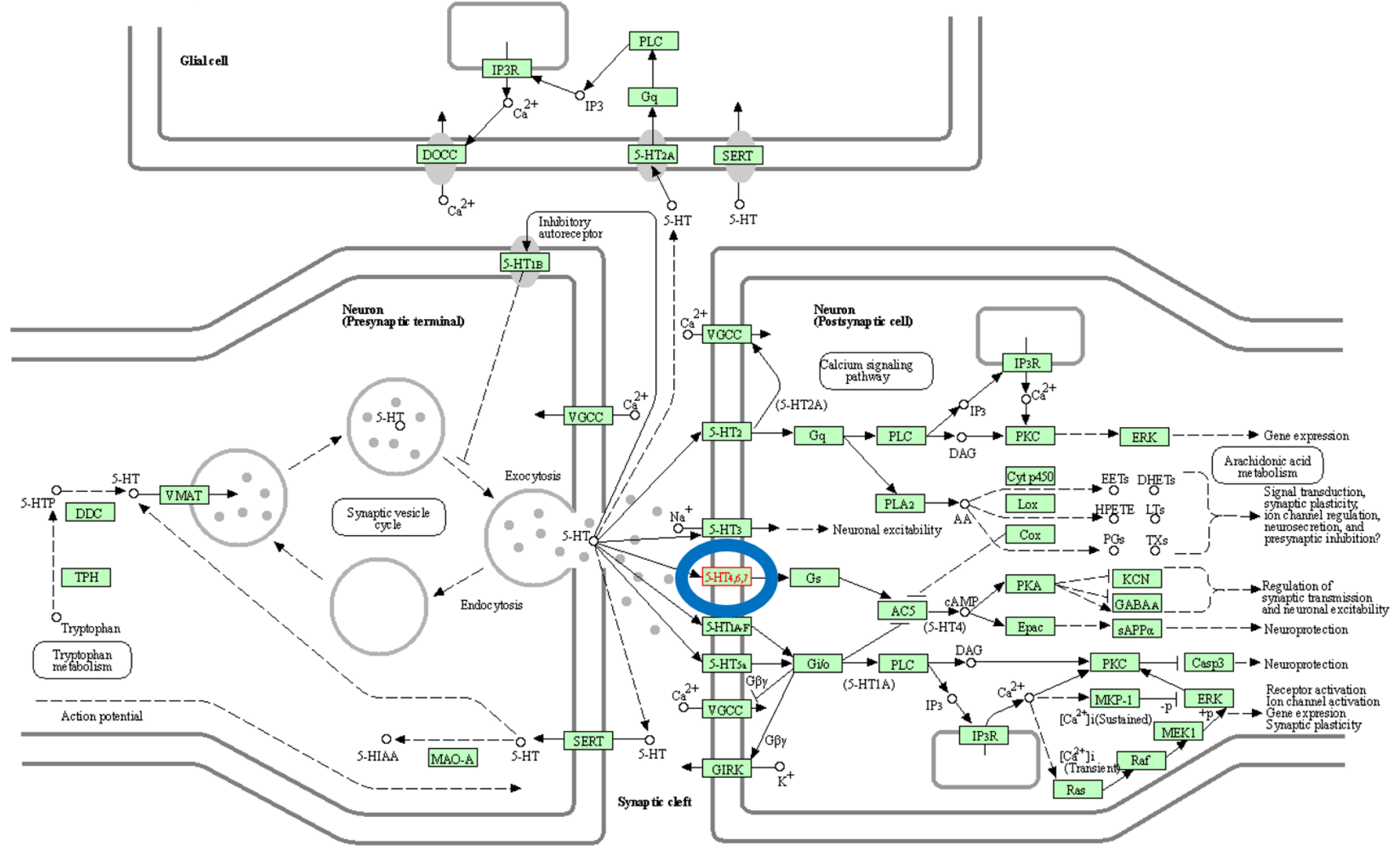


Figura 12. Sinapsis Serotoninérgica. Se muestra el único transcrito alterado con una regulación positiva (**círculo azul**). El receptor 5-HT7 está acoplado a una proteína Gs que activa a la AC5 promoviendo la formación de AMPc y la activación de la proteína cinasa A (PKA), el cual tiene acción negativa sobre GABAA, teniendo una acción de regulación de la transmisión sináptica y la excitabilidad neuronal tiene una acción positiva sobre Epac (Exchange protein directly activated by cAMP) ligada a PLC, activando la sAPP α (soluble peptide APP) y promover neuroprotección (**Fields D and Mitchell G, 2017**). **Mapa obtenido y modificado de KEGG.**

En el SNC el receptor 5-HT₇ de Serotonina se encuentra altamente expresado en el hipotálamo, tálamo, hipocampo y corteza cerebral (**Sarkisyan G and Hedlund PB, 2009; Leopoldo M et al., 2011**), donde acoplado a proteínas G participa en las sinapsis excitatorias (**Tokarski K et al., 2003**) jugando un papel muy importante en la consolidación de la memoria (**Meneses A, 2014**) y la plasticidad sináptica (**Stiedl O et al., 2015**).

En la rata *taiep* el receptor 5-HTR₇ presenta una regulación positiva (**Fig. 12**), aquí utiliza a la subunidad α_s de la proteína G (Gs) que activa a la AC, lo que aumenta el cAMP e induce la fosforilación de la PKA (**Zhou Z et al., 2016**). Mediante la activación de esta proteína puede activar o inhibir a GABA_A, regulando así de la transmisión sináptica y la excitabilidad neuronal (**Leidenheimer NJ, 2008**). También ejerce una acción positiva sobre Epac (Proteína de intercambio activada directamente por cAMP) (**Fields D and Mitchell, 2017**), activando al sAPP α (péptido soluble de la proteína precursora de amiloide Beta) participando así en la neuroprotección (**Pimenova A et al., 2014**).

En condiciones patológicas este receptor se ha asociado con el estrés, alteraciones del sueño, ritmo circadiano (**Glass et al., 2003; Roberts AJ et al., 2012**), esquizofrenia (**Nikiforuk A et al., 2013**), depresión y Alzheimer (**Solas M et al., 2021; Wirth A et al., 2017**). También se ha reportado que un aumento de este receptor acoplado a la proteína G₁₂, activa GTPasas de la familia Rho e incrementa la formación de espinas dendríticas, el alargamiento de neuritas (**Kvachnina E et al., 2005; Li YH et al., 2017**) y previene la apoptosis (**Soga F et al., 2007**).

En la rata *taiep*, **Eguibar y colaboradores en el 2009** reportan que agonistas de los receptores postsinápticos 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} modulan los episodios de inmovilidad inducidos por agarre reduciendo su frecuencia y duración (**Eguibar JR et al., 2009**). Sin embargo, no se han realizado estudios específicos del receptor 5-HT₇ en el mutante *taiep* o en el tallo y cerebelo de ratas jóvenes.

Conclusiones parciales

Con los resultados obtenidos, podemos sugerir que la regulación negativa del transcrito de mGluR3, causa un déficit en la regulación de la liberación de glutamato en la terminal presináptica de la neurona y del astrocito perisináptico, sugiriendo su participación en el incremento del tono glutamatérgico reportado en la rata *taiep* al mes de edad. Esta regulación en la neurona postsináptica podría contribuir a promover un efecto de plasticidad, pero sería disminuido por la regulación negativa de KA.

La regulación positiva de NMDAR2b sugiere que este receptor es un causante de la excitabilidad o neuroplasticidad de la neurona postsináptica.

La sobreexpresión del transcrito Gad2 podría sugerir el intento del medio por compensar el exceso del tono glutamatérgico de la hendidura sináptica presente en la rata *taiep*.

La regulación positiva del receptor 5HT7 promovería el incremento de GABA_A ante la respuesta de excitotoxicidad y un mecanismo compensatorio con una regulación negativa de GABA_C.

Conclusión

La regulación positiva y negativa de los transcritos de receptores para neurotransmisores de Glutamato, GABA y Serotonina, podrían estar afectando procesos como la plasticidad sináptica, excitabilidad, hiperpolarización y liberación de factores de crecimiento, lo que podría asociarse a la aparición de la incoordinación motora en la rata *taiep* al mes de edad.

Perspectivas

Como perspectivas planteamos los siguientes trabajos de investigación:

- ✚ Correlacionar los transcritos obtenidos con patologías como la Enfermedad de Parkinson, Alzheimer, Huntington y Ataxia espinocerebelar.
- ✚ Evaluar los niveles de expresión de los transcritos modificados.
- ✚ Evaluar los niveles proteicos de los receptores alterados.
- ✚ Realizar tinciones inmunohistoquímicas para conocer la ubicación de los receptores.
- ✚ Realizar cultivos celulares para conocer el tipo celular predominante en la patología.

Bibliografía

al-Dahan MI, Thalmann RH (1996), Progesterone regulates gamma-aminobutyric acid B (GABAB) receptors in the neocortex of female rats. *Brain Res* 727:40-48.

Barres BA, Koroshetz WJ, Swartz KJ, Chun LL, Corey DP (1990), Ion channel expression by white matter glia: the O-2A glial progenitor cell. *Neuron* 4:507-524.

Beaudet G, Bouet V, Jozet-Alves C, Schumann-Bard P, Dauphin F, Paizanis E, Boulouard M, Freret T (2014), Spatial memory deficit across aging: current insights of the role of 5-HT7 receptors. *Front Behav Neurosci* 8:448.

Berger JV, Dumont AO, Focant MC, Vergouts M, Sternotte A, Calas AG, Goursaud S, Hermans E (2012), Opposite regulation of metabotropic glutamate receptor 3 and metabotropic glutamate receptor 5 by inflammatory stimuli in cultured microglia and astrocytes. *Neuroscience* 205:29-38.

Bermejo VP, Blasco QM, Sanchez LA, Garcia MA (2011), *Medicine* 10(75):5065-68.

Bettler B, Kaupmann K, Mosbacher J, Gassmann M (2004), Molecular structure and physiological functions of GABA(B) receptors. *Physiol Rev* 84:835-867.

Boeck CR, Kroth EH, Bronzatto MJ, Vendite D (2005), Adenosine receptors co-operate with NMDA preconditioning to protect cerebellar granule cells against glutamate neurotoxicity. *Neuropharmacology* 49:17-24.

Bonfardin VD, Theodosis DT, Konnerth A, Oliet SH (2012), Kainate receptor-induced retrograde inhibition of glutamatergic transmission in vasopressin neurons. *J Neurosci* 32:1301-1310.

Bradley PB, Engel G, Feniuk W, Fozard JR, Humphrey PP, Middlemiss DN, Mylecharane EJ, Richardson BP, et al. (1986), Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology* 25:563-576.

Bratek-Gerej E, Bronisz A, Ziembowicz A, Salinska E (2021), Pretreatment with mGluR2 or mGluR3 Agonists Reduces Apoptosis Induced by Hypoxia-Ischemia in Neonatal Rat Brains. *Oxid Med Cell Longev* 2021:8848015.

Brickley SG and Mody I, (2012). Extrasynaptic GABA(A) receptors: their function in the CNS and implications for disease. *Neuron*, 73(1), 23–34.

Bruno V, Sureda FX, Storto M, Casabona G, Caruso A, Knopfel T, Kuhn R, Nicoletti F (1997), The neuroprotective activity of group-II metabotropic glutamate receptors requires new protein synthesis and involves a glial-neuronal signaling. *J Neurosci* 17:1891-1897.

Chung S, Weber F, Zhong P, Tan CL, Nguyen TN, Beier KT, Hormann N, Chang WC, et al. (2017), Identification of preoptic sleep neurons using retrograde labelling and gene profiling. *Nature* 545:477-481.

Ciccarelli R, Di Iorio P, Bruno V, Battaglia G, D'Alimonte I, D'Onofrio M, Nicoletti F, Caciagli F (1999), Activation of A (1) adenosine or mGlu3 metabotropic glutamate receptors enhances the release of nerve growth factor and S-100beta protein from cultured astrocytes. *Glia* 27:275-281.

Coghlan S, Horder J, Inkster B, Mendez MA, Murphy DG, Nutt DJ, (2012). GABA system dysfunction in autism and related disorders: from synapse to symptoms. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 36(9), 2044–2055.

Connolly CN, Krishek BJ, McDonald BJ, Smart TG, Moss SJ (1996), Assembly and cell surface expression of heteromeric and homomeric gamma-aminobutyric acid type A receptors. *J Biol Chem* 271:89-96.

Corti C, Battaglia G, Molinaro G, Riozzi B, Pittaluga A, Corsi M, Mugnaini M, Nicoletti F, et al. (2007), The use of knock-out mice unravels distinct roles for mGlu2 and mGlu3 metabotropic glutamate receptors in mechanisms of neurodegeneration/neuroprotection. *J Neurosci* 27:8297-8308.

Cozzi A, Attucci S, Peruginelli F, Marinozzi M, Luneia R, Pellicciari R, Moroni F (1997), Type 2 metabotropic glutamate (mGlu) receptors tonically inhibit transmitter release in rat caudate nucleus: in vivo studies with (2S,1'S,2'S,3'R)-2-(2'-carboxy-3'-phenylcyclopropyl) glycine, a new potent and selective antagonist. *Eur J Neurosci* 9:1350-1355.

D'Antoni S, Berretta A, Bonaccorso CM, Bruno V, Aronica E, Nicoletti F, Catania MV (2008), Metabotropic glutamate receptors in glial cells. *Neurochem Res* 33:2436-2443.

Delgado-Garcia JM (2001), [Structure and function of the cerebellum]. *Rev Neurol* 33:635-642.

Denter DG, Heck N, Riedemann T, White R, Kilb W, Luhmann HJ, (2010). GABAC receptors are functionally expressed in the intermediate zone and regulate radial migration in the embryonic mouse neocortex. *Neuroscience*, 167(1), 124–134.

Duncan ID, Bugiani M, Radcliff AB, Moran JJ, Lopez-Anido C, Duong P, August BK, Wolf NI, et al. (2017), A mutation in the *Tubb4a* gene leads to microtubule accumulation with hypomyelination and demyelination. *Ann Neurol* 81:690-702.

Duncan ID, Lunn KF, Holmgren B, Urba-Holmgren R, Brignolo-Holmes L (1992), The *taiep* rat: a myelin mutant with an associated oligodendrocyte microtubular defect. *J Neurocytol* 21:870-884.

Eguibar JR, Cortes MC, Ita ML (2009), Serotonergic-postsynaptic receptors modulate gripping-induced immobility episodes in male *taiep* rats. *Synapse* 63:737-744.

Eguibar JR, Cortes Mdel C, Lara-Lozano M (2010), Presynaptic dopaminergic agonists increased gripping-generated immobility episodes in the myelin-mutant *taiep* rat. *Neurosci Lett* 483:189-192.

Falcon-Moya R, Losada-Ruiz P, Rodriguez-Moreno A (2019), Kainate Receptor-Mediated Depression of Glutamate Release Involves Protein Kinase A in the Cerebellum. *Int J Mol Sci* 20.

Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH (1997), Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 120 (Pt 3):393-399.

Fields, DP & Mitchell GS (2017). Divergent cAMP signaling differentially regulates serotonin-induced spinal motor plasticity. *Neuropharmacology*, 113(Pt A), 82–88.

Flores-Soto ME, Chaparro-Huerta V, Escoto-Delgado M, Vazquez-Valls E, González-Castañeda RE, Beas-Zarate C (2012). Estructura y función de las subunidades del receptor a glutamato tipo NMDA. *Neurología*, 27(5): 301–310.

Fouillioux, C, Contreras, F, Rivera, M, Terán, A, & Velasco, M. (2004). "Receptores de glutamato: Implicaciones terapéuticas." *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica* 23: 99-108.

Franco-Perez J, Ballesteros-Zebadua P, Custodio V, Paz C (2012), [Major neurotransmitters involved in the regulation of sleep-wake cycle]. *Rev Invest Clin* 64:182-191.

Fuenzalida M, Aliaga E, Olivares V, Roncagliolo M, Bonansco C (2009), Developmental increase of asynchronic glutamate release from hippocampal synapses in mutant *taiep* rat. *Synapse* 63:502-509.

Fuller PI, Reddrop C, Rodger J, Bellingham MC, Phillips JK, (2006). Differential expression of the NMDA NR2B receptor subunit in motoneuron populations susceptible and resistant to amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroscience letters*, 399(1-2), 157–161.

Garduno-Robles A, Alata M, Piazza V, Cortes C, Eguibar JR, Pantano S, Hernandez VH (2020), MRI Features in a Rat Model of H-ABC Tubulinopathy. *Front Neurosci* 14:555.

Girardi ES, Canitrot J, Antonelli M, Gonzalez NN, Coirini H (2007), Differential expression of cerebellar metabotropic glutamate receptors mGLUR2/3 and mGLUR4a after the administration of a convulsant drug and the adenosine analogue cyclopentyladenosine. *Neurochem Res* 32:1120-1128.

Glass JD, Grossman GH, Farnbauch L, DiNardo L (2003), Midbrain raphe modulation of nonphotic circadian clock resetting and 5-HT release in the mammalian suprachiasmatic nucleus. *J Neurosci* 23:7451-7460.

Guillamon-Vivancos T, Gomez-Pinedo U, Matias-Guiu J (2015), Astrocytes in neurodegenerative diseases (I): function and molecular description. *Neurologia* 30:119-129.

Gustafson EL, Durkin MM, Bard JA, Zgombick J, Branchek TA (1996), A receptor autoradiographic and in situ hybridization analysis of the distribution of the 5-HT₇ receptor in rat brain. *Br J Pharmacol* 117:657-666.

Harvey VL, Duguid IC, Krasel C, Stephens GJ, (2006). Evidence that GABA rho subunits contribute to functional ionotropic GABA receptors in mouse cerebellar Purkinje cells. *The Journal of physiology*, 577(Pt 1), 127–139.

Hashimoto R, Hough C, Nakazawa T, Yamamoto T, Chuang DM (2002), Lithium protection against glutamate excitotoxicity in rat cerebral cortical neurons: involvement of NMDA receptor inhibition possibly by decreasing NR2B tyrosine phosphorylation. *Journal of neurochemistry*, 80(4), 589–597.

Hedlund PB, Sutcliffe JG (2004), Functional, molecular, and pharmacological advances in 5-HT₇ receptor research. *Trends Pharmacol Sci* 25:481-486.

Hibi M, Shimizu T (2012), Development of the cerebellum and cerebellar neural circuits. *Dev Neurobiol* 72:282-301.

Holmgren B, Urba-Holmgren R, Riboni L, Vega-SaenzdeMiera EC (1989), Sprague Dawley rat mutant with tremor, ataxia, tonic immobility episodes, epilepsy, and paralysis. *Lab Anim Sci* 39:226-228.

Ito M (2008), Control of mental activities by internal models in the cerebellum. *Nat Rev Neurosci* 9:304-313.

Jacobson KA, von Lubitz DK, Daly JW, Fredholm BB (1996), Adenosine receptor ligands: differences with acute versus chronic treatment. *Trends Pharmacol Sci* 17:108-113.

Jin LE, Wang M, Galvin VC, Lightbourne TC, Conn PJ, Arnsten AFT, Paspalas CD (2018), mGluR2 versus mGluR3 Metabotropic Glutamate Receptors in Primate Dorsolateral Prefrontal Cortex: Postsynaptic mGluR3 Strengthen Working Memory Networks. *Cereb Cortex* 28:974-987.

Jones SM, Palmer MJ, (2009). Activation of the tonic GABAC receptor current in retinal bipolar cell terminals by nonvesicular GABA release. *Journal of neurophysiology*, 102(2), 691–699.

Kakizaki, T., Ohshiro, T., Itakura, M., Konno, K., Watanabe, M., Mushiake, H., & Yanagawa, Y. (2021). Rats deficient in the GAD65 isoform exhibit epilepsy and premature lethality. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 35(2), e21224.

Kvachnina E, Liu G, Dityatev A, Renner U, Dumuis A, Richter DW, Dityateva G, Schachner M, Voyno-Yasenetskaya TA, Ponimaskin EG, (2005). 5-HT7 receptor is coupled to G alpha subunits of heterotrimeric G12-protein to regulate gene transcription and neuronal morphology. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(34), 7821–7830.

Koeppen AH (2005), The pathogenesis of spinocerebellar ataxia. *Cerebellum* 4:62-73.

Kohlschutter A (2013), Lysosomal leukodystrophies: Krabbe disease and metachromatic leukodystrophy. *Handb Clin Neurol* 113:1611-1618.

Leidenheimer NJ. (2008), Regulation of excitation by GABA(A) receptor internalization. *Results and problems in cell differentiation*, 44, 1–28. .

Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Fujihara K, Nakashima I, Weinshenker BG (2004), A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 364:2106-2112.

Leon-Chavez BA, Aguilar-Alonso P, Gonzalez-Barrios JA, Eguibar JR, Ugarte A, Brambila E, Ruiz-Arguelles A, Martinez-Fong D (2006), Increased nitric oxide levels and nitric oxide synthase isoform expression in the cerebellum of the *taiep* rat during its severe demyelination stage. *Brain Res* 1121:221-230.

Leon Chavez BA, Guevara J, Galindo S, Luna J, Ugarte A, Villegas O, Mena R, Eguibar JR, et al. (2001), Regional and temporal progression of reactive astrogliosis in the brain of the myelin mutant *taiep* rat. *Brain Res* 900:152-155.

Leopoldo M, Lacivita E, Berardi F, Perrone R, Hedlund PB (2011) Serotonin 5-HT 7 receptor agents: structure-activity relationships and potential therapeutic applications in central nervous system disorders. *Pharmacol Ther* 129:120–148.

Lewis DA, Fish KN, Arion D, Gonzalez-Burgos G (2011). Perisomatic inhibition and cortical circuit dysfunction in schizophrenia. *Curr Opin Neurobiol* 21(6):866–72.

Li YH, Han L, Wu KKL, Chan YS (2017) Activation of 5-HT7 receptors reverses NMDA-R-dependent LTD by activating PKA in medial vestibular neurons. *Neuropharmacology* 123:242–248.

Lindvall O, Bjorklund A (1974), The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. *Acta Physiol Scand Suppl* 412:1-48.

Lippiello P, Hoxha E, Volpicelli F, Lo Duca G, Tempia F, Miniaci MC (2015), Noradrenergic modulation of the parallel fiber-Purkinje cell synapse in mouse cerebellum. *Neuropharmacology* 89:33-42.

Llansola M, Sanchez-Perez A, Cauli O, Felipe V (2005), Modulation of NMDA receptors in the cerebellum. 1. Properties of the NMDA receptor that modulate its function. *Cerebellum* 4:154-161.

Lovinger DM (1991), Trans-1-aminocyclopentane-1,3-dicarboxylic acid (t-ACPD) decreases synaptic excitation in rat striatal slices through a presynaptic action. *Neurosci Lett* 129:17-21.

Lovinger DM, McCool BA (1995), Metabotropic glutamate receptor-mediated presynaptic depression at corticostriatal synapses involves mGluR2 or 3. *J Neurophysiol* 73:1076-1083.

Mahmoud S, Gharagozloo M, Simard C, Gris D (2019), Astrocytes Maintain Glutamate Homeostasis in the CNS by Controlling the Balance between Glutamate Uptake and Release. *Cells* 8.

Matarredona ER, Santiago M, Venero JL, Cano J, Machado A (2001), Group II metabotropic glutamate receptor activation protects striatal dopaminergic nerve terminals against MPP⁺-induced neurotoxicity along with brain-derived neurotrophic factor induction. *J Neurochem* 76:351-360.

Macdonald RL, Kang JQ, Gallagher MJ, (2010) Mutations in GABAA receptor subunits associated with genetic epilepsies. *J Physiol* 588:1861–1869.

McCarthy MM, Amateau SK, Mong JA (2002), Steroid modulation of astrocytes in the neonatal brain: implications for adult reproductive function. *Biol Reprod* 67:691-698.

Mejía C, García-Alcocer G, Berumen LC, Rosas-Arellano A, Miledi R, Martínez-Torres A, (2008). Expression of GABA ρ subunits during rat cerebellum development. *Neuroscience letters*, 432(1), 1–6.

Meneses A (2014) Memory formation and memory alterations: 5-HT6 and 5-HT7 receptors, novel alternative. *Rev Neurosci* 25:325–356.

Moller JR, Durr PG, Quarles RH, Duncan ID (1997), Biochemical analysis of myelin proteins in a novel neurological mutant: the *taiep* rat. *J Neurochem* 69:773-779.

Monti JM (2011), Serotonin control of sleep-wake behavior. *Sleep Med Rev* 15:269-281.

Neki A, Ohishi H, Kaneko T, Shigemoto R, Nakanishi S, Mizuno N (1996), Metabotropic glutamate receptors mGluR2 and mGluR5 are expressed in two non-overlapping populations of Golgi cells in the rat cerebellum. *Neuroscience* 75:815-826.

Newcombe J, Uddin A, Dove R, Patel B, Turski L, Nishizawa Y, Smith T (2008). Glutamate receptor expression in multiple sclerosis lesions. *Brain pathology*, 18:52–61.

Nikiforuk A, Kos T, Fijal K, Holuj M, Raza D, Popik P (2013) Effects of the selective 5-HT7 receptor antagonist SB-269970 and amisulpride on ketamine-induced schizophrenia-like deficits in rats. *PLoS One* 8:e66695.

Niswender CM, Conn PJ (2010), Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 50:295-322.

Orta-Salazar E, Cuellar-Lemus CA, Diaz-Cintra S, Feria-Velasco AI (2014), Cholinergic markers in the cortex and hippocampus of some animal species and their correlation to Alzheimer's disease. *Neurologia* 29:497-503.

Ouardouz M, Coderre E, Zamponi GW, Hameed S, Yin X, Trapp BD, Stys PK (2009), Glutamate receptors on myelinated spinal cord axons: II. AMPA and GluR5 receptors. *Ann Neurol* 65:160-166.

Peters A (1991), *The Fine Structure of the Nervous System. Neurons and Their Supporting Cells.*

Petritz A, Reyes-Haro D, Gonzalez-Gonzalez MA, Miledi R, Martinez-Torres A (2014), GABA ρ subunits confer a bicuculline-insensitive component to GFAP+ cells of cerebellum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:17522-17527.

Pimenova AA, Thathiah A, De Strooper B, Tesseur I (2014). Regulation of amyloid precursor protein processing by serotonin signaling. *PloS one*, 9(1), e87014.

Pin JP, Duvoisin R (1995), The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. *Neuropharmacology* 34:1-26.

Planas-Fontanez TM, Dreyfus CF, Saitta KS (2020), Reactive Astrocytes as Therapeutic Targets for Brain Degenerative Diseases: Roles Played by Metabotropic Glutamate Receptors. *Neurochem Res* 45:541-550.

Prineas JW, Barnard RO, Kwon EE, Sharer LR, Cho ES (1993), Multiple sclerosis: remyelination of nascent lesions. *Ann Neurol* 33:137-151.

Reik L, Jr. (1980), Disseminated vasculomyelinopathy: an immune complex disease. *Ann Neurol* 7:291-296.

Roberts AJ, Hedlund PB. (2012), The 5-HT7 receptor in learning and memory. *Hippocampus*, 22: 762-771.

Rodriguez F, Duran E, Gomez A, Ocana FM, Alvarez E, Jimenez-Moya F, Broglio C, Salas C (2005), Cognitive and emotional functions of the teleost fish cerebellum. *Brain Res Bull* 66:365-370.

Roncagliolo M, Benitez J, Eguibar JR (2000), Progressive deterioration of central components of auditory brainstem responses during postnatal development of the myelin mutant *taiep* rat. *Audiol Neurootol* 5:267-275.

Rozzo A, Armellin M, Franzot J, Chiaruttini C, Nistri A, Tongiorgi E, (2002), Expresión y localización de ARNm dendrítico de las subunidades rho1 y rho2 del receptor GABA_C en el cerebro y la médula espinal de rata en desarrollo. EUR. J. Neurosci 15:1747–1758.

Ruiz-Garcia R, Martinez-Hernandez E, Joubert B, Petit-Pedrol M, Pajaron-Boix E, Fernandez V, Salais L, Del Pozo M, et al. (2020), Paraneoplastic cerebellar ataxia and antibodies to metabotropic glutamate receptor 2. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm 7.

Saper C, Chou TC, Scammell T (2001). The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. Trends in neurosciences, 24:726–731

Sarkisyan G, Hedlund PB, (2009). The 5-HT₇ receptor is involved in allocentric spatial memory information processing. Behavioural brain research, 202(1), 26–31.

Savransky A (2018), [Demyelinating disorders]. Medicina (B Aires) 78 Suppl 2:75-81.

Scheffer IE., Harkin LA, Dibbens LM, Mulley JC, Berkovic SF, (2005). Neonatal epilepsy syndromes and generalized epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+). Epilepsia, 46 Suppl 10, 41–47.

Shaye H, Ishchenko A, Lam JH, Han GW, Xue L, Rondard P, Pin JP, Katritch V, et al. (2020), Structural basis of the activation of a metabotropic GABA receptor. Nature 584:298-303.

Shigemoto R, Kinoshita A, Wada E, Nomura S, Ohishi H, Takada M, Flor PJ, Neki A, et al. (1997), Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. J Neurosci 17:7503-7522.

Shigemoto R, Kulik A, Roberts JD, Ohishi H, Nusser Z, Kaneko T, Somogyi P (1996), Target-cell-specific concentration of a metabotropic glutamate receptor in the presynaptic active zone. Nature 381:523-525.

Siegel A, Roeling TA, Gregg TR, Kruk MR (1999), Neuropharmacology of brain-stimulation-evoked aggression. Neurosci Biobehav Rev 23:359-389.

Smith A, Storti S, Lukose R, Kulesza RJ, Jr. (2019), Structural and Functional Aberrations of the Auditory Brainstem in Autism Spectrum Disorder. J Am Osteopath Assoc 119:41-50.

Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, Paul S, Moran T, Choi EY, et al. (2005) Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. Nat Neurosci 8:1051—8

Soga F, Katoh N, Inoue T, Kishimoto S (2007) Serotonin activates human monocytes and prevents apoptosis. The Journal of investigative dermatology 127:1947–1955.

Solas M, Van Dam D, Janssens J, Ocariz U, Vermeiren Y, De Deyn PP, Ramirez MJ, (2021). 5-HT₇ receptors in Alzheimer's disease. Neurochemistry international, 150, 105185.

Soto-Rodriguez G, (2012), Nitric oxide production is associated to increased lipoperoxidation and active caspase-3 in demyelinated brain regions of the *taiep* rat. Scientific Research Publishing 3:695-704.

Soto-Rodriguez G, Gonzalez-Barrios JA, Martinez-Fong D, Blanco-Alvarez VM, Eguibar JR, Ugarte A, Martinez-Perez F, Brambila E, et al. (2015), Analysis of chemokines and receptors expression profile in the myelin mutant *taiep* rat. *Oxid Med Cell Longev* 2015:397310.

Steinbusch, HW, Nieuwenhuys R, Verhofstad A, Van der Kooy, D (1981). The nucleus raphe dorsalis of the rat and its projection upon the caudatoputamen. A combined cytoarchitectonic, immunohistochemical and retrograde transport study. *Journal de physiologie*, 157:174.

Stiedl O, Pappa E, Konradsson-Geuken A, Ogren SO (2015) The role of the serotonin receptor subtypes 5-HT1A and 5-HT7 and its interaction in emotional learning and memory. *Front Pharmacol* 6:162.

Stoodley CJ (2016), The Cerebellum and Neurodevelopmental Disorders. *Cerebellum* 15:34-37.

Ramón Suárez Gustavo (2008). Descripción del Tallo Cerebral. *Trat Biol Colombia* 11:19

Sun W, McConnell E, Pare JF, Xu Q, Chen M, Peng W, Lovatt D, Han X, et al. (2013), Glutamate-dependent neuroglial calcium signaling differs between young and adult brain. *Science* 339:197-200.

Tenembaum SN (2017), Pediatric Multiple Sclerosis: Distinguishing Clinical and MR Imaging Features. *Neuroimaging Clin N Am* 27:229-250.

Tokarski K, Zahorodna A, Bobula B, Hess G (2003) 5-HT7 receptors increase the excitability of rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Brain Res* 993:230–234

Toro J, Vallejo E, (1994). Enfermedades desmielinizantes y dismielinizantes. *Tratado de Neurología*. Santa Fe de Bogotá. Ediciones Lerner; 189-203

Vargas-Castro V, Gomez-Diaz R, Blanco-Alvarez VM, Tomas-Sanchez C, Gonzalez-Vazquez A, Aguilar-Peralta AK, Gonzalez-Barrios JA, Martinez-Fong D, et al. (2021), Long-term taurine administration improves motor skills in a tubulinopathy rat model by decreasing oxidative stress and promoting myelination. *Mol Cell Neurosci* 115:103643.

Vogel DY, Vereyken EJ, Glim JE, Heijnen PD, Moeton M, van der Valk P, Amor S, Teunissen CE, et al. (2013), Macrophages in inflammatory multiple sclerosis lesions have an intermediate activation status. *J Neuroinflammation* 10:35.

Watanabe M, Maemura K, Kanbara K, Tamayama T, Hayasaki H (2002), GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. *Int Rev Cytol* 213:1-47.

Wirth A, Holst K, Ponimaskin E, (2017). How serotonin receptors regulate morphogenic signalling in neurons. *Progress in neurobiology*, 151, 35–56.

Wisden W, Yu X, Franks NP (2019), GABA Receptors and the Pharmacology of Sleep. *Handb Exp Pharmacol* 253:279-304.

Zhang D, Pan ZH, Zhang X, Brideau AD, Lipton SA, (1995). Cloning of a gamma-aminobutyric acid type C receptor subunit in rat retina with a methionine residue critical for picrotoxinin channel block. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(25), 11756–11760.

Zhou L, Tang X, Li X, Bai Y, Buxbaum JN, Chen G, (2019). Identification of transthyretin as a novel interacting partner for the δ subunit of GABAA receptors. *PloS one*, 14(1), e0210094.

Zhou Z, Tanaka KF, Matsunaga S, Iseki M, Watanabe M, Matsuki N, Ikegaya Y, Koyama R (2016). Photoactivated adenylyl cyclase (PAC) reveals novel mechanisms underlying cAMP-dependent axonal morphogenesis. *Scientific reports*, 5, 19679.

Zinni M, Mairesse J, Pansiot J, Fazio F, Iacovelli L, Antenucci N, Orlando R, Nicoletti F, Vaiman D, Baud O (2021). mGlu3 receptor regulates microglial cell reactivity in neonatal rats. *Journal of neuroinflammation*, 18, 1:13.