



**UNIVERSIDAD POPULAR AUTÓNOMA DEL ESTADO DE PUEBLA**

**Posgrado**

Doctorado en Ciencias de la Ingeniería Biomédica

Nombre de la tesis:

**Análisis de componentes activos del hongo *Hericium Erinaceus* basado en la teoría de coeficientes de transferencia de electrones de química cuántica y su relación con las enfermedades neurológicas.**

Para obtener el grado de:

**Doctor en Ciencias de la Ingeniería Biomédica**

Presenta

**M.C. Manuel Aparicio Razo**

Director del proyecto

**Dr. Manuel González Pérez**

Profesor investigador

UPAEP

H. Puebla de Zaragoza, Puebla, México

Diciembre 2021



**UPAEP – Secretaría General**

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyła**

**Tesis Digitales Restricciones de uso:**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Tabla de contenido

<b>Lista de abreviaturas</b> .....	<b>4</b>
<b>1.- RESUMEN</b> .....	<b>6</b>
<b>2.- INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>6</b>
<b>3.- MARCO TEORICO</b> .....	<b>8</b>
3.1 Sistema nervioso protegido .....	8
3.2 Regeneración del sistema nervioso .....	10
3.2.1 Regeneración del sistema nervioso periférico .....	10
3.4.2 Regeneración del sistema nervioso central.....	11
3.4.3 Plasticidad neuronal .....	12
3.4.4. Plasticidad Estructural .....	12
3.4.5 Neurogénesis adulta.....	14
3.4.6 Nuevas neuronas en el cerebro adulto.....	14
3.4.6.1 Neurogénesis en el hipocampo adulto .....	15
3.4.6.2 Neurogénesis en otras regiones del sistema nervioso adulto .....	15
3.4.6.3 La neurogénesis con el envejecimiento.....	16
<b>4.- ESTADO DEL ARTE</b> .....	<b>16</b>
4.1. Terapias para promover la regeneración y plasticidad en el sistema nervioso .....	16
4.1.1 La plasticidad neuronal con fármacos.....	17
<b>5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.</b> .....	<b>19</b>
5.1 Neurotrofinas.....	19
5.2 Factor de crecimiento nervioso .....	20
5.3 Hongo Hericium Erinaceus .....	21
5.4 Composición molecular del Hericium Erinaceus .....	26
5.5 Objetivos .....	28
5.5.1 Objetivo general: .....	28
5.5.2 Objetivos particulares: .....	28
<b>6. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>28</b>
6.1 Alcances y limitaciones .....	33
<b>7. METODOLOGÍA A UTILIZAR Y PRINCIPIOS BIOQUÍMICOS</b> .....	<b>33</b>
7.1 Teoría cuántica de coeficientes de transferencia de electrones.....	33
7.1.1 Fuerzas de Van der Waals. ....	34
7.1.2 Metodología de la teoría. ....	34
7.1.3 Pozos cuánticos .....	35
7.2 Oxidación y reducción molecular .....	36
7.3 Metodología: Análisis cuántico de las moléculas del hongo Hericium Erinaceus .....	38
<b>8.- ANÁLISIS DE DATOS DE SIMULACIONES CUÁNTICAS</b> .....	<b>39</b>
8.1 Moléculas presentes en el hongo Hericium Erinaceus .....	39
8.2 Análisis de familia de neurotrofinas homologas .....	45
8.2.1 Factor de crecimiento Nervioso .....	46

8.2.2 Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro.....	49
8.2.3 Neurotrofina 3.....	51
8.2.3 Neurotrofina 4.....	54
<b>9.- ANÁLISIS PÉPTIDOS A TRAVÉS DE LA TCTEQC .....</b>	<b>57</b>
9.1 Los aminoácidos y los puentes de hidrógeno .....	57
9.2 Los neurotransmisores principales en el SNC .....	59
9.3. Dipéptidos.....	60
9.4. Tripéptidos.....	64
9.5. Tetrapéptidos.....	66
<b>10.- MECANISMOS MOLECULARES PROPUESTOS BASADOS EN RESULTADOS DEL ANÁLISIS TCTEQC PARA BIOMOLÉCULAS BIOACTIVAS DE HONGO HERICIUM ERINACEUS. ....</b>	<b>70</b>
10.1 Factor de crecimiento nervioso y aminoácidos (Asp, Ser y Thr) .....	70
10.1.1 Serina.....	70
10.1.2 Ácido Aspártico.....	71
10.1.3 Treonina .....	73
10.2 Neurotransmisores: óxido nítrico y ácido glutámico en el sistema nervioso.....	74
10.2.1 Óxido nítrico .....	74
10.2.1.1 Óxido nítrico y neurotransmisión .....	76
10.2.1.2 Óxido nítrico y neurotrofinas.....	78
10.2.1.2 Óxido nítrico y efectos tóxicos.....	80
10.2.2 Ácido Glutámico .....	81
<b>11.- MINERALES EN EL SISTEMA NERVIOSO .....</b>	<b>84</b>
11.1 Sodio .....	85
11.2 Potasio .....	85
11.3 Fosforo .....	86
11.4 Zinc.....	86
11.5 Magnesio.....	86
11.6 Cobre.....	87
11.7 Manganeso.....	87
11.8 Calcio.....	88
<b>12.- CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS .....</b>	<b>88</b>
12.1 Conclusiones .....	88
12.2 Trabajos a futuro.....	94
<b>13.- BIBLOGRAFÍA .....</b>	<b>95</b>

## Lista de abreviaturas

<b>GABA</b>	Ácido $\gamma$ -Aminobutírico
<b>ADN</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>Ala/a/A</b>	Alanina
<b>ALS</b>	Esclerosis Lateral Amiotrófica
<b>AMPA</b>	Receptor del Ácido $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
<b>Arg/r/R</b>	Arginina
<b>ARN</b>	Ácido Ribonucleico
<b>Asn/n/N</b>	Asparagina
<b>Asp/d/D</b>	Ácido Aspártico
<b>ATP</b>	Adenosín Trifosfato o Trifosfato de Adenosina
<b>BDNF</b>	Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro
<b>BG</b>	BandGap
<b>BoNT</b>	Neurotoxinas Botulínicas
<b>CaM</b>	Calmodulina
<b>COOH</b>	Grupo Carboxilo
<b>CTP</b>	Tetrapéptidos Lineales y Cíclicos
<b>Cys/c/C</b>	Cisteína
<b>EBP</b>	Exo-Biopolímero
<b>eNOS</b>	Sintasa de Óxido Nítrico Endotelial
<b>EP</b>	Potencial Electrostático
<b>ETC</b>	Coeficiente de Transferencia de Electrones
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Ión Ferroso
<b>FGF2</b>	Factor de Crecimiento de Fibroblastos tipo 2
<b>Gln/q/Q</b>	Glutamina
<b>Glu/e/E</b>	Ácido Glutámico
<b>Gly/g/G</b>	Glicina
<b>GMPC</b>	Guanosina Monofosfato Cíclico
<b>GMPc</b>	Guanosín Monofosfato Cíclico
<b>GnRH</b>	Hormona Liberadora de Gonadotropina
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Agua
<b>HE</b>	Heridium Erinaceus
<b>His/h/H</b>	Histidina
<b>HOMO</b>	Highest Occupied Molecular Orbital u Orbital Molecular ocupado más alto
<b>IGF-1</b>	Factor de Crecimiento de Insulina tipo 1
<b>Ile/i/I</b>	Isoleucina
<b>IMSS</b>	Instituto Mexicano del Seguro Social
<b>iNOS</b>	Sintasa de Óxido Nítrico Inducible o de macrófagos
<b>JNKs</b>	Proteína Quinasas Jun n-Termina
<b>Leu/l/L</b>	Leucina

<b>LHRH</b>	Hormona Liberadora de Hormona Luteinizante
<b>LUMO</b>	Lowest Unoccupied Molecular Orbital u Orbital Molecular vacante más bajo
<b>Lys/k/K</b>	Lisina
<b>Met/m/M</b>	Metionina
<b>NBCI</b>	National Center for Biotechnology Information
<b>NGF</b>	Nerve Growth Factor
<b>NH<sub>2</sub></b>	Grupos Amino
<b>NMDA</b>	Ácido N-Metil-D-Aspártico
<b>nNOS</b>	Sintasa de Óxido Nítrico Neuronal
<b>NO</b>	Óxido Nítrico
<b>NOS</b>	Sintasa de Óxido Nítrico
<b>NT-3</b>	Neurotrofina-3
<b>NT-4</b>	Neurotrofina-4
<b>NT-6</b>	Neurotrofina-6
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Superóxido
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>Phe/f/F</b>	Fenilalanina
<b>PKC</b>	Proteína Quinasa C
<b>Pro/p/P</b>	Prolina
<b>SE-PM3</b>	Método Semi-Empírico de Química Cuántica
<b>Ser/s/S</b>	Serina
<b>SNC</b>	Sistema Nervioso Central
<b>SNP</b>	Sistema Nervioso Periférico
<b>TCTEQC</b>	Teoría de Coeficientes de Transferencia de Electrones de Química Cuántica
<b>Thr/t/T</b>	Treonina
<b>Trk A</b>	Tropomyosin receptor kinase A
<b>Trk B</b>	Tropomyosin receptor kinase B
<b>Trk C</b>	Tropomyosin receptor kinase C
<b>Trp/w/W</b>	Triptofano
<b>Tyr/y/Y</b>	Tirosina
<b>Val/v/V</b>	Valina
<b>VEGF</b>	Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular
<b>VWF</b>	Fuerzas de Van der Waals

## 1.- RESUMEN

*Este trabajo de tesis se enfoca en el análisis de los componentes bioactivos de hongo Hericium Erinaceus por medio de simulaciones in silico, utilizando la teoría de coeficientes de electrones de química cuántica. Las moléculas que integran este hongo presentan propiedades neurotróficas capaces de promover la supervivencia, crecimiento y diferenciación en neuronas y células gliales en diferentes trastornos neurológicos en el sistema nervioso. Sin embargo, los mecanismos de dichos procesos aun son desconocidos por la comunidad. El objetivo de este trabajo se centra en encontrar que aminoácidos y neurotransmisores están involucrados en los procesos de restauración y reorganización neuronal y dar una posible explicación del origen de los mismos. Dentro de los resultados se encontraron una serie de oligopéptidos y neurotransmisores con una alta probabilidad de interacción y que pueden estar implicados en los procesos de plasticidad y neurogénesis que se correlacionan con las neurotrofinas.*

## 2.- INTRODUCCIÓN

Los trastornos neurológicos incluyen varios padecimientos entre los que destacan, por su alta prevalencia y costo social, las enfermedades neurodegenerativas que incluye patologías como la de Alzheimer, demencia, Parkinson, Huntington, esclerosis múltiple, accidentes cerebrovasculares entre otras (Jensen, 2013).

Estos trastornos se caracterizan por un síndrome clínico definido, etiológicamente, en la mayoría de los casos aún desconocida, tienen como factor de riesgo las edades avanzadas y se manifiestan con un curso progresivo y crónico. El marcador patológico común para estos trastornos es la pérdida de grupos de neuronas específicas, por ejemplo: la degeneración de las neuronas dopaminérgicas nigrales es un factor clave en la enfermedad de Parkinson; en la enfermedad de Alzheimer, lo es la pérdida degenerativa de neuronas septohipocampales, serotoninérgicas y corticales y en la enfermedad de Huntington, la muerte de las neuronas gabaérgicas de proyección del estriado.

Las neurotrofinas son proteínas que promueven la diferenciación, crecimiento y supervivencia de muchas poblaciones de neuronas periféricas y del sistema nervioso central durante el desarrollo y la vida adulta. El factor de crecimiento nervioso, es el miembro más conocido y estudiado de dicha familia, compuesta además, por el factor de crecimiento derivado del cerebro y las neurotrofinas 3 y 4 (Huang, 2001).

En las últimas décadas, se han realizado avances significativos en el conocimiento del papel biológico de estos factores, su caracterización molecular y regulación, así como sus mecanismos de señalización; sin embargo, poco se conoce sobre el papel que representan los factores neurotróficos en las enfermedades neurológicas.

Los resultados de investigaciones han demostrado que existen una disminución en el contenido del factor de crecimiento nervioso en las enfermedades neurológicas en general y evidencian que los procesos neurodegenerativos se acompañan de cambios en su contenido y que estos varían de acuerdo con el estado de la enfermedad (Pedré., 2004).

Este tipo de trastornos, son enfermedades crónicas que tienden a generar una gran discapacidad física, intelectual y social y, por lo tanto, dependencia y disminución de la calidad de vida. Asimismo producen una significativa repercusión laboral y alto gasto económico por la atención social y sanitaria que precisan.

Si consideramos que la esperanza de vida se ha incrementado, sugiere que en los próximos años las enfermedades neurológicas afectarán cada vez más a un mayor número de personas, provocando discapacidad, dependencia, alteraciones psicosociales, ansiedad, pérdida de las redes de apoyo familiar, desgaste económico y reducción de las limitaciones físicas o psicológicas. Todo ello obliga a plantear estrategias y medidas urgentes para evitar el colapso de las instituciones de salud en México y el mundo.

Por otra parte, se sabe que por milenios las civilizaciones de la humanidad han basado la prevención y cura de las enfermedades haciendo uso de diversas plantas y hongos para diversas patologías. En el caso de los hongos, la hazaña mejor documentada del efecto medicinal se remonta a 1928, cuando Alexander Fleming descubrió la Penicilina a partir de experimentos de cultivos de bacterias, las cuales de manera inusual comenzaban a morir en presencia de un hongo. Con este descubrimiento nacieron los antibióticos que sin más han curado seres humanos de diversos males y enfermedades a lo largo y ancho del planeta.

Con el advenimiento de los antibióticos, los seres humanos se han abierto camino a la exploración y posibilidad de aprovechar las características tan peculiares que poseen los hongos. Los hongos son organismos que presentan cualidades únicas entre todos los seres vivos. Estas capacidades pueden ser empleadas para favorecer a los organismos vivos y a los ecosistemas. Han evolucionado conjuntamente con el desarrollo de los seres humanos y actualmente son

utilizados en diversas áreas como alimento, elementos transformadores de los mismos y cura de enfermedades. Indiscutiblemente, la importancia de los hongos en la biosfera se debe a la capacidad de descomposición y reciclaje de materia orgánica, regular la liberación de nutrientes y esencialmente su papel en la supervivencia de plantas y animales.

El efecto beneficioso de los hongos no solo se limita en combatir a los microorganismos, sino también a mejorar y fortalecer al sistema inmune, digestivo y nervioso debido a la presencia de biomoléculas capaces de atravesar la barrera hematoencefálica. Algunas especies de hongos que presentan estas características son las especies de hongos: Reishi, Cordyceps, Chaga, melena de león, cola de pavo entre otros.

Dentro de esta familia de hongos, la melena de león o *Hericiium Erinaceus* es el que presenta mejores atributos para prevenir y combatir la neuroregeneración en el sistema nervioso, ya que diversos estudios in vivo y in vitro han demostrado que sus biomoléculas son capaces de promover al factor de crecimiento nervioso.

El interés de este trabajo de tesis se centra en el estudio de las principales biomoléculas presentes en el hongo *Hericiium Erinaceus* a través de la teoría de coeficientes de transferencia de electrones de química cuántica para detectar que cadena de aminoácidos y neurotransmisores son los responsables de promover al factor de crecimiento nervioso y la neurogénesis del sistema nervioso central. Por último es importante mencionar, que actualmente no se conoce en la comunidad científica el mecanismo bioquímico de cómo se promueve dicha neuroregeneración, por ello el interés de analizar las biomoléculas del hongo *Hericiium Erinaceus* y las principales proteínas que promueven la diferenciación, crecimiento y supervivencia de las neuronas.

### 3.- MARCO TEORICO

#### 3.1 Sistema nervioso protegido

La complejidad del sistema nervioso es enorme. En particular, el cerebro humano que es el culmen de este sistema, un intrincado laberinto microscópico formado por cien mil millones de neuronas que se interrelacionan a través de centenares de billones de conexiones.

Todos el engranaje microscópico descrito de movimiento de iones, neurotransmisores, receptores y corriente eléctrica que pasan a gran velocidad por la membrana de las neuronas tienen que estar rígidamente controlados, al tiempo que protegido de interferencias externas. Además, el papel capital del sistema nervioso en el funcionamiento del cuerpo también hace que necesite una protección externa.

Por esa senda ha marchado la evolución, de manera que el tejido nervioso en un sistema asilado del resto del organismo en muchos sentidos. Por otro lado, el paso de moléculas hacia el sistema nervioso está fuertemente regulado por la barrera sangre-cerebro, o barrera hematoencefálica, un puesto fronterizo que selecciona de manera meticulosa qué sustancia puede entrar. La mayor parte de las que pueden pasar de la sangre a las células del sistema nervioso lo hacen a través de transportes especializados, que son proteína que reconocen un determinado compuesto y lo trasladan; por ejemplo, la glucosa, que es el combustible principal de las neuronas. La poca permeabilidad de la barrera y el requisito del transportador específico son uno de los motivos por lo que es tan difícil producir fármacos efectivos para el sistema nervioso. Por consiguiente uno de los retos de la industria farmacéutica es diseñar y desarrollar medicamentos que pueden pasar esa barrera y actuar en el sistema nervioso (Escobar, 2008).

Por otro lado, la protección del tejido nervioso es patente también en el nivel mecánico: el sistema nervioso central, constituido por encéfalo y la médula espinal, está fuertemente encapsulado dentro del cráneo y la columna vertebral. El encéfalo es parte del sistema nervioso que está encerrado en el cráneo y contiene regiones tan importantes como la corteza cerebral, el cerebelo o tronco cerebral. Por lo que respecta a la médula espinal, se trata de un conjunto de neuronas y axones que desde la parte caudal del encéfalo descienden por un canal formado por las vértebras.

La gran relevancia de las enfermedades del sistema nervioso radica, en buena parte, en que todavía no se tiene respuestas terapéuticas efectivas para muchas de ellas, en muchos casos no existe tratamiento, ya que se desconoce las causas de las mismas. No obstante, desde hace años se sabe que muchos de los trastornos del sistema nervioso se produce la desorganización de las neuronas y sus conexiones, o bien una organización aberrante, otras veces, lo que ocurre es que se deterioran o mueren las células del cerebro. (Jordán, 2003)

Una de las ramas de investigación de la neurociencia se centra en encontrar vías para revertir la desorganización celular o para regenerar el tejido nervioso. El hecho esperanzador es que, en gran medida, se encuentren nuevas vías para reconstruir el propio el tejido nervioso y producir nuevas conexiones que sustituyan a las pérdidas o para reorganizar las redes neuronales alteradas por una determinada enfermedad, es decir, en la plasticidad neuronal.

### 3.2 Regeneración del sistema nervioso

La regeneración de las células nerviosas implica la reparación o el repuesto de las células nerviosas dañadas. Mientras que organismos más inferiores poseen una capacidad extensa para la regeneración de los nervios, organismos más altos, incluyendo seres humanos, han limitado capacidad de regenerar las células nerviosas.

#### 3.2.1 Regeneración del sistema nervioso periférico

Los axones del sistema nervioso periférico se organizan en el interior de los nervios. Estos nervios están rodeados por tejido conjuntivo, que les sirve de protección y de medios por el que discurren vasos sanguíneos. A su vez, cada axón está envuelto por otra fina capa de tejido conjuntivo: el endoneuro, que también rodea a las células de Schwann, y que tienen una fina lámina de matriz extracelular especializadas: la lámina basal. La lámina basal está constituida por un entramado de moléculas de aspecto fibroso, como el colágeno tipo IV, laminina y los proteoglicanos que desempeñan un papel muy importante en el proceso de regeneración axónica del sistema nervioso periférico.

La sorprendente capacidad regenerativa del sistema nervioso periférico se debe, fundamentalmente, al papel que desempeña dos tipos de células: las células de Schwann y los macrófagos, estos últimos procedentes de la circulación sanguínea. Tanto las células de Schwann como los macrófagos secretan factores que promueven la regeneración; es decir, proporcionan el sustrato adecuado para que crezcan los axones y lleguen de nuevo a su diana (Hall, 1989).

Entre los agentes secretados se encuentran los factores neurotróficos: es decir, moléculas que participan en la guía axónica durante el desarrollo y elementos de la matriz extracelular, como el

colágeno y la laminina. Estas dos últimas moléculas son fundamentales, ya que forman entramados que constituyen micro túneles por los que pueden discurrir los axones regenerantes.

Con frecuencia, aunque algunas de las conexiones regeneradas sean erróneas: éstas se pueden modificar a través de entrenamiento para mejorar el control que ejercen sobre las neuronas motoras; estas modificaciones se hacen, probablemente, mediante mecanismos de plasticidad neuronal que se dan en el sistema nervioso central.

### 3.4.2 Regeneración del sistema nervioso central

La mayor parte de los axones procedentes de somas neuronales del sistema nervioso central no salen de él. Solo los axones de las neuronas motoras de la médula espinal y del tronco cerebral discurren por el sistema nervioso periférico y, por tanto, se consideran parte de este sistema. Una neurona motora, o moto neurona, es una neurona que contacta con un músculo e induce su contracción.

El segmento inicial del axón discurre por el interior de la médula, que forma parte del sistema nervioso central, pero, tras recorrer una distancia corta, sale de ella y entra en un nervio que llega a la mano, de manera que ha pasado a formar parte del sistema nervioso periférico. Como se ha visto, esa parte distal tiene capacidad regenerativa incluso en individuos adultos. Ahora bien, si la lesión del axón se produce en el segmento proximal, el que está dentro del sistema nervioso central, la probabilidad de regeneración es muy escasa.

Se ha avanzado mucho en el conocimiento de las barreras que impiden la regeneración y se han desarrollado tratamientos en fase experimental que pueden atravesar la barrera hematoencefálica y estimular el crecimiento de nuevo de los axones, Algunos de esos tratamientos se inspiran en neuronas que son excepciones a la limitación de la regeneración axónica en el sistema nervioso central. Las principales de ellas son las que generan los axones del nervio olfativo, las neuronas que usan como neurotransmisor la serotonina y las que usan neurotransmisores similares en el hipotálamo. Todavía no se conoce la causa de estas peculiares capacidades regenerativas pero son el sujeto de diversas investigaciones actualmente (Sanchez, 2016).

La identificación de los factores que impiden la regeneración de los axones en el sistema nervioso central y la elaboración de estrategias que la promuevan han sido dos constantes en la

investigación neurobiológica de las últimas décadas. Los principales factores intrínsecos limitantes de la regeneración axónica en el sistema nervioso central son los efectos de la lesión en el propio axón, la inflamación en la zona de la lesión, la cicatriz glial, la mielina y la edad (Sekine, 2018).

### 3.4.3 Plasticidad neuronal

Cuando se pensaba que el sistema nervioso era una organización estática y de estas conexiones entre las neuronas eran fijas, se comparaba con un ordenador. Ahora resulta evidente que funciona y está construida de una manera esencialmente distinta. Los circuitos de un ordenador tiene un número de conexiones fijas y, además esas conexiones solo pueden estar abiertas o cerradas; es decir, permiten o impiden el flujo de señales eléctricas, sin más posibilidades. Sin embargo, las conexiones de las neuronas son sustancialmente diferentes: cada uno de los elementos que lo conforman las sinapsis es susceptible de ser modificado y tales modificaciones aumentan o disminuyen la eficiencia de la sinapsis, de manera de que no son meras respuestas de encendido y apagado como los de un ordenador.

Las investigaciones de los últimos siglos han demostrado, además, que no solo las neuronas pueden modificar la efectividad de sus sinapsis, sino que pueden ganar o perder conexiones nerviosas e, incluso, incorporar nuevas neuronas en el cerebro adulto. Esta plasticidad se puede organizar en dos categorías. Cuando lo que está sujeto a cambio son moléculas que participan en los contactos sinápticos, se habla de plasticidad molecular o sináptica. Si lo que cambia es la estructura de las neuronas, se habla de plasticidad estructural (Johnston, 2004).

### 3.4.4. Plasticidad Estructural

La plasticidad estructural es la que afecta a la morfología de las neuronas y, por tanto, a su capacidad de establecer conexiones sinápticas y destruirlas. Este tipo de modelación, pueden expandir o retraer las dendritas y con ello aumentar o disminuir la superficie disponible para establecer sinapsis. También pueden crear o eliminar espinas dendríticas, unos apéndices en forma de seta que son compartimentos especializados de las neuronas receptoras en los que la

transmisión sináptica es particularmente eficiente. Del mismo modo, las neuronas son capaces de generar o destruir estructuras emisoras de señales nerviosas: Los botones sinápticos, que son las estructuras en el extremo del axón donde se acumulan y descargan las vesículas sinápticas y, por tanto, donde se producen la conversión de la señal eléctrica en una señal química. Por consiguiente, si aumenta el número de botones sinápticos, se incrementará el número de sinapsis establecidas por la neurona emisora: y si disminuye la cantidad de botones, serán menos las sinapsis, figura 1.

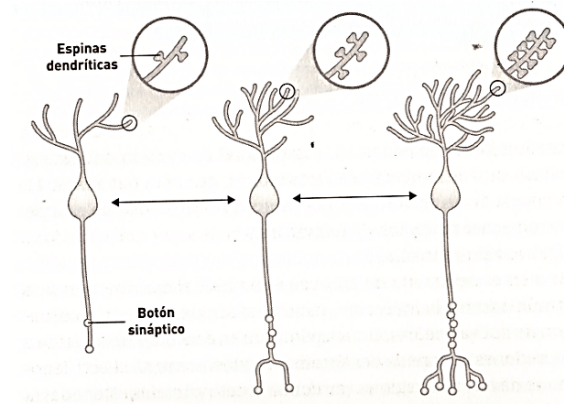


Figura 1. La expansión y retracción de las dendritas (Nache, 2017).

Esta capacidad de cambiar la estructura y conectividad de las neuronas pueden explicar fenómenos como el intercambio de funciones, como ocurre en las neuronas de la corteza somatosensorial, la zona que recibe la información táctil de la piel de todo el cuerpo.

Otro tipo de plasticidad estructural con características particulares, es la neurogénesis adulta, que consiste en la generación e incorporación de nuevas neuronas al cerebro cuando ya ha acabado el desarrollo.

Si bien el desarrollo de muchas regiones del sistema nervioso continúa durante la infancia e, incluso, la adolescencia, la incorporación de nuevas neuronas en la vida adulta es muy restringida a unas regiones concretas del sistema nervioso central; si este fenómeno se da en otras regiones en condiciones normales está todavía bajo discusión (Lamprecht, 2004). Lo que importa es que bajo ciertas circunstancias, entre ellas la lesión del sistema nervioso central, se podría activar la neurogénesis en algunas regiones, lo que llevaría a promover la regeneración de neuronas perdidas.

Aunque eso no se contempla como una opción terapéutica a corto plazo, sí es una realidad que se han identificado y aislado las células madre que son responsables de la generación de esas nuevas neuronas en el cerebro adulto; de hecho, se pueden cultivar para obtener más células. Muchos experimentos con animales y algunos ensayos en humanos dan cuenta del gran potencial de estas células para promover la regeneración neuronal o bien para frenar alguna enfermedad (Hernández, 2004).

#### 3.4.5 Neurogénesis adulta

La neurogénesis adulta consiste en la generación e incorporación de nuevas neuronas al cerebro cuando ya ha acabado su desarrollo. Si bien el desarrollo de muchas regiones del sistema nervioso continúa durante la infancia e, incluso, la adolescencia, la incorporación de nuevas neuronas en la vida adulta esta muy restringida a unas regiones concretas del sistema nervioso central; si este fenómeno se da en otras regiones en condiciones normales está todavía bajo discusión (Ming, 2005). Lo que importa es que bajo ciertas circunstancias, entre ellas tras la lesión de sistema nervioso central, se podría activar la neurogénesis en algunas regiones, lo que llevaría a promover la regeneración de neuronas perdidas.

Aun que esto no se contempla como una opción terapéutica a corto plazo, sí es una realidad que se han identificado y aislado las células madre que son las responsables de la generación de estas nuevas neuronas en el cerebro adulto (Cameron, 1998). Muchos experimentos con animales y algunos ensayos en humanos dan cuenta del gran potencial de estas células para promover la regeneración neuronal o bien para frenar alguna enfermedad.

#### 3.4.6 Nuevas neuronas en el cerebro adulto

En el último tercio del siglo XX el interés de la comunidad científica se ha centrado en ver si la generación de neuronas durante el desarrollo puede continuar o estimularse en la edad adulta, lo que abriría una puerta a la esperanza en el tratamiento de numerosas enfermedades hasta ahora consideradas incurables.

#### 3.4.6.1 Neurogénesis en el hipocampo adulto

El hipocampo es una zona del cerebro donde hay una adición continua de nuevas neuronas. Estas estructuras están formadas por el cuerno de Ammon y se caracteriza por tener la mayor parte de las neuronas agrupadas en estratos compactos. La generación de nuevas neuronas en el hipocampo adulto se encuentran restringida al giro dentado, en concreto al estrato donde están la mayoría de sus neuronas agrupadas: el estrato granular.

Se cree que esta neurogénesis en el hipocampo está relacionada con la memoria espacial, en concreto con cómo recordamos distintas rutas y localizaciones para movernos y situarnos en nuestro entorno y con la separación de patrones, un proceso por el cual el cerebro distingue entre acontecimientos similares. Además, el hipocampo desempeña un papel vital en el aprendizaje de regulación, la codificación de la memoria, la consolidación de la memoria. Recientemente, se ha propuesto una nueva función hipocampal. Se ha encontrado que puede influenciar la integración funcional entre las regiones espaciales separadas en la corteza cerebral, llevando a las reacciones sensoriales crecientes, tales como visión, audición, y tacto (RD, 2014).

#### 3.4.6.2 Neurogénesis en otras regiones del sistema nervioso adulto

Aparte de hipocampo, hay pruebas de que existen también precursores con el potencial de generar neuronas dispersos en muchas regiones del cerebro adulto. A esta conclusión se ha llegado después de haber extraído células y haberlas cultivado en laboratorio en distintas condiciones, junto con factores tróficos y otras moléculas para promover su conversión en neuronas. Aunque es posible que esas condiciones nunca se den en un cerebro adulto vivo de manera natural, lo observado a dado pie a distinguir líneas de investigación para averiguar el potencial de estos precursores neuronales.

Las regiones cerebrales donde parase existir producción e incorporación de nuevas neuronas es relativamente amplio en roedores, donde el fenómeno se ha estudiado exhaustivamente, aun que en muchos casos las pruebas no son firmes.

En humanos adultos este fenómeno se ha observado en el cuerpo estriado. Esta es una región cerebral relacionada con el control de los movimientos y el sistema de recompensas, que es un proceso cerebral que nos hace sentir bien cuando estamos a punto de conseguir algo que

deseamos. El cuerpo estriado es una de las regiones más afectadas en algunas enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Huntington (Ernst, 2014).

### 3.4.6.3 La neurogénesis con el envejecimiento

Además de las limitaciones de la fisiología del cerebro, que hace que en la edad adulta la neurogénesis sea escasa y esté concentrada en unas determinadas zonas, hay que contar con otro factor que se revela fundamentalmente en todo lo que tiene que ver con el sistema nervioso central: el envejecimiento.

Se ha observado en mamíferos no humanos que, tanto en la zona subventricular como el bulbo olfativo, la producción e incorporación de neuronas desciende muchísimo con el envejecimiento, pero no desaparece por completo. La tasa de generación de neuronas en el hipocampo también disminuye de manera muy pronunciada; es reducida en individuos de mediana edad y extremadamente baja en animales ancianos.

En el caso de los humanos, las investigaciones han llegado a la conclusión de que se produce incorporación de nuevas neuronas en individuos de edad mediana y avanzada. Sin embargo, un estudio reciente sugiere que la tasa de neurogénesis en el hipocampo sufre un gran decremento tras la infancia, tal como ocurre en el bulbo olfativo y en la zona subventricular (Curtis, 2011).

## 4.- ESTADO DEL ARTE

### 4.1. Terapias para promover la regeneración y plasticidad en el sistema nervioso

Las estrategias para tratar las diferentes enfermedades neurológicas en el sistema nervioso se centran en general en combatir diferentes mecanismos intrínsecos. En general, estas terapias se enfocan en la acción de eliminar acción o inhibir medios extracelular, la promoción o regeneración con el objetivo de promover la sinapsis en los circuitos preexistentes (Toiber, 2009).

Existen un número considerable de terapias y fármacos para combatir cada una de las enfermedades neurológicas, sin embargo, una característica de ellas son los cambios en la

plasticidad cerebral, que incluyen la pérdida neuronal en regiones específicas, cambios en la transmisión sináptica originada por alteraciones en los contactos sinápticos y también por la expresión de genes. Además, otro proceso que forma parte de la plasticidad cerebral y que también se encuentra afectado en estos trastornos es la generación de nuevas neuronas.

#### 4.1.1 La plasticidad neuronal con fármacos

Numerosas patologías neurológicas causan una pérdida irreversible de neuronas. Una característica de estos trastornos es que carecen actualmente de un tratamiento eficaz debido a la imposibilidad de reponer las neuronas muertas. De hecho, aunque el cerebro tiene capacidad de regenerarse y hay numerosos estudios que así lo demuestran, esta regeneración es muy pequeña: un 0,2% a 10% dependiendo del tipo de lesión y de la zona dañada (Marshall T. H., 2017).

Los fármacos utilizados para tratar las enfermedades del cerebro actúan también induciendo plasticidad neuronal. Como es lógico tienen una acción directa sobre alguna molécula concreta del sistema nervioso o la sustituye, pero también pueden actuar modificando la estructura de las neuronas y sus circuitos.

Entre los medicamentos suministrados son más frecuencia están los antidepresivos, antipsicóticos y los tranquilizantes. Los antidepresivos inducen cambios estructurales en el sistema nervioso central. Por su parte, los antipsicóticos se utilizan para tratar esquizofrenia y producen también impacto sobre la estructura de ciertas áreas cerebrales. Incluso las Benzodiazepinas, los tranquilizantes más comúnmente utilizados, cambian la estructura y conectividad de las neuronas corticales (Campbell, 2013).

No obstante, pese a los efectos probados en una cantidad importante de pacientes, todavía se desconoce en gran medida el funcionamiento de los medicamentos dirigidos al sistema nervioso, en comparación con medicamentos dirigidos a otros sistemas y órganos. Por una parte, no conocemos bien cómo ejercen sus efectos terapéuticos.

Otro reto para la ciencia es conseguir la selectividad de la acción de los fármacos del sistema nervioso, ya que el efecto de los empleados actualmente suelen ser indiscriminados sobre toda su extensión. Así, si se le administra Levodopa a un paciente de Parkinson, no solo va a las neuronas dopaminérgicas que necesitan ese precursor para sintetizar dopamina. El fármaco

también llegará hasta partes del cerebro donde no sea necesario y también ahí aumentará la síntesis de dopamina, lo que probablemente, generará efectos secundarios no deseables (LeWitt, 2008).

Por otra parte, para personas que padecen ansiedad o una crisis epiléptica, sería deseable que las Benzodiacepinas que toman no inhibieran todas las neuronas de su cerebro que tienen receptores GABA, sino que actuaran únicamente en aquellas áreas cerebrales que están alteradas. Pero todavía no se sabe cómo hacer que ocurra así y por eso se están desarrollando métodos para llevar los medicamentos a poblaciones neuronales específicas (McKay, 1980).

En el caso de terapias que promueven la neurogénesis, existen medicamento como la cerebrolysin, que ha mostrado tener no solo efectos neuroprotectores sino que también regenerativos (Plosker, 2009). También existe actualmente es utilizado es el NeuroAID, fármaco que estimula la expresión de BDNF, con la desventaja que la comercialización es en la unión europea que, aunado a su alto costo, resulta de difícil acceso para América Latina. También existen la propuesta de utilizar agentes antioxidantes tal es el caso de la administración subaguda de zinc, que causa un preconditionamiento el cual modula el proceso inflamatorio, disminuyendo el estrés celular y promoviendo el restablecimiento de las capacidades neurológicas que se pierden tras un proceso isquémico, como por ejemplo las capacidades cognitivas (Bavarsad, 2011).

Actualmente, no se cuenta con un tratamiento preventivo para la enfermedad neurológicas. La terapéutica se ha encaminado a la utilización de agentes neuroprotectores que tratan de controlar los efectos. La administración de factores de crecimiento se ha probado en la investigación básica en un modelo de encefalopatía isquémica, donde se ha visto que los factores de crecimiento administrados conjuntamente como el factor de crecimiento de fibroblastos tipo 2 (FGF2) y el factor de crecimiento de insulina tipo 1 (IGF-1) que atraviesan la barrera hematocefálica, y actúan en neuronas en el hipocampo, teniendo un efecto en la sobrevivencia de las neuronas colinérgicas de las células madre (Yan, 2006) y en la proliferación celular, mejorando las funciones cognitivas. Mientras que la administración de IGF-1 antes y después de un daño isquémico disminuye la apoptosis en la corteza cerebral e hipocampo, el volumen de la lesión y la diferenciación de células precursoras neuronales. El pre tratamiento con factores tróficos como el IGF-1 mejora las funciones neurológicas en la fase aguda del ictus, destacando

la utilidad de los tratamientos preventivos, un elemento que ha demostrado tener un efecto benéfico utilizado de forma profiláctica al daño es la administración subaguda de zinc que además recientemente ha demostrado favorecer la liberación de factores de crecimiento como IGF-1 y FGF2 (Matsushita, 1996).

Algunas investigaciones están aislando moléculas de plantas con capacidad para activar una familia de proteínas, llamadas proteínas kinasa de tipo C o PKC, que favorecen la formación de neuronas en el cerebro sin presentar actividad tumoral. A través de estos compuestos es posible promover la proliferación celulares de precursores neurales en roedores adultos (Geribaldi-Doldán, 2016).

Existen estudios que han evaluado que el tratamiento a largo plazo con fármacos antidepresivos, que según investigaciones, producen un aumento de la neurogénesis en la zona subgranular del hipocampo adulto. Este nuevo descubrimiento genera una nueva hipótesis sobre el mecanismo de acción de los antidepresivos, proporcionando un paso crítico en nuestra comprensión de la hipótesis neurotrófica de la depresión y la plasticidad sináptica (Madsenf, 2021).

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

### 5.1 Neurotrofinas

Los factores neurotróficos son proteínas secretadas que promueven el crecimiento de neuritas, la diferenciación de células neuronales y la supervivencia tanto in vivo como in vitro. Además de promover la diferenciación y crecimiento de las neuronas durante el desarrollo y su supervivencia y mantenimiento en el adulto, existen evidencias que sugieren que algunas neurotrofinas juegan un papel esencial en la protección neuronal del sistema nervioso, modulando la plasticidad neuronal necesaria durante el envejecimiento o bajo condiciones traumáticas y degenerativas.

La familia de las neurotrofinas está formada por dos grupos diferentes de factores neurotróficos. El primero está formado por una serie de diferentes miembros altamente homólogos que incluyen el factor de crecimiento nervioso (NGF, Nerve Growth Factor), que es el miembro fundador y mejor caracterizado de la familia de neurotrofinas (Levi-Montalcini, 1987) de polipéptidos neurotróficos y fue descubierto hace más de medio siglo (Hamburger V, 1949). El

NGF también está presente en el sistema nervioso central (SNC), donde cumple una función trófica en el desarrollo y mantenimiento de las neuronas colinérgicas del prosencéfalo basal (Dreyfus, 1989).

Las neurotrofinas son típicamente células no neuronales, mientras que en el SNC, las neuronas las sintetizan predominantemente en condiciones fisiológicas (Thoenen, 1995). Durante el desarrollo, se establece un flujo retrógrado de una neurotrofina, que transporta la proteína desde el objetivo al terminal nervioso y sube el axón al cuerpo celular (Ginty DD, 2002). Las neuronas que establecen este flujo sobreviven al período de muerte celular neuronal, mientras que las que no lo hacen, se degeneran. Una vez que se establece el flujo retrógrado de neurotrofina, debe continuar durante toda la vida de la neurona para mantener el estado funcional diferenciado de la neurona (Barde, 1989).

Desde su descubrimiento inicial, los factores neurotróficos han aumentado las expectativas de que su aplicación clínica a las enfermedades neurológicas podría proporcionar una terapia efectiva para lo que ahora son condiciones que no se pueden tratar. De hecho, existe un impresionante volumen de evidencia de los efectos neuroprotectores de los factores neurotróficos en modelos animales (Skaper, 2008).

El segundo factor neurotrófico es el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el cual presenta una similitud estructural con el NGF dando lugar al concepto de la familia de las neurotrofinas (Leibrock J, 1994). Posteriormente se identificaron dos miembros adicionales, neurotrofina-3 (NT-3) y neurotrofina-4 (NT-4) (Ibáñez, 1995).

## 5.2 Factor de crecimiento nervioso

El NGF fue el primer factor de crecimiento neuronal caracterizado y con el que se constituyó la familia de las neurotrofinas (MontalciniR, 1987). El NGF fue descubierto como el factor difusible responsable de la producción de un halo de fibras nerviosas en un implante de ganglios simpáticos y sensoriales de embrión de pollo (Hamburger, 1953). La teoría neurotrófica sostiene que las neuronas compiten entre sí por una cantidad limitada de neurotrofinas proporcionadas por el tejido inervado. Las neurotrofinas juegan un papel esencial en la regulación del desarrollo del sistema nervioso, la plasticidad sináptica del sistema nervioso adulto y en el mantenimiento

de su integridad estructural. La ausencia de NGF, o una disminución local en sus niveles, impiden el desarrollo neuronal normal y explica la apoptosis fisiológica durante el periodo neonatal. Además el NGF es absolutamente esencial para la supervivencia para el conjunto de neuronas sensoriales durante el desarrollo.

El NGF al igual que otros factores, actúan para estimular el metabolismo celular mediante la regulación positiva de una amplia gama de procesos biosintéticos. Promueve la diferenciación morfológica de sus células promoviendo un extenso crecimiento de procesos axonales y dendríticos. De hecho hay evidencia de que NGF no solo actúa de manera permisiva para facilitar la diferenciación morfológica y bioquímica de las neuronas y crecimiento del proceso, sino que también es instructivo y desempeña un papel en la especificación del fenotipo de la neurona (Lillien, 1985).

El NGF también tiene acciones en el SNC, aunque no es particularmente abundante en este. Su síntesis parece estar restringida en gran medida al hipocampo y neo corteza e incluso en estas regiones está presente a concentraciones relativamente bajas en relación con otras neurotrofinas. Por otra parte se sabe que los factores de crecimiento están definidos como proteínas que estimula a la célula a proliferar a promover su supervivencia y algunos factores de crecimiento actúan solo durante un periodo restringido de tiempo (Thoenen H., 1980).

Existen un gran número proteínas o enzimas que promueven factores de crecimiento en el sistema nervioso. Estos factores son sintetizados por una variedad de tipos de células que incluyen neuronas y células gliales. Los factores son segregados dentro del medio extracelular donde se difunden y actúan en otras células (Davies, 2003). La asociación del factor de crecimiento con los receptores activa un complejo señal de transducción, permitiendo cambios bioquímicos en las células. Muchos receptores de los factores de crecimiento son en sí las mismas proteína quinasas cuya actividad enzimática se estimula al asociarse con su ligando específico.

### 5.3 Hongo *Herichium Erinaceus*

Los hongos se han usado tradicionalmente como alimento y medicinas altamente valoradas durante milenios, pero recientemente los científicos han comenzado a comprender los

mecanismos moleculares y beneficios de sus componentes bioactivos. Varias clases de metabolitos de los hongos se han clasificado como moléculas efectivas que aumenta la inmunidad, incluidas proteínas, polisacáridos, lipopolisacáridos y glicoproteínas (Wong KH, 2007). Los hongos también producen y acumulan varios productos de baja movilidad molecular, metabolitos secundarios, incluidos los fenoles, policétidos y terpenos, que son medicamentos efectivos (De Silva, 2013).

Recientemente, muchos estudios han demostrado que los polisacáridos de las setas tienen propiedades medicinales sustanciales y ningún efecto tóxico, a diferencia de muchos fármacos quimioterapéuticos anti cáncer existentes (Lee JS, 2010). Por otra parte se ha evaluado también las propiedades antimicrobianas de los hongos para encontrar una solución para la resistencia a los antibióticos en microorganismos patógenos humanos (Anke T, 1977), (Lindequist, 2005), (Suay I, 2000).

En este trabajo nos centramos en el hongo *Hericium Erinaceus* (HE), un hongo comestible, que tiene una larga historia de uso en la tradición medicina en Asia y ha recibido atención recientemente para sus potenciales capacidades terapéuticas y neuroprotectoras. El hábitat de esta especie se encuentra en la zona norte del hemisferio, principalmente en los bosques de Asia central. Su nombre común tiene mucho que ver con su aspecto, pues su carpóforo está compuesto por multitud de finos filamentos de color blanco, con una apariencia a una melena de león (Wang L. D., 2004). El uso terapéutico tradicional se corrobora actualmente con la acción del extracto de melena de león sobre el sistema digestivo como prebiótico natural, modulador de la respuesta inmune y regeneradora del tejido ectodérmico (Thongbai, 2015). En la siguiente figura 2 se muestra una fotografía de hongo que será tema central del estudio de esta investigación.



Figura 2 Hongo *Hericium Erinaceus* en su hábitat natural

Este hongo ha demostrado tener factores neurotróficos para activar la síntesis NFG en el sistema nervioso central y, en particular, en la estructura del hipocampo (Kenmoku H., 2002), (Lee E.W., 2000). Esta proteína es necesaria para el crecimiento de las neuronas sensoriales, y se ha demostrado que los extractos de este hongo promueven el crecimiento de la vaina de mielina (Mori K. O., 2008). Su influencia en el sistema nervioso también se basa en su capacidad para detener la degeneración neuronal, retrasando así el envejecimiento natural del cerebro (Nagano M. S., 2010). El HE está especialmente indicada para casos muy concretos como pacientes con déficit de atención, consiguiendo resultados verdaderamente notables, así como en casos para retrasar el envejecimiento cerebral en personas de más edad, y promueve las capacidades cognitivas funcionen con mayor precisión en personas jóvenes (Wong, 2012). La función de la NGF previene la muerte neuronal y la neuritis, apoya la formación de sinapsis y mejora la función de la memoria, y también es esencial para mantener y organizar la función neuronal (Obara, 2002).

Recientemente de acuerdo a estudios realizados, se han identificado sustancias bioactivas, las cuales son estimulantes en el crecimiento de tejidos nerviosos, éstos compuestos inducen la regeneración de las neuronas cerebrales, aún las severamente dañadas pero aún con vida, situación que representa un hecho de relevancia terapéutica ya que, puede representar un recurso importante para el tratamiento de enfermedades neurológicas . Múltiples ensayos clínicos in vitro e in vivo han constatado la capacidad de principios activos presentes en el extracto de dicho hongo para ejercer una acción neurotrópica y mejorar así el proceso de mielinización de las fibras nerviosa, sin afectar al crecimiento neuronal y evitando cualquier efecto tóxico o daño en las células nerviosas (Kolotushkina E. V., 2003).

Investigaciones realizadas en Japón han encontrado compuestos para tratar la demencia a partir de hongos medicinales. Tras años de trabajo, se publicaron los resultados de este estudio, en el que se demostró que las moléculas hericenonas y erinacinas presentes en el HE inducían la síntesis de NGF (Kawagishi H. S., 1994). Las hericenones y erinacines son compuestos de bajo peso molecular, que pueden atravesar fácilmente la barrera hematoencefálica. Sin embargo, el mecanismo detallado por el cual erinacines y hericonones inducen la biosíntesis de NGF permanece desconocido (Zhuang, 1996).

Existen estudios experimentales que demuestran que el hongo HE presenta un alto potencial para frenar y promover la neurodegeneración. Un estudio demostró que las moléculas presentes en este hongo son capaces de promover la recuperación nerviosa/funcional en ratones que se sometieron a cirugía para aplastar el nervio ciático. La recuperación funcional inicial de la marcha se observó después de 4 días de tratamiento, mientras que el grupo placebo no observó ningún cambio. Para el día 10, el estado de la lesión tras la cirugía era normales en el grupo de ratones, mientras que el grupo placebo en el que se recibió agua destilada se vio notablemente obstaculizado (Choi M. A., 2003).

Otros estudios han encontrado que los compuestos de HE promueve la liberación del NGF expresión génica en células de astrocitoma humano 1321N1 independiente de la concentración. Además se encontró que la síntesis de esta proteína se realiza por medio de la activación de la proteína quinasas Jun N-termina (JNKs) (Mori K. O., 2008). La investigación ha demostrado específicamente que la molécula de erinacina A es capaz de aumentar la liberación de NGF en ratas (Shimbo, 2005). Por otra parte, se ha observado que la molécula erinaces A, B, C (Kawagishi H. S., 1994), E y F (Kawagishii, 1996) son capaces de mejorar la liberación de NGF in vitro. También se encontró que un extracto no específico de la HE del cuerpo fructífero (que se cree que contiene hercinonas) mejora la mielinización de las células nerviosas in vitro (Moldavan, 2007). En el caso de la hercinonas se conoce que se encuentran en el cuerpo fructífero del hongo (Ma. B. J., 2010) y que ayuda en los casos de deterioro cognitivo en la demencia, reducir la depresión y ansiedad en cortos periodos de tiempo (Nagano M. S., 2010), (Mori K. I., 2009).

La administración oral de HE previene el deterioro inducido por el péptido  $\beta$ -amiloide de la memoria espacial a corto plazo y la memoria de reconocimiento visual (Mori K, 2009). Recientemente, se descubrió que la HE administrada por vía oral confiere neuroprotección en ratones que se habían sometido a una oclusión de la arteria cerebral media (Hazekawa M, 2010).

Otros estudios han encontró que el consumo oral de HE en pacientes diagnosticados con deterioro cognitivo leve basada en la escala de demencia de Hasegawa, sugiere que la ingesta continua de alimentos que promueven la síntesis de NGF puede ser una de las formas efectivas de prevenir o aliviar la enfermedad de Alzheimer. En consecuencia, el HE puede considerarse un alimento útil para la prevención de la demencia sin ningún efecto adverso (Mori K. I., 2009).

Otros estudios han realizado análisis del exo-biopolímero (EBP) producido a partir de un cultivo micelio sumergido de HE. En estos estudios se efectuó el análisis de azúcares y aminoácidos. El contenido total de azúcar de EBP se midió mediante el método del ácido fenol-sulfúrico (Dubois M. G., 1956), utilizando una mezcla de manosa y galactosa (1:1) como estándar. La composición del azúcar se analizó mediante un cromatógrafo de gases GC 3600 (Varian Co.) basado en el método de hidrólisis y acetilación descrito por Jones y Alber-sheim (Jones, 1972). El contenido de proteína total de EBP se midió mediante el método de Lowry (Lowry, 1951), con albúmina sérica bovina utilizada como estándar. La composición de aminoácidos se analizó mediante un auto analizador de aminoácidos biochrom (Dubois M. G., 1956) con una columna en forma de Na después de la hidrólisis de la proteína (Associates, 1980).

Los contenidos totales de azúcar y aminoácidos de EBP contenían 91.2% y 8.8%, respectivamente. Un análisis químico detallado de la EBP se resume en la siguiente Tabla 1.

**Table 7.** Sugar and Amino Acid Compositions of the Exo-biopolymer Produced Mycelial Culture of *Hericium erinaceus*

Sugar	Composition (%) <sup>1)</sup>	Amino acid	Composition (%) <sup>2)</sup>
Fucose	20.1	Aspartic acid	10.5
Ribose	0.2	Threonine	8.7
Arabinose	1.5	Serine	16.6
Xylose	0.3	Glutamic acid	10.5
Mannose	35.4	Proline	0.3
Galactose	34.1	Glycine	10.0
Glucose	8.4	Alanine	6.7
		Cysteine	3.5
		Valine	6.4
		Methionine	2.8
		Isoleucine	3.3
		Leucine	3.8
		Tyrosine	1.8
		Phenylalanine	8.9
		Histidine	1.1
		Lysine	3.7
		Arginine	1.4
<b>Total sugar content</b>	<b>91.2</b>	<b>Total protein content</b>	<b>8.8</b>

<sup>1)</sup> Percentages were calculated on the basis of total sugar.

<sup>2)</sup> Percentages were calculated on the basis of total amino acids.

Tabla 1 Contenido de azúcares y aminoácidos en el hongo *Hericium Erinaceus* (Yang, 2003)

En la tabla 1, se muestra el contenido de aminoácidos en el HE, en donde se encuentran 17 tipos diferentes de aminoácidos, que constituyen el contenido proteico. De estos aminoácidos destaca la presencia del Ácido Aspártico con un 10.5%, la Serina con un 16.6%, el Ácido Glutámico con

10.5 %, la Glicina con 10%, Fenilalanina 8.9% y la Treonina con un 8.7%, La aportación de estos aminoácidos al contenido proteico del HE es de 65.2 %.

Por último HE esta compuesto por componentes valiosos como proteínas (42,5%), carbohidratos (60,95%), fibra bruta (7,81%), grasas bajas (7,9%), cenizas (8,9%), aminoácidos y aproximadamente 29 micro y macro elementos. El micelio de HE contiene 30,65 mg/g de aminoácidos, 2 veces más que en el cuerpo fructífero (14,33 mg / g). El HE también contiene una cantidad variable de minerales, es decir, sodio (157 mg), potasio (29163 mg), fósforo (6121 mg), zinc (59 mg), magnesio (1166 mg), cobre (13 mg), manganeso (11 mg) y calcio (395 mg) (Cohen, 2014).

#### 5.4 Composición molecular del *Hericiium Erinaceus*

Numerosos tipos de compuestos biológicamente activos de hongos han demostrado actividades farmacéuticas y propiedades terapéuticas. En particular, sus polisacáridos bioactivos han sido ampliamente estudiados por su potencial y aplicaciones existentes en productos farmacéuticos y alimentos funcionales (Giavasis, 2014).

Recientemente, el uso de técnicas analíticas tales como espectrometría de masas acoplada con cromatografía líquida de alto rendimiento y la resonancia magnética nuclear bidimensional han ayudado a identificar de moléculas bioactivas y metabolitos secundarios de diferentes compuestos orgánicos (Stadler, 2015). Sin embargo, Shen (Shen, 2014) desarrolló un método alternativo basado en la inmunología, para la detección específica de terpenoides de centano en HE. En general, los metabolitos bioactivos de HE y otros hongos se pueden clasificar en: a) alto molecular compuestos de peso, tales como polisacáridos y b) de bajo peso molecular compuestos de peso tales como policétidos y terpenoides (Mizuno, 1992).

Existe un número importante de moléculas presentes en el HE. A continuación en la tabla 2 se mostrara las más relevantes y que serán objetivo de estudio.

Molécula	Referencia	Molécula	Referencia
Erinacine A	(Kawagishi H. S., 1994)	2,3,4,7-tetrahydro-5-methoxy-2-methyl-2-(4-methyl-2-oxo-3-pentenyl)-9H-furo[3,4- <i>h</i> ]-1-benzopyran-9-one	(Thongbai, 2015)
Erinacine B			
Erinacine C			
Erinacine D	(Kawagishi H. S., 1996)	2,6-dimethoxy-4-methylchlorobenzene	(Khan, 2013)
Erinacine E	(Kawagishi, 1996)	2-Hydroxymethyl-5-alpha-hydroxyethyl-gamma-pyranone (Herierin IV)	
Erinacine F			
Erinacine G	(Lee, 2000)	3,5-dimethoxy-4-chlorobenzaldehyde	(Okamoto K, 1993)
Erinacine H			
Erinacine I	(Kawagishi H. M., 2006)	3,5-dimethoxy-4-chlorobenzyl alcohol	
Erinacine J			
Erinacine K			
Erinacine P	(Kenmoku H. S., 2000)	3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihydroxy-6- $\beta$ -methoxyergosta-7,22-diene	(Qian FG, 1990)
Erinacine Q	(Kenmoku H. T., 2004)	4-chloro-3,5-dimethoxybenzoic acid	
Erinacine R	(Phan C. W., 2015)	4-chloro-3,5-dihydroxybenzaldehyde	
Erinacine S	(Chen C. C., 2016)	4-chloro-3,5-dihydroxybenzyl alcohol	(Kim, 2014)
Hericenone-A	(Kawagishi H. A., 1990)	CP-412,065	
Hericenone-B			
Hericenone-C			
Hericenone-D	(Kawagishi H. A., 1991)	cyatha-3,12-diene	(Li W. Z., 2014)
Hericenone-E			
Hericenone-F	(Kawagishi H. A., 1992)	cyatha-3(18),12-diene	(Li W. S., 2014)
Hericenone-G			
Hericenone-H			
Hericenone-I	(Bing-Ji, 2012)	Hericerine	(Thongbai, 2015)
Hericenone-J	(Cordes, 2011)	Erinacene D	
Erinacerin A	(Bhandari, 2014)	Hericenol A	
Erinacerin B			
Erinapyrone A	(Noda, 1996)	Hericenol B	(Kenmoku H. T., 2014)
Erinapyrone B			
Erinapyrone C			
Erinapyrone C	(Arnone, 1994)	Hericenol C	(Ma. B. J. Shen, 2010)
Herierin III	(Chen J. Z., 2017)	Erinacol	
		11-O-acetylcynthia A3	(Kimura, 1991)
		Hericene A R = palmytoyl	
		Hericene B R = oleoyl	
		Hericene C R = stearyl	(Wu, 2014)
		Hericerin	
		Erinaceolactone A	
		Erinaceolactone B	(Ueda K, 2008)
		Erinaceolactone C	
		3-Hydroxyhericenone F	

Tabla 2 Componentes activos en el hongo *Hericum Erinaceus*

Esta serie de moléculas serán objeto del estudio de este trabajo, con la finalidad de conocer cuál es el proceso bioquímicos que promueve el factor de crecimiento neuronal en el sistema nervioso. Este análisis se llevará a cabo con ayuda de la teoría de coeficientes de transferencia de electrones de química cuántica que es una nueva teoría desarrollada por el Dr. Manuel González Pérez.

## 5.5 Objetivos

Los objetivos generales del trabajo de investigación se muestran a continuación:

### 5.5.1 Objetivo general:

Analizar y simular los componentes activos del hongo *Hericiium Erinaceus* que promueven el crecimiento de tejido nervioso, basado en la teoría de transferencia de electrones de química cuántica.

### 5.5.2 Objetivos particulares:

- 1.- Examinar las características fisiológicas y estructurales de la plasticidad neuronal y neurogénesis en el sistema nervioso.
- 2.- Simular los compuestos biomoleculares del hongo *Hericiium Erinaceus* e identificar los aminoácidos con alta probabilidad de interacción.
- 3.- Evaluar las secuencia de aminoácidos de factores de crecimiento nervioso e identificar secuencias peptídicas con alta probabilidad de interacción molecular.
- 4.- Identificar a través de simulaciones cuánticas los principales neurotransmisores que promueven los factores de crecimientos nervioso.

## 6. JUSTIFICACIÓN

Las células nerviosas o neuronas son el componente fundamental en nuestro sistema nervioso, las cuales tienen la capacidad de conducir impulsos nerviosos y transmitir información a diferentes estructuras. Las neuronas presentan una adaptación en lo largo de su vida, tanto en sus propiedades estructurales como en su característica, esta adaptabilidad es llamada plasticidad neuronal.

El proceso de plasticidad tiene la característica de ser un mecanismo continuo de remodelación y de reorganización neuronosináptica que permite el óptimo funcionamiento de las redes neuronales durante la filogenia, la ontogenia, el aprendizaje y después de una lesión cerebral. Cuando existe un daño neuronal irreversible se le llama un proceso de neurodegeneración y normalmente se caracteriza por el envejecimiento y enfermedades neuronales.

La regeneración neuronal en animales invertebrados y vertebrados inferiores ocurre sin ningún inconveniente, sin embargo en el caso de los mamíferos y otros vertebrados superiores resulta un proceso no tan fácil de que ocurra. La regeneración neuronal en el SNC es prácticamente nula, mientras que la regeneración en el sistema nervioso periférico (SNP) en ocasiones puede tener éxito.

Por otra parte, los trastornos neurológicos son aquellas patologías localizadas en cualquier punto del sistema nervioso, sea en el cerebro, médula espinal u otros nervios y prolongaciones nerviosas, alterando su correcto funcionamiento. Los síntomas de estos trastornos pueden ser muy variados, pudiendo producir tanto un déficit como un exceso de actividad neuronal en cualquier sistema del organismo. Las causas dependen del trastorno, pudiendo ser incluso aún desconocidas en la actualidad.

Un grupo de trastornos nerviosos de mayor prevalencia actualmente son las denominadas demencias, más éstas no son el único grupo de trastornos neurológicos existentes. La demencia es un síndrome clínico caracterizado por un deterioro persistente y adquirido de las funciones cerebrales superiores (memoria, lenguaje, orientación, cálculo o percepción espacial, entre otras). Dicho deterioro conlleva una pérdida de la autonomía del enfermo, que se va haciendo cada vez más dependiente de los demás, así como un decremento de su actividad social, laboral y de ocio (Hachinski, 1975).

Otro tipo de patologías son las llamadas enfermedad cerebrovasculares, la cuales representan la tercera causa de muerte a nivel mundial. Se produce generalmente a causa del accidente cerebrovascular que puede ser de tipo isquémico el cual surge principalmente debido a la oclusión de un vaso sanguíneo (80 % de los casos), o del tipo menos frecuente que es el hemorrágico (20 % de los casos); Independientemente de la etiología ambos culminan en la disminución inmediata de oxígeno y glucosa, produciendo isquemia (Jauch, 2013). Este tipo de

trastornos engloba a todos los procesos que causen isquemia cerebral y es la principal causa de discapacidad física y mental en los humanos (Milionis, 2005) .

De acuerdo con las estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), a día de hoy conviven en todo el mundo en torno de 50 millones de personas con demencia, con una prevalencia desmesurada que, lógicamente, no es homogénea en todas las regiones del mundo y que, incluso, tampoco es similar en función del género. Los casos de demencia se incrementan de forma exponencial con la edad, siendo previsible una auténtica epidemia a nivel mundial en los próximos años debido al envejecimiento progresivo de la población. Las estadísticas muestran que la demencia constituye la principal causa de discapacidad y dependencia en el anciano, y conlleva una morbilidad muy importante, lo que supone un costo económico, social y sanitario de primera magnitud, que principalmente recae en los familiares. Se prevé que el número de personas con demencia se habrá triplicado en el año 2050, por lo que una necesidad urgente es de identificar los mecanismos clave en el desarrollo de la demencia (Wortmann, 2012).

A pesar de que los estudios epidemiológicos de los que se dispone, la población afectada por las enfermedades neurológicas se estima que podría llegar a 1000 millones de personas (Feigin, 2017). Si tenemos en cuenta, además, que la población mundial está envejeciendo y que este es uno de los factores ligados a gran parte de estas enfermedades, podemos prever que la cantidad de afectados por estas patologías se cuadruplicaría en los próximos 50 años. Se estima que la tasa de muerte de estas enfermedades ronda aproximadamente a 6,8 millones de personas cada año, lo que representa un 12% de los fallecimientos en todo el mundo (Dorsey E. C., 2007), (Hebert, 2013).

Según estudios epidemiológicos una persona de cada 4 padecerá una enfermedad psiquiátrica diagnosticable como la depresión o la esquizofrenia, durante su vida (Ginn, 2012). La perspectiva de las enfermedades neurológicas no es más alentadora; se estima que el año 2050 más de un centenar de millones en el mundo padecerá el trastorno de Alzheimer (Sloane, 2002). La gran relevancia de las enfermedades del sistema nervioso radica, en que buena parte, en que todavía no tenemos respuesta terapéuticas efectivas para muchas de ellas; y en muchos casos no tenemos tratamientos eficientes porque no se conocen las causas que las producen.

En los Estados Unidos Mexicanos, a través de diversos estudios, se ha tratado de dimensionar la magnitud de los trastornos neurológicos, mostrando que en la población adulta existe una prevalencia de estos trastornos entre el 15 y el 18% de la población en general; esto significa que en nuestro país padecen trastornos neurológicos aproximadamente 18 millones de personas, lo que equivale a una séptima parte de nuestra población (Salud, 2018).

Con respecto a la cobertura de salud nacional en 2016, 6 de cada 10 personas ocupadas no cuentan con acceso a instituciones de salud, el 63.7% de las personas que se encuentran en el mercado laboral no están registradas en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) o en el Instituto de Servicios de Seguridad Social para los trabajadores del Estado (INEGI, 2016).

El declive de la eficiencia de los medicamentos y sus efectos secundarios ha desembocado en una crisis mundial en lo que concierne al tratamiento de enfermedades crónicas degenerativas. Actualmente investigadores en Oriente y Europa están sumando esfuerzos en la creación de compuestos bioactivos novedosos basados en biología sintética de los hongos. Los hongos son fascinantes y más aún los hongos medicinales. No son ni vegetal ni animal, aunque eso lo sabe todo el mundo, lo que no saben es que comparten más ADN con los animales que lo hacen con las plantas. Otro hecho sobresaliente es que algunas de las medicinas más potentes se encuentran en hongos y podrían cambiar el curso de nuestro paso por el planeta. Ellos ofrecen una increíble gama de beneficios para la salud, como agentes antitumorales y antioxidantes, anticancerígenos, control metabólico y del peso, también trabaja en la depresión y ansiedad (De Lucca, 2007).

Tradicionalmente, los hongos se han utilizado como remedio natural contra diversas enfermedades, especialmente en la medicina popular asiática. Hoy en día se sabe que las propiedades saludables de las setas se deben a los compuestos bioactivos que poseen. Algunos de los compuestos y fracciones aisladas de los hongos medicinales han mostrado importantes propiedades inmunomodulatorias, antitumorales, cardiovasculares, antibacterianas, antiparasitarias, antivirales, hepatoprotectoras y antidiabéticas. Los polisacáridos obtenidos de los hongos se consideran como componentes capaces de modular la respuesta inmune en animales y humanos e inhibir el crecimiento de ciertos tumores (Sánchez-Fernández, (2013).)

De acuerdo con estudios, los hongos cuentan con la particularidad de brindar apoyo medicinal a nivel físico como psicológico. Los hongos podrían convertirse, de alguna manera, en el secreto

de nuevos tratamientos para trastornos neurológicos como trastorno de estrés postraumático, depresión demencia, psicosis, Alzheimer entre otros trastorno neurológicos (Phan C. W., 2017).

Entre las especies de hongos a las que se les atribuye actividad biológica relacionada con el sistema nervioso y la salud cerebral se encuentran el Ganoderma, Grifola Frondosa y Hericium Erinaceus. Aunque, hasta ahora, el hongo que más actividad presenta frente a las enfermedades neurodegenerativas es el Hericium Erinaceus. Una de las funciones del HE en el sistema nervioso, es que puede regular el crecimiento y desarrollo de las neuronas. En los estudios que se han realizado hasta ahora se muestra que HE alivia el deterioro cognitivo leve que produce el Alzheimer así como algunos síntomas asociados a la enfermedad, por ejemplo, mejora la calidad del sueño y aminora la depresión (Matsushima, 2009).

Las investigaciones sobre la efectividad de los compuestos bioactivos de la HE, basadas en ensayos clínicos en pacientes están recibiendo mucha atención en Asia, por ejemplo, China, Japón, Corea, Rusia y Malasia debido a su efectividad para potenciar la síntesis de NGF. A pesar de los esfuerzos efectuados por los investigadores, aún no se determinan los mecanismos que estimulan el NGF en el cerebro in vivo (Thongbai, 2015).

Estudios efectuados en Rusia han comprobado de manera experimental en vitro que el hongo HE promueve el crecimiento de células nerviosas y gliales de manera similar a la observada en las células del cerebro in vivo. Además de promover la formación y maduración de la vaina de mielina de manera rápida, regulando la supervivencia de los oligodendrocitos y las células de Schwann en el sistema nervioso después de la influencia de NGF (Kolotushkina E. V., 2003).

El propósito de este trabajo de investigación radica en investigar y comprender los procesos metabólicos y biológicos que envuelven los componentes bioactivos del hongo Hericium Erinaceus. Actualmente se conoce que las moléculas bioactivas de este hongo promueve el factor de crecimiento nervioso en los mamíferos gracias a que sus compuestos de bajo peso molecular pueden atravesar fácilmente la barrera hematoencefálica. Sin embargo, el mecanismo detallado por el cual las biomoléculas inducen la biosíntesis del crecimiento del factor de crecimiento permanece desconocido.

Entender los mecanismos moleculares de los compuestos del hongo HE ayudará a comprender los procesos bioquímicos implicados en la neurogénesis. Además esta investigación será un parte aguas para futuras investigaciones que permitan crear nuevas familias de medicamentos basado

en bioelementos activos que ayuden a combatir las enfermedades neurológicas de manera más natural y sin repercutir en efectos secundarios o indeseados.

## 6.1 Alcances y limitaciones

Este trabajo de investigación tiene como alcance el estudio *in silico* de las principales biomoléculas en el hongo *Hericium Erinaceus* a través de la teoría de transferencia de electrones de química cuántica.

Una vez hecho dicho análisis, se analizarán las neurotrofinas homólogas más importantes involucradas en el proceso de crecimiento de axones en el sistema nervioso central, de tal manera que se pueda encontrar los sitios activos que promueven dicho proceso.

Este trabajo se limita exclusivamente a realizar evaluaciones cuánticas computacionales por medio de software Hyperchem<sup>TM</sup>, que es un paquete especializado en simulaciones moleculares y el uso de bases de datos de secuencias proteicas de libre acceso (NCBI y UniProt).

Por último, este trabajo no contemplará ningún desarrollo experimental *in vivo* ni *in vitro* para validar los resultados encontrados, por falta de recursos económicos y tecnológicos.

## 7. METODOLOGÍA A UTILIZAR Y PRINCIPIOS BIOQUÍMICOS

### 7.1 Teoría cuántica de coeficientes de transferencia de electrones

La teoría cuántica de coeficientes de transferencia de electrones es una nueva teoría propuesta por el Dr. Manuel González Pérez en el año 2017 que permite conocer la interacción entre diversas moléculas. Esta teoría se basa en evaluar la “impedancia” a nivel molecular, que actúa como un puente entre el valor de la banda y el valor del potencial electrostático (González-Pérez, 2017). A continuación se describe los principios teóricos que la sustentan.

### 7.1.1 Fuerzas de Van der Waals.

Las fuerzas de Van der Waals (VWF) son fuerzas de estabilización oblicuas que influyen en la estructura, estabilidad, dinámica y función de las moléculas y materiales. Además, se sabe que estas son fruto de las leyes de la mecánica cuántica y surgen de las interacciones electrostáticas entre las fluctuaciones en la densidad de carga electrónica (Hermann, 2017). Por otra parte, algunos autores han definido que la banda prohibida, intervalo de banda o mejor conocido como BandGap (BG) actúa como la separación entre HOMO-LUMO entre moléculas de la misma especie química. Esto nos dice que para los hidrocarburos aromáticos poli cíclicos con un BG <1.3 tiene una reactividad química muy alta (Aihara, 1999). El HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital u Orbital Molecular ocupado más alto), Es el ultimo orbital molecular que se encuentra doblemente ocupado. Indica donde se encuentra el par de electrones que más fácilmente puede perder o ceder la molécula. Mientras que el LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital u Orbital Molecular vacante más bajo). Es el orbital de menos energía que se encuentra vacío. Indica el lugar donde más fácilmente la molécula aceptaría un par de electrones.

### 7.1.2 Metodología de la teoría.

La primera consideración de la teoría cuántica de coeficientes de transferencia de electrones reside en que existe un polo positivo y un polo negativo en cada molécula. Además de que existe un potencial electrostático (EP) calculable por métodos cuánticos en cada polo. Por otra parte, se considera que el EP en relación con la interacción de dos moléculas es el valor absoluto de la diferencia de los potenciales electrostáticos de cada polo.

$$EP = |E_- - E_+| \quad \text{Ecuación 1}$$

La segunda consideración es que se estima que hay un orbital lleno de electrones HOMO, un orbital de electrones deficiente LUMO y un BG. El BG es el valor absoluto de la diferencia de los valores calculados de HOMO y LUMO y representa la energía que un electrón (nube electrónica) necesita para saltar de una molécula a otra, es decir.

$$BG = |HOMO - LUMO| \quad \text{Ecuación 2}$$

La tercera consideración se refiere a que el coeficiente de transferencia de electrones (ETC) es la relación entre la división del valor relativo del BG entre los valores relativos del EP. El valor ETC indica el número de veces que el electrón necesita que su EP salte del HOMO de una molécula A1 a LUMO de una molécula A2. Por otro lado, se considera que existe una interacción cruzada entre las moléculas, es decir, que el valor ETC indica el número de veces que el electrón necesita que su EP salte del HOMO de una molécula A1 de la especie química 1 a LUMO de una molécula B2 de la especie química 2. Por último se considera que el electrón salta por el camino donde existe menos energía o menor valor ETC.

$$ETC = BG/EP \quad \text{Ecuación 3}$$

Esta teoría es capaz de evaluar la interacción molecular entre sustancias puras a partir de sus valores de ETC. Dicho en otras palabras, esta teoría mide la estabilidad química de la interacción entre dos moléculas. El valor más alto de ETC representa una mayor reactividad de la sustancia pura cuando interactúa con una molécula de otra sustancia. Como consecuencia de la hipótesis anterior, el electrón (nube de electrones) prefiere la ruta de menor energía o menor resistencia, dichos en otros términos, el ETC representa una oposición al desplazamiento del electrón y su oposición es equivalente a la impedancia según la teoría electrónica (González-Pérez, 2017).

### 7.1.3 Pozos cuánticos

La interacción de las moléculas es posible representarla por medio de un modelo gráfico denominado pozos cuánticos, que muestran los valores de los ETC's según el valor de HOMO y LUMO. Este gráfico contiene líneas y puntos que representan lo siguiente: Las líneas representan los fondos de los pozos cuánticos de las sustancias puras y las líneas punteadas representan las combinaciones posibles de HOMO vs LUMO y viceversa. El eje x tiene unidades arbitrarias en el diagrama de pozo cuántico bidimensional, mientras que el eje y representa el valor de los ETC.

Las posibilidades al cruzar las bandas de las moléculas son dos,  $A_{HOMO}$  a  $B_{LUMO}$  o bien de  $B_{HOMO}$  a  $A_{LUMO}$ . En el sentido de  $A_{HOMO}$  a  $B_{LUMO}$ , se dice que A es un agente reductor, mientras que B es un agente oxidante. De la misma manera en la dirección inversa  $B_{HOMO}$  a  $A_{LUMO}$ , se dice que B es un agente reductor, mientras que A es un agente oxidante.

En el gráfico existen dos límites para colocar los fondos de los pozos cuánticos. Estos dos límites corresponden a los ETC de cada una de las sustancias que se mezclan. Como consecuencia de la hipótesis anterior, se generan tres zonas de probabilidades de interacción molecular: 1) Zona de alta probabilidad. Esta zona está por debajo del límite inferior. 2) Zona de probabilidad media. Esta zona se encuentra en el límite inferior y el límite superior. 3) Zona de baja probabilidad. Esta zona se encuentra por encima del límite superior. En la Figura 3 se puede apreciar el gráfico de los pozos cuánticos.

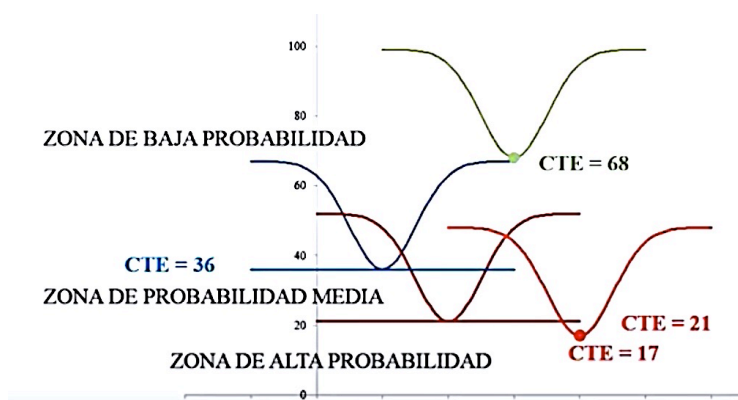


Figura 3 Zona de probabilidad en el pozo cuántico, de acuerdo con la teoría del ETC.

## 7.2 Oxidación y reducción molecular

En las últimas décadas han surgido diversas teorías que intentan explicar el proceso de envejecimiento, entre ellas una de las que tiene más adeptos es la de los radicales libres. Esta teoría propone que, debido a la alteración de los mecanismos antioxidantes, se generan y acumulan los radicales libres y se produce un estrés oxidativo que daña estructuras celulares, lo cual conduce a la muerte celular (martinez, 2003). En todos los cambios mencionados subyace la formación excesiva de radicales libres, mismos que ocasionan la destrucción de las macromoléculas de la célula (ácidos nucleicos, lípidos, carbohidratos y proteínas), induciendo una disminución en la resistencia al ambiente y un incremento en la fragilidad celular (Boix, 2000).

Los radicales libres son moléculas extremadamente reactivas formadas por fuentes exógenas o endógenas. Estos radicales presentan en su órbita más externa de su nube de electrones, electrones sin aparear. Esta inestabilidad les confiere una propiedad física para capturar

electrones de cualquier otra molécula de su entorno, ocasionando que la estructura afectada quede inestable (Hernández-Saavedra, 2007). Este fenómeno provoca diferentes reacciones en cadena que se traduce en una oxidación de biomolecular.

Las células han desarrollado mecanismos que las protegen del efecto nocivo de los radicales libres con base en un complejo sistema de defensa constituido por los agentes antioxidantes. Así, cuando se incrementa la producción de radicales libres, estos mecanismos se activan para controlar y estabilizar el ambiente redox intra o extracelular. Los antioxidantes se definen como aquellas sustancias que, presentes en bajas concentraciones respecto a las de un sustrato oxidable, retardan o previenen la oxidación. Al interactuar con el radical libre, el antioxidante cede un electrón, se oxida y se transforma en un radical libre débil no tóxico (Quir, 2014). Existen dos tipos de antioxidantes: los endógenos, dotados por el propio sistema biológico, y los exógenos, tomados de la dieta.

Clínicamente se han relacionado muchas enfermedades crónicas con el daño producido por los radicales libres, las cuales afectan a todos los aparatos y sistemas del organismo, como algunos tipos de cáncer (en pulmón, estómago y piel), la inflamación y padecimientos inmunitarios que involucran al riñón (glomerulonefritis, falla renal crónica), el hígado (hepatitis), el páncreas (diabetes mellitus) y el sistema nervioso (Alzheimer, Parkinson); alteraciones en los vasos y el corazón (incremento en la presión arterial, acumulación de grasa en los vasos sanguíneos) y padecimientos oftalmológicos, como las cataratas, el sangrado ocular y el daño degenerativo de la retina [ (Hicks Gómez, 2001)

Los radicales libres juegan un papel fisiológico clave en la homeostasis, como es el caso del óxido nítrico sintetizado por la enzima óxido nítrico sintasa. El óxido nítrico participa en la relajación muscular, el control del tono vascular y varias otras funciones que dependen de la guanosina monofosfato cíclico (GMPc). El superóxido ( $O_2^-$ ) formado por la oxidasa NAD (P)H controla la producción de eritropoyetina, participa en el control de la ventilación, en la relajación del músculo liso y en la transducción de señales de varios receptores de membranas que activan funciones inmunes. En general, los radicales derivados de especies reactivas de oxígeno intervienen en la respuesta del estrés oxidativo y mantienen la homeostasis redox (Wulf, 2002).

El sistema nervioso central es particularmente susceptible al daño por radicales libres debido a sus altos requerimientos energéticos, su gran consumo de oxígeno, la elevada concentración de

ión ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), la alta composición de lípidos polinsaturados y los niveles relativamente bajos de algunos sistemas de antioxidantes. Una amplia serie de enfermedades neurológicas (Parkinson, Huntington y Alzheimer) están asociadas a la intervención de radicales libres (Contestabile, 2001).

Como se mencionó antes, los organismos cuentan con sistemas antioxidantes que contrarrestan el efecto de los radicales libres oxidantes. Esta primera línea de defensa se ha dividido en antioxidantes de tipo enzimático como la SOD, la CAT, la GPx y las tioredoxinas, entre otros, que son producidas directamente por el organismo, y otros no enzimático, como las vitaminas A, B, E, que se adquieren mediante la dieta y el tripéptido GSH.

Los antioxidantes no enzimáticos se refieren preferentemente a las vitaminas en particular. En general, las vitaminas y algunas moléculas que se encuentran en las plantas y hongos, se consideran moléculas atracadoras de electrones, cuya característica es tener enlaces dobles conjugados. Una particularidad interesante del funcionamiento de las vitaminas es que, en muchos casos deben actuar en conjunto con las GSH para poder eliminar a los radicales libre (Konigsberg Fainstein, 2008).

### 7.3 Metodología: Análisis cuántico de las moléculas del hongo *Hericium Erinaceus*

La metodología empleada en este trabajo se enfoca en utilizar la teoría cuántica de coeficientes de transferencia de electrones, utilizo el método semi-empírico de química cuántica (SE-PM3) con el fin de analizar los pozos cuánticos de las moléculas identificadas en el hongo *Hericium Erinaceus* y su relación con los principales aminoácidos y neurotransmisores. Las moléculas que componen el hongo se modelaron usando el Software HyperChem para Windows con número de serial # 12-800- 1501800080, donde fue posible identificar los propiedades de HUMO, LUMO,  $E^-$  y  $E^+$  y posteriormente calcular su BG, EP y finalmente el ETC.

El análisis que se realizó fue basado en los 20 aminoácidos más importantes con la finalidad de ver la interacción de los aminoácidos esenciales y no esenciales respecto a las moléculas o componentes que componen el hongo HE. Así como también identificar que molécula y aminoácido tiene una alta probabilidad de ser antioxidante en los pozos cuánticos. Posteriormente a partir de los resultados obtenidos de los aminoácidos se relacionó estos con los

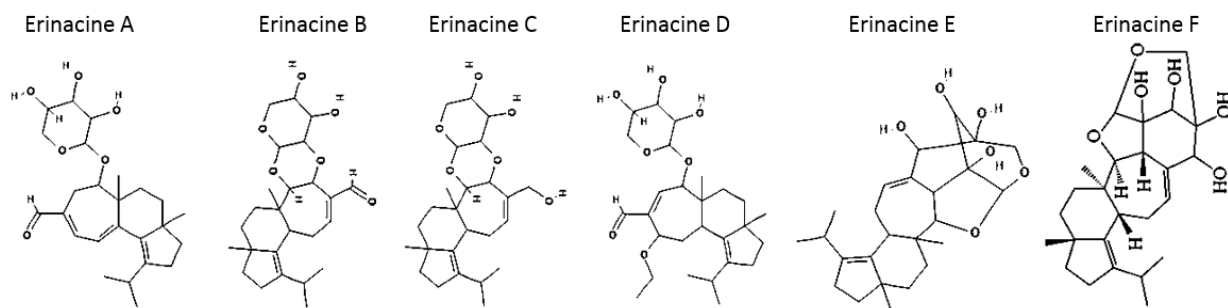
principales neurotransmisores con la finalidad de encontrar la interacción entre las moléculas de hongo, aminoácidos y neurotransmisores así entender el proceso bioquímico que envuelve el factor de crecimiento nervioso con el *Heridium Erinaceus*.

## 8.- ANÁLISIS DE DATOS DE SIMULACIONES CUÁNTICAS.

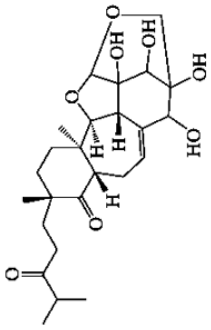
### 8.1 Moléculas presentes en el hongo *Heridium Erinaceus*

El procedimiento para realizar el análisis de los pozos cuánticos de un componente químico por medio de la teoría de coeficientes de transferencia de electrones de química cuántica (TCTEQC) se inicia identificando la estructura molecular de cada molécula. Una vez identificada la estructura molecular, se traza el arreglo químico en el software HyperChem, para así simularla bajo ciertas condiciones para obtener los valores de los coeficientes electrostáticos positivos y negativos, HUMO y LUMO. Estos valores servirán para encontrar valor absoluto de la diferencia de los potenciales electrostáticos de cada polo y la diferencia absoluta entre ( $|HUMO-LUMO|$ ), que representa la energía que un electrón (nube electrónica) necesita para saltar de una molécula a otra. Finalmente por medio de estas diferencias es posible calcular el (ETC) que ayuda a evaluar interacción de la molécula con otras y encontrar la probabilidad de ser un agente oxidante o reductor (anti-oxidante).

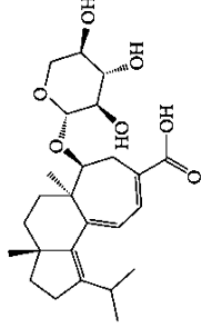
A continuación se muestra las moléculas que compone el hongo *Heridium Erinaceus* y que son objetivo de estudio de esta investigación. Las estructuras de las moléculas se obtuvieron de la base de datos de PubChem (Information, 2019) e investigaciones efectuadas s (Thongbai, 2015)



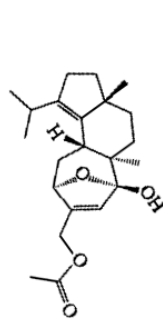
Erinacine G



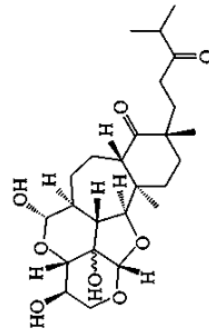
Erinacine H



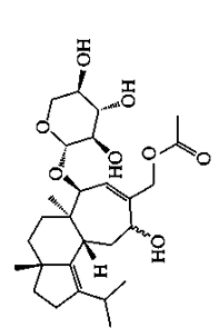
Erinacine I



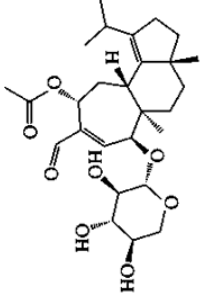
Erinacine J



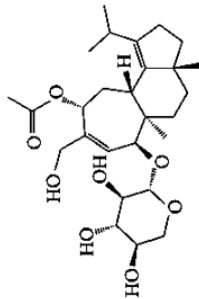
Erinacine K



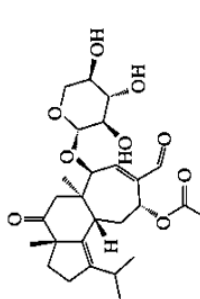
Erinacine P



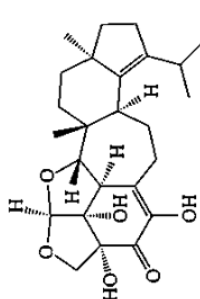
Erinacine Q



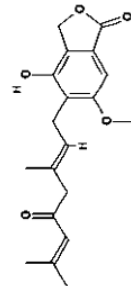
Erinacine R



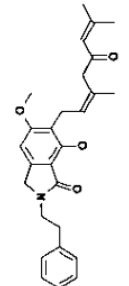
Erinacine S



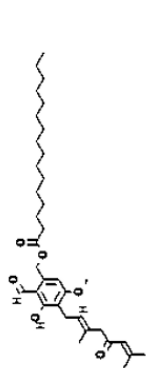
Hericenone-A



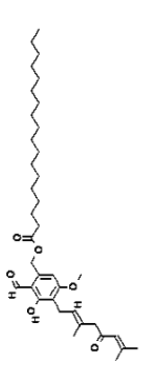
Hericenone-B



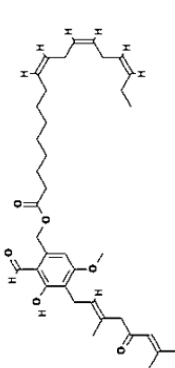
Hericenone-C



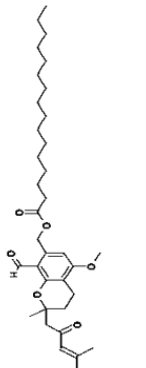
Hericenone-D



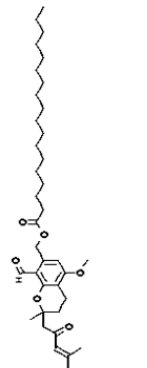
Hericenone-E



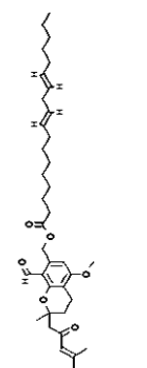
Hericenone-F



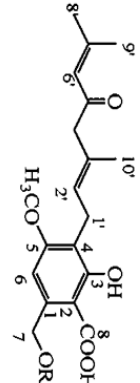
Hericenone-G



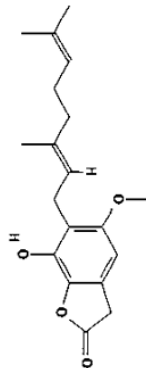
Hericenone-H



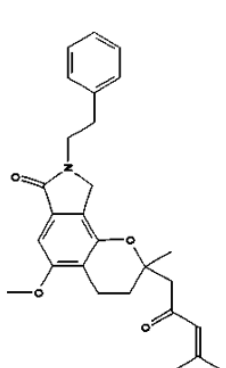
Hericenone-L



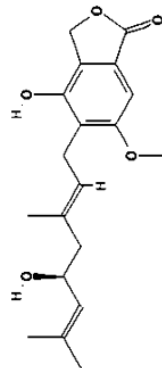
Hericenone-J



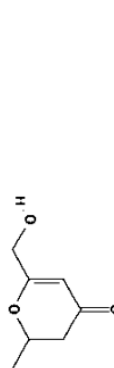
Erinacrin A



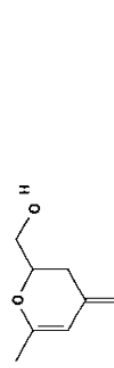
Erinacrin B



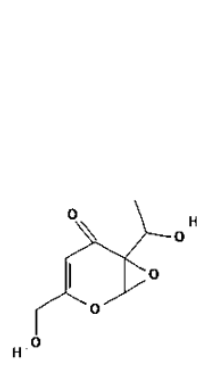
Erinapyrone A



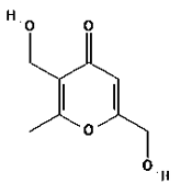
Erinapyrone B



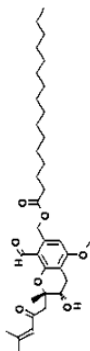
Erinapyrone C



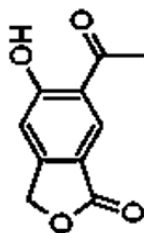
Erinapyrone C



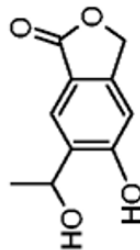
3-Hydroxyhericenone F



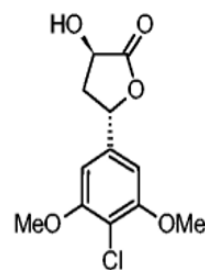
Erinaceolactone A



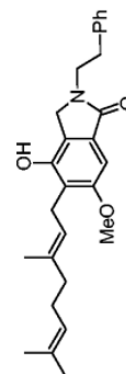
Erinaceolactone B



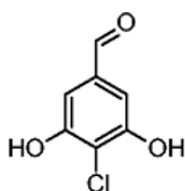
Erinaceolactone C



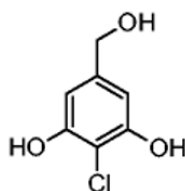
Hericerin



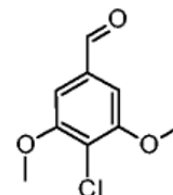
4-chloro-3,5-dihydroxybenzaldehyde



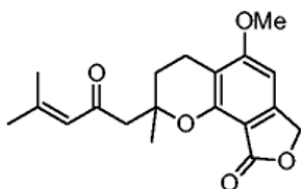
4-chloro-3,5-dihydroxybenzyl alcohol



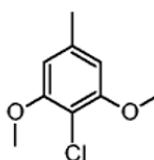
3,5-dimethoxy-4-chloro-benzaldehyde



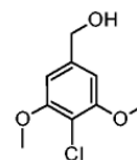
2,3,4,7-tetrahydro-5-methoxy-2-methyl-2-(4-methyl-2-oxo-3-pentenyl)-9H-furo[3,4-h]-1-benzopyran-9-one



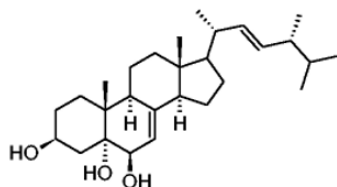
2,6-dimethoxy-4-methylchlorobenzene



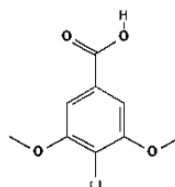
3,5-dimethoxy-4-chloro-benzyl alcohol



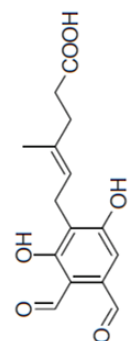
3β,5α-dihydroxy-6-β-methoxyergosta-7,22-diene



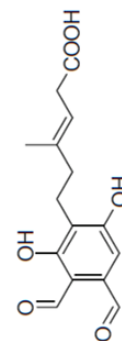
4-chloro-3,5-dimethoxybenzoic acid



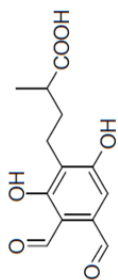
Hericenol A



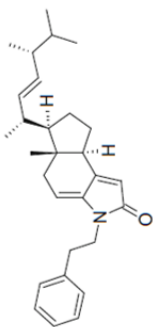
Hericenol B



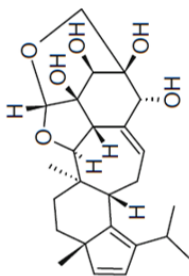
Hericenol C



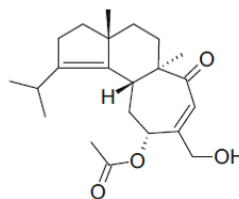
Hericine



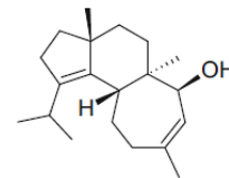
CP-412,065



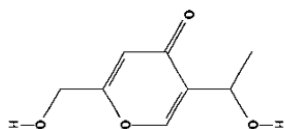
11-O-acetylcynthia A3



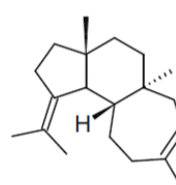
Erinacol



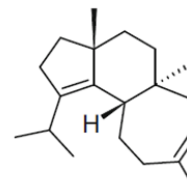
2-Hydroxymethyl-5-alpha-hydroxyethyl-gamma-pyrone (Herierin IV)



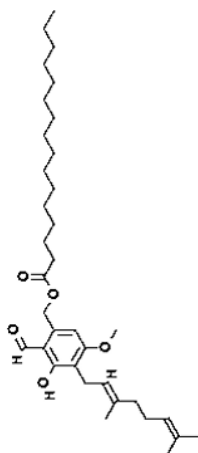
Cyatha-3(18), 12-diene



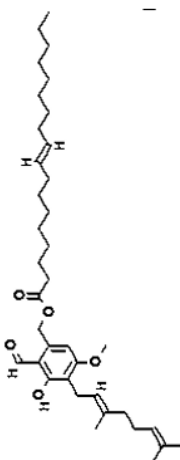
Cyatha-3, 12-diene



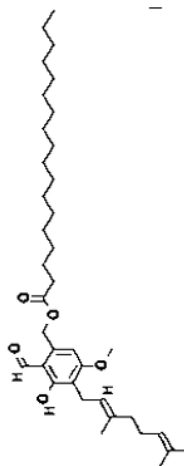
Hericene A



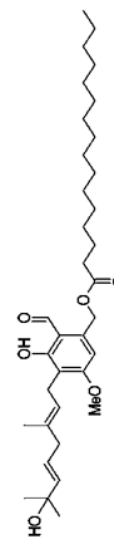
Hericene B



Hericene C



Erinacene D



Estas moléculas se utilizaron para realizar el análisis de los pozos cuánticos con la finalidad de encontrar que aminoácido tiene la mayor probabilidad de actuar como un agente antioxidante o reductor. Los aminoácidos contemplados fueron los siguientes: Alanina (Ala), Arginina (Arg), Asparagina (Asn), Cisteina (Cys), Glutamina (Gln), Ácido Glutámico (Glu), Glicina (Gly), Histidina (His), Isoleucina (Ile), Leucina (Leu), Lisina (Lys), Metionina (Met), Fenilalanina (Phe), Ácido Aspártico (Asp), Prolina (Pro), Serina (Ser), Treonina (Thr), Triptofano (Trp), Tirosina (Tyr) y Valina (Val).

En la siguiente tabla 3 se muestran los resultados de las interacciones de las 58 moléculas del hongo *Hericiium Erinaceus* respecto a los 20 aminoácidos principales con alta probabilidad de comportarse como reductor o antioxidante.

<b>Molécula</b>	<b>Aminoácidos</b>
Erinacinas B	Ser, Glu
Erinacinas C	Asp, Glu
Erinacinas D	Asp, Glu, Met, Asn, Gln, Thr
Erinacinas E	Asp, Glu
Erinacinas I	Asp, Glu, Gln, Lys, Pro
Erinacinas J	Glu
Erinacinas K	Asp, Thr, Glu, Gln, Ser
Erinacinas P	Asp, Glu
Erinacinas Q	Asp, Glu
Erinacinas R	Asp
Hericenona A	Ser, Glu, Asp, Thr, Ile, Gln, Asn
Hericenona B	Ser, Glu, Ser
Hericenona C	Asp, Glu
Hericenona D	Asp
Hericenona J	Asp, Glu
Erinacerin A	Asp, Glu, Cys, Gln, Ile, Thr, Lys, Pro
Erinapyrone B	Ser, Glu
Herierin III	Ser, Glu, Asp
2,3,4,7-tetrahydro	Asp, Glu, Ser, Gln, Thr, Asn
2 6-dimethoxy	Asp, Glu, Ser
Herierin IV	Asp, Glu, Gln, Thr, Lys, Pro, Ser, Asn
3 5-dimethoxy	Ser, Glu, Ser
3 beta-5 alpha-dihydroxy	Asp, Glu, Gln, Thr, Lys, Ser, Asn
4-Chloro-3,5-d.	Asp, Glu, Gln, Thr, Ser, Asn
CP-412,065	Asp, Glu, Ser
Hericirine	Asp, Glu, Tyr
Erinaceolactone C	Ser, Glu

Tabla 3 moléculas y aminoácidos con pozos cuánticos con alta probabilidad

En la tabla 3 se aprecia las 27 moléculas de las 58 presentan una alta probabilidad de jugar un rol antioxidante. Además se puede observar que aminoácidos son los que presenta una alta probabilidad de interacción. En la siguiente imagen se puede apreciar de manera gráfica que aminoácido tiene mayor presencia dentro de la familia de moléculas que integran el hongo *Hericiium Erinaceus*.

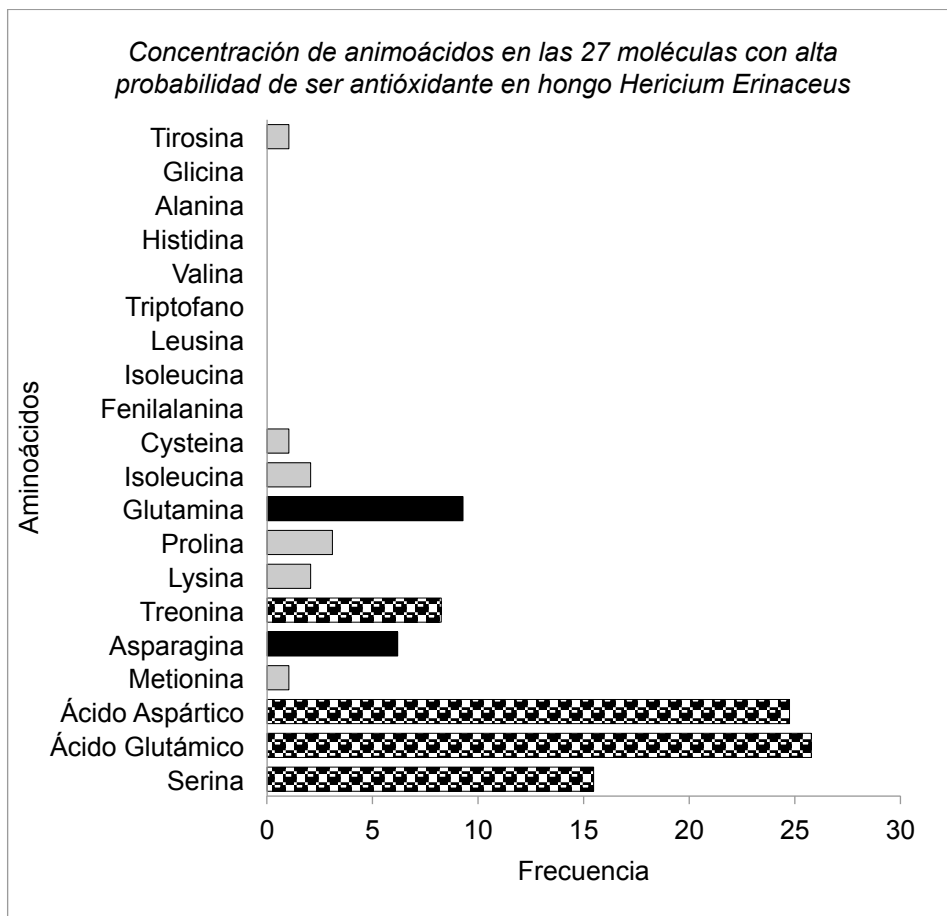


Figura 4 frecuencias en Interacción de moléculas de *Hericium Erinaceus* con alta probabilidad con aminoácidos

En la figura 4 se presentan la concentración de aminoácidos en las 27 moléculas con alta probabilidad de ser antioxidante en hongo *Hericium Erinaceus* después del análisis de todos los componentes identificados. En esta lista destacan los aminoácidos Ácido Glutámico, Ácido Aspártico, Serina, Treonina, Glutamina y Asparagina los cuales están presentes en alto porcentaje.

Si comparamos los aminoácidos de la figura 4 con respecto a los de la tabla 1 nos podemos dar cuenta que de los 6 aminoácidos encontrados con alta probabilidad de ser antioxidantes están presentes 4 los cuales son Ácido Glutámico, Ácido Aspártico, Serina y Treonina. Estos aminoácidos consideramos que son los 4 más importantes ya que se encuentran presentes en una alta cantidad en el análisis de la composición de hongo *Hericium Erinaceus* y además en el estudio de los pozos cuánticos presentan una alta probabilidad de ser atentes antioxidantes. También estos representan el 72.16 % de la concentración de los aminoácidos con alta probabilidad de interacción.

## 8.2 Análisis de familia de neurotrofinas homologas

Las neurotrofinas son un grupo básico de proteínas de aproximadamente 13KDa que forman una familia con una forma biológica similar (Meiri, 1998). Esta familia incluye 5 tipos de proteínas las cuales son: NGF, BDNF, NT-3, NT-4 y NT-6. La NT-6 se encuentra solo en peces y por ende, no se estudiará en este trabajo.

Las neurotrofinas interactúan con 3 distintos receptores de superficie celular. Las neurotrofinas se unen a una familia de receptores Trk, que sirven como el principal transductor de señal para esta clase de factores de crecimiento. Los receptores Trk son una familia pequeña y altamente relacionada de moléculas que poseen un dominio de unión a ligando extracelular que interactúa selectivamente con las especies individuales de neurotrofinas. La Trk A se une a NGF, Trk B interactúa con BDNF y NT-4 o NT-4/5, y mientras que la NT-3 interactúa principalmente con Trk C, pero también lo puede hacer con Trk A y Trk B. Ver figura 5.

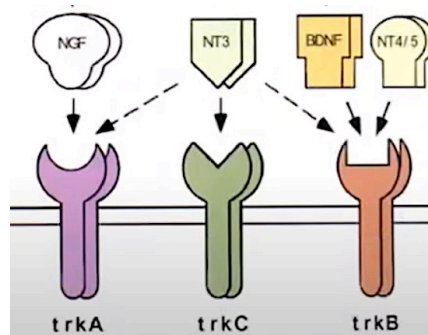


Figura 5 Receptores de las neurotrofinas.

A continuación se analizarán los mapas de aminoácidos que conforman las 4 principales proteínas o neurotrofinas a través de las bases de datos de la National Center for Biotechnology Information (NCBI) con la finalidad de encontrar la interacción de los péptidos conformados por el Ácido Glutámico, Ácido Aspártico, Serina y Treonina. El objetivo de esta sección es evaluar las similitudes peptídicas entre las 4 proteínas, para que posteriormente se pueda utilizar el teorema de transferencia de electrones de química cuántica y encontrar el o los neurotransmisores relacionados con el crecimiento axónico de las neuronas.

La primera neurotrofina que analizaremos será NGF, ya que es la principal proteína detectada en los experimentos en vivo y en vitro por la presencia de los bio-compuestos del hongo *Hericium Erinaceus*.

### 8.2.1 Factor de crecimiento Nervioso

El NGF es el miembro más conocido y estudiado de las neurotrofinas que son proteínas que promueven la diferenciación, crecimiento y supervivencia de muchas poblaciones de neuronas periféricas y del SNC durante el desarrollo y la vida adulta. Otra función del NGF consiste en dirigir el crecimiento de las vías nerviosas hacia sus órganos efectores durante el período fetal (kinase, 2021).

El NGF biológicamente es una cadena polipeptídica con pH neutro, la proteína presenta una carga neta positiva debido al exceso de aminoácidos básicos. La molécula se estabiliza por tres enlaces covalentes disulfuro entre las cisteínas de la cadena. La secuencia de los aminoácidos fue determinada en 1969 por Ruth Hogue, Angeletti y Ralph A. Bradshaw, de la Facultad de Medicina de la Universidad de Washington (Rita Levi-Montalcini y Pietro Calissano, agosto 1979).

El NGF no es una proteína muy abundante en el SNC. Se conoce que su síntesis está restringida al hipocampo y neocórtex e incluso estas regiones está presente en concentraciones relativamente bajas en relación de otras neurotrofinas. La población más prominente de neuronas sensibles a la NGF que expresan Trk A son las neuronas colinérgicas del núcleo basal. Además, el NGF también actúa sobre una subpoblación de neuronas colinérgicas dentro del cuerpo estriado.

Algunas funciones importantes donde está relacionado el NGF son las relacionadas con la proliferación neuronal, debido a que el NGF hace que se expresen algunos genes como el gen bcl-2, acoplándose al receptor Trk A. Además la unión de NGF y p75 dan lugar a los procesos de supervivencia y muerte neuronal (Freeman R. S., 2004).

Otra función del NGF está relacionada con la supervivencia y proliferación de células pancreáticas, así como en la regulación del sistema inmunológico por la liberación de mastocitos los cuales inducen el crecimiento de axones en las células nonceptivas, encargadas de detectar estímulos dañinos (Pierucci D, 2001).

Según estudios, el NGF se encuentra de manera abundante en el semen, lo cual se ha planteado la idea de que esto induce la ovulación en ciertas especies de mamíferos. Además se ha visto que las personas con una relación amorosa presentan concentraciones más altas de NGF, estimulando

la hormona adrenocorticotrófica en el eje hipotalámico-pituitario-adrenal incrementando la secreción de vasopresina (Ratto MH, 2012).

En modelos animales se ha visto que el NGF previene y reduce el daño de enfermedades degenerativas. El NGF promueve la regeneración de los nervios en ratas. Además, en enfermedades inflamatorias, el NGF se incrementa, teniendo la función de reducir los síntomas de la inflamación. También se ha visto que podría estar implicado en la reparación de la mielina, la sustancia que se encarga de proteger el interior de la neurona, en donde viaja el impulso nervioso. Es por esto que se ha planteado el uso del factor de crecimiento nervioso como un tratamiento para tratar y prevenir la esclerosis múltiple. También se ha planteado la opción de utilizarlo en trastornos psiquiátricos, como demencias, depresión, esquizofrenia, anorexia y bulimia nerviosa, trastornos del espectro autista y síndrome de Rett (Aloe, 2015).

En 1951, Levi-Montalcini propuso la hipótesis neurotrófica al plantear que la supervivencia neuronal específica es dependiente y regulada por factores neurotróficos sintetizados en cantidades limitadas por las áreas blancas. A pesar de que esta hipótesis se basa en estudios del sistema nervioso durante el desarrollo, la función de las neurotrofinas en el sistema nervioso adulto y su potencial disfunción en el envejecimiento y en las enfermedades neurodegenerativas ha comenzado a ser de gran interés en el campo de las neurociencias actuales (Pedré, 2004). La hipótesis neurotrófica supone la posibilidad de que la degeneración de poblaciones neuronales específicas en el envejecimiento y en los procesos patológicos, sea consecuencia de la pérdida del acceso a los factores neurotróficos (Kromer, 1987).

Para llevar a cabo el análisis de los aminoácidos del NGF, se empleó las bases de datos públicas de NCBI de acceso libre de secuencia de proteínas e información funcional. A continuación, se muestra la secuencia de la proteína según datos de NCBI (NGF, 1993).

```
msilfyvifl aylrgiqggn mdqrslpeds lnsliikliq adilknklsk qmvdvkenyq  
stlpkaeapr eperggpaks afqpviamd ellrqrryn sprvllsdst pleppplylm  
edyvgspvva nrtsrrkrya ehkshrgays vcdseslwvt dkssaaidirg hqvtvlgeik  
tgnspvkqyf yetrckearp vkngcrgidd khwnsqckts qtyvraltse nnklvgwrwi  
ridtscvcal srkigrt
```

Figura 6 Secuencia de aminoácidos de la proteína NGF



Dipéptidos		
e	d	2
d	s	3
d	t	3
t	e	1
t	s	4
s	e	2
t	d	1
s	s	1
e	t	1
d	d	1
s	d	1

Tripéptidos			
e	d	s	1
d	t	e	1
d	s	e	1
t	s	e	1
d	t	s	1
s	d	s	1
d	s	t	1

Tetrapeptido				
s	d	s	t	1

Tabla 5 Mapa de aminoácidos del NGF y secuencias de péptidos.

En la tabla 5, se puede apreciar que se encuentran 12 bipéptidos, 7 tripéptidos y 1 tetrapéptido. Los péptidos de mayor número de repetición son los dipéptidos: e-d, d-s, d-t, t-s, s-e y s-t.

### 8.2.2 Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro

El Factor neurotrófico derivado del cerebro o FNDC (también conocido como BDNF, del inglés brain-derived neurotrophic factor) está codificada por el gen BDNF (Jones KR, 1990). El BDNF es una proteína que actúa como factor de crecimiento de la familia de las neurotrofinas asociadas al NGF. Estas neurotrofinas se encuentran en el cerebro y el tejido periférico.

El BDNF es un factor polipeptídico que se une y activa al receptor de la tirosina quinasa Trk B (Soppet, Escandon, Maragos, & al], 1991). Tras las primeras pruebas de que este factor era importante para la supervivencia de las neuronas motoras y del hipocampo, se han acumulado datos que demuestran que el BDNF tiene un papel importante en los procesos fisiológicos subyacentes a la plasticidad y el desarrollo del sistema nervioso. El BDNF y la Trk B son necesarios para la neurogénesis hipocampal normal en el roedor adulto (Li Yun & Birnbaum, 2008).

En el SNC, BDNF apoya la supervivencia y el crecimiento de la supervivencia de las neuronas colinérgicas, las neuronas dopaminérgicas en el estriado, las células ganglionares de la retina y algunas neuronas motoras El análisis de las acciones específicas de BDNF es significativamente complicado porque NT-4 Y NT-3 también se une y activa el receptor Trk B. Curiosamente, los

animales en los que el gen Trk B se ha inactivado mueren dentro de 1 a 2 días de nacimiento, pero la base de esto no se entiende dado el fenotipo modesto de los ratones nocaout NT-4 (Dorsey S. G.-T., 2006).

A continuación se muestra la secuencia de la proteína según datos de NCBI (BDNF, 1995).

```

mtilfltmvi syfgcmkaap mkeaninggg glaypgvrth gtlesvngpk agsrgltsla
dtfehvieel ldedhkvrpn eenkdadly tsrvmlssqv pleppllfll eeyknyldaa
nmsmmvlrhs dparrgelsv cdsisewvta adkktavdms ggtvtvlekv pvskgqlkqy
fyetkcnpmg ytkegcrgid krhwnsqcrt tqsyvraltm dskkrigwrf iridtsvcvt
ltikrgr

```

Figura 7. Secuencia de aminoácidos de la proteína BDNF

A continuación se mostrará la secuencia de los aminoácidos, donde se utilizó una base de datos en Excel que permite ordenar las secuencias en porcentajes. En la siguiente tabla 6 se muestra la secuenciación en concentraciones de amino ácidos.

				Unidades	Porcentaje
1	a	A	Ala	14	5.67%
2	r	R	Arg	17	6.88%
3	n	N	Asn	9	3.64%
4	d	D	Asp	13	5.26%
5	c	C	Cys	7	2.83%
6	q	Q	Gln	6	2.43%
7	e	E	Glu	16	6.48%
8	g	G	Gly	18	7.29%
9	h	H	His	5	2.02%
10	i	I	Ile	10	4.05%
11	l	L	Leu	22	8.91%
12	k	K	Lys	17	6.88%
13	m	M	Met	11	4.45%
14	f	F	Phe	6	2.43%
15	p	P	Pro	10	4.05%
16	s	S	Ser	18	7.29%
17	t	T	Thr	19	7.69%
18	w	W	Trp	3	1.21%
19	y	Y	Tyr	9	3.64%
20	v	V	Val	17	6.88%
			Total	247	100.00%

Tabla 6 Concentración de aminoácidos de la proteína BDNF.



el desarrollo que otros miembros de la familia de neurotrofinas. Mantiene las células progenitoras de la cresta neural, que luego dan lugar a ganglios simpáticos y sensoriales, así como a una serie de otras estructuras. También es probable que NT-3 funcione para regular el período de tiempo en que estas células precursoras permanecen mitóticamente activas y, por lo tanto, actúa indirectamente para regular el número de células.

En ratones knock-out NT-3, aproximadamente el 70% de las neuronas dentro de los ganglios sensoriales se pierden, lo que indica un requerimiento absoluto de NT-3 para la supervivencia de las subpoblaciones neuronales (Klein, 1994). El análisis del patrón de expresión de NT-3 ha demostrado que se expresa mucho durante los períodos de extensión rápida del proceso en regiones adyacentes a las neuronas ganglionares en desarrollo. Por lo tanto, es probable que estas neuronas sean compatibles durante este período principalmente a través de mecanismos autocrinos y paracrinos (Fumero, 2009).

Es importante destacar que hay una reducción dramática coincidente en la síntesis de NT-3 en las regiones dentro y adyacentes a los ganglios en desarrollo, lo que hace que las neuronas sean totalmente dependientes del soporte trófico derivado del objetivo. La NT-3 también es crítica para el desarrollo glial. Hay buena evidencia de que NT-3 actúa para estimular la proliferación de células precursoras de oligodendrocitos (Coelho, 2009).

Parece posible que, a diferencia de otras neurotrofinas, la carencia de NT-3 en el SNC sea difícilmente compensada, debido al mayor número de receptores neurotróficos que la NT-3 puede activar. De hecho, al menos durante el desarrollo postnatal, se observa un incremento de la muerte celular en cerebelo de los mutantes condicionales NT-3 (Logan, 2006).

La expresión de la NT-3 en el desarrollo embrionario tiene un patrón temporal y espacial específico para cada región cerebral. Su nivel de expresión varía con la edad del individuo, siendo más elevado en las estructuras que forman parte del sistema límbico (Miyashita, 2010).

A continuación se muestra la secuencia de la proteína según datos de NCBI (NT-3, 1995).

```
1 msilfyvifl aylrgiqggn mdqrslpeds lnsliekliq adilknklsk qmvdvkenyq
61 stlpkaeapr eperggpaks afqpviamdtd ellrqrrryn sprvllsdst pleppplylm
121 edyvgspvva nrtsrrkrya ehkshrgays vcdseslwvt dkssaiding hqvtvlgeik
181 tgnspvkqyf yetrckearp vkngcrgidd khwnsqckts qtyvraltse nnklvgwrwi
241 ridtscvcal srkigrt
```

Figura 8. Secuencia de aminoácidos de la proteína NT-3.



Dipéptidos		
e	d	1
d	s	3
d	t	2
t	e	1
t	s	4
s	e	2
t	d	1
s	s	1
e	t	1
d	d	1
s	d	1
s	t	2

Tripéptidos			
e	d	s	1
d	t	e	1
d	s	e	1
t	s	e	1
d	t	s	1
s	d	s	1
d	s	t	1

Polipéptido				
s	d	s	t	1

Tetrapeptido				
s	d	s	t	1

Tabla 9 Mapa de aminoácidos del NT-3 y secuencias de péptidos más importantes.

En la tabla 9, se puede apreciar que se encuentran 12 dipéptidos y 7 tripéptido y 1 tetrapéptido. La NT-3 presenta un mapa de aminoácidos muy similar al NGF, ya que casi presenta el mismo número y cadenas de péptidos en su estructura.

### 8.2.3 Neurotrofina 4

Neurotrofina 4 no se caracteriza tan bien como otros miembros de la familia de neurotropinas. Gran parte de lo que se sabe se deriva del análisis de los ratones knock-out (Calamusa, 2007). Explicar las acciones de NT-4 es complicado en virtud del hecho de que tanto NT-4 como BDNF ejercen sus efectos a través del receptor Trk B. Parece que las funciones NT-4 se superponen en gran medida con las de otros miembros de la familia de neurotrofinas, particularmente BDNF. Los ratones sin características de knock-out NT-4 son esencialmente normales, en contraste con los ratones knock-out BDNF, que no viven mucho tiempo (Yoshizaki, 2008). Es probable que NT-4 tenga acciones únicas en una subpoblación de neuronas en los nodos y los ganglios geniculados, que no son compatibles con BDNF. Al igual que BDNF, NT-4 actúa sobre las neuronas sensoriales y las células ganglionares de la retina, apoyando su supervivencia (Talaverón Aguiloch, 2015).

El papel de NT-4 en la transmisión sináptica es menos pronunciado. Curiosamente, se ha demostrado que en ciertos contextos celulares, NT-4 puede actuar con mayor potencia que BDNF (Lodovichi C., 2000). La NT-4 también es más potente para la supervivencia de las neuronas sensoriales que BDNF. Un estudio genético en ratones, donde el gen BDNF fue

reemplazado por NT4, demostró que NT4 era más potente para inducir la maduración sináptica y la supervivencia de las neuronas sensoriales (Fan G., 2000).

A continuación se muestra la secuencia de la proteína según datos de NCBI (NT-4, 2008).

```

1 mlplpscslp illlflpsv piesqpppst lppflapewd llsprvvlsr gapagppllf
61 lleagafres agapanrsrr gvsetapasr rgelavcdav sgwvtdrta vdlrgrevev
121 lgevpaaggs plrqyffetr ckadnaeegg pgagggcrg vdrhrhwsec kakqsyvral
181 tadaqgrvgw rwiridtacv ctllsrtgra

```

Figura 9. Secuencia de aminoácidos de la proteína NT-4

A continuación se mostrará la secuencia de los aminoácidos, donde se utilizó una base de datos en Excel que permite ordenar las secuencias en porcentajes. En la siguiente tabla 10 se muestra la secuenciación en concentraciones de amino ácidos

				Unidades	Porcentaje
1	a	A	Ala	24	11.43%
2	r	R	Arg	23	10.95%
3	n	N	Asn	2	0.95%
4	d	D	Asp	8	3.81%
5	c	C	Cys	7	3.33%
6	q	Q	Gln	4	1.90%
7	e	E	Glu	13	6.19%
8	g	G	Gly	22	10.48%
9	h	H	His	1	0.48%
10	i	I	Ile	4	1.90%
11	l	L	Leu	24	11.43%
12	k	K	Lys	3	1.43%
13	m	M	Met	1	0.48%
14	f	F	Phe	6	2.86%
15	p	P	Pro	20	9.52%
16	s	S	Ser	16	7.62%
17	t	T	Thr	9	4.29%
18	w	W	Trp	5	2.38%
19	y	Y	Tyr	2	0.95%
20	v	V	Val	16	7.62%
			Total	210	100.00%

Tabla 10 Concentración de aminoácidos de la proteína NT-4.

En la secuencias que se muestra en la tabla 10 se puede observar que Asp, Ser, Thr y Glu representan el 21.91% de todos de los aminoácidos. Además, el aminoácido Ser es la que tiene mayor porcentaje de presencia en el mapa.



Tripéptido	NGF	BDNF	NT-3	NT-4
e-d-s	1	-	1	-
d-t-e	1	-	1	-
d-s-e	1	-	1	-
t-s-e	1	-	1	-
d-t-s	1	1	1	-
s-d-s	1	-	1	-
d-s-t	1	-	1	-

Tabla 13 Tripéptidos presentes

Tetrapéptido	NGF	BDNF	NT-3	NT-4
s-d-s-t	1	-	1	-

Tabla 14 Tetrapéptidos presentes

## 9.- ANÁLISIS PÉPTIDOS A TRAVÉS DE LA TCTEQC

En este capítulo se estudiarán las diferentes familias de dipéptidos, tripéptidos y tetrapéptidos que fueron encontrados en las neurotrofinas en la sección anterior. La idea principal es utilizar la TCTEQC para identificar cuál o cuales oligopéptidos presenta una alta afinidad o probabilidad de interacción a cierto neurotransmisor, para así encontrar la correlación entre biomolécula/aminoácido/oligoéptido/neurotransmisor.

### 9.1 Los aminoácidos y los puentes de hidrógeno

Los aminoácidos son moléculas orgánicas fundamentales para la vida. Los más habituales son los que se encuentran en los péptidos y proteínas. La formación de ambas biomoléculas ocurre a través de una reacción química en la que dos aminoácidos interaccionan. Este tipo de enlace es conocido como enlace peptídico, y están formados por enlaces entre grupos amino ( $\text{NH}_2$ ) de un aminoácido y el grupo carboxilo ( $\text{COOH}$ ) de otro aminoácido. El enlace peptídico implica la formación de un enlace  $\text{CO-NH}$  y la deshidratación o pérdida de una molécula de agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ).

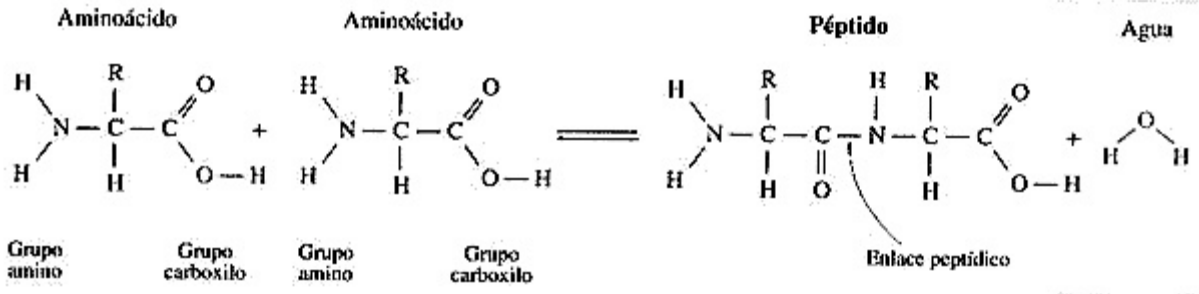


Figura 10. Unión de enlace peptídico, donde R es la cadena lateral que define la estructura del aminoácido.

Un tercer aminoácido puede a su vez interactuar por un extremo de la molécula formando un nuevo enlace peptídico, y así se enlazan formando cadenas. Sin embargo, los aminoácidos pueden además establecer otro tipo de fuerzas de unión intermoleculares. Las fuerzas de interacción entre moléculas, son de carácter electrostático y se denominan fuerzas de Van der Waals. Estas fuerzas se caracterizan por ser muy débiles comparadas con el enlace químico (Roth, 1996).

Un tipo de interacción entre moléculas con un carácter muy particular es el enlace de hidrógeno, también denominado enlace por puente de hidrógeno. Estas fuerzas de unión tienen lugar entre un átomo de hidrógeno enlazado químicamente a una molécula, e interactuando electrostáticamente con otra molécula (Ippolito, 1990). Los enlaces de hidrógeno son esenciales para la vida. Son, por ejemplo, los principales responsables de la unión entre moléculas de agua, confiriéndole sus conocidas propiedades macroscópicas. También son los responsables de la estabilidad en la unión de las dos hélices de la estructura del ADN. De forma análoga, en las proteínas una vez formados los enlaces peptídicos, las cadenas se estabilizan mediante puentes de hidrógeno formados entre ellas, confiriéndoles estructura tridimensional (Klotz, 1962).

Un reciente estudio, demostró que la interacciones y unión entre aminoácidos presentes en los tejidos musculares, cerebrales y en nutrientes esenciales como la vitamina B5 o ácido pantoténico se basan en interacciones mediante puentes de hidrógeno. La importancia de estas interacciones, radica en la extraordinaria estabilidad que les confiere a estos complejos sistemas moleculares. Estos hallazgos se llevaron a cabo por medio de simulaciones, altamente costosas en términos de tiempo y recursos de computación, donde se valoró en detalle las interacciones de los puentes de hidrógeno implicadas en las estructuras de los aminoácidos (Piekariski, 2017).

## 9.2 Los neurotransmisores principales en el SNC

Los neurotransmisores son sustancias químicas creadas por el cuerpo que transmiten señales desde una neurona hasta la siguiente a través de la sinapsis. Cuando esto ocurre, la sustancia química se libera por las vesículas de la neurona pre-sináptica, atraviesa el espacio sináptico y actúa cambiando el potencial de acción en la neurona post-sináptica.

Existen distintos tipos de neurotransmisores, cada uno de ellos con distintas funciones. De hecho, el estudio de esta clase de sustancias es fundamental para entender cómo trabaja el cerebro humano. La lista de neurotransmisores conocidos ha ido aumentando desde los años 80, y en la actualidad se han contabilizado más de 100 (HART, GROSSMAN, & RAM, 2006).

La mayor parte de los compuestos neuroactivos son moléculas polares pequeñas sintetizadas por el SNC a través de mecanismos locales, o bien son moléculas capaces de atravesar la barrera hematoencefálica. Hay muchas explicaciones posibles para el hecho de que el cerebro parezca necesitar tantos transmisores y tantos subtipos de receptores con el objetivo de transmitir los mensajes. Quizá, la explicación más sencilla es la de que la enorme complejidad del SNC hace que cada neurona establezca contacto con numerosas terminaciones nerviosas, creando la necesidad de que la neurona tenga que distinguir entre los numerosos tipos de información que llegan a ella a través de la codificación química de las señales de entrada; es decir cada producto químico transmite una información diferente (Schatzberg, 2006).

Para que el cerebro funcione normalmente debe disponer de todos los mensajeros químicos o neurotransmisores y en las proporciones adecuadas. El flujo y reflujo de la información neuronal necesita de los neurotransmisores y cualquier alteración de los niveles normales o cualquier lesión de las áreas sensibles a ellos tiene efectos sobre la manera de pensar, sentir, actuar y reaccionar (Kuffler, 1982). Nuestra felicidad depende de una eficiencia química cerebral con neurotransmisores que viajan de ida y vuelta comunicando los centros emocionales con los pensantes. Nuestra facultad de sentir, pensar y actuar; así como de permanecer en armonía con nosotros mismos depende del funcionamiento normal del cerebro, en niveles adecuados tanto de impulsos eléctricos como de neurotransmisores (Ortiz E., 2007). Cuando la producción de neurotransmisores es excesiva, deficiente o nula se presentan problemas mentales como la esquizofrenia, Parkinson, Alzheimer, angustia, depresión, etc. El exceso de un químico o la escasez de otro pueden desencadenar periodos de conductas inadecuadas como momentos de

euforia inesperados o sensación de angustia sin motivo aparente, seguidos de estados depresivos (Arora, 2018).

En el caso particular de nuestra investigación elegimos 12 neurotransmisores que consideramos los más importantes para el funcionamiento del SNC (Flórez, 1997). Entre los aminoácidos evaluados se encuentran la adrenalina, noradrenalina, dopamina, histamina, glicina, glutamato, aspartato, serotonina, GABA, ATP, óxido nítrico y acetilcolina. Cabe destacar que en nuestro análisis no consideramos a los neuropéptidos opioides ni las taquicinas, ya que estas juegan funciones orientadas a la modulación de dolor y reproducción.

En la siguiente sección se analizarán los diferentes oligopéptidos con respecto a los neurotransmisores seleccionados a través de TCTEQC, con la finalidad de encontrar cual presenta una mayor probabilidad de interacción.

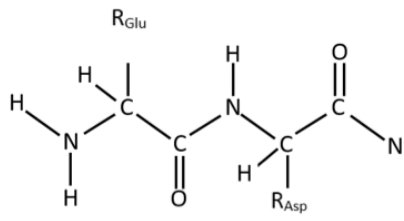
### 9.3. Dipéptidos

Un dipéptido es un compuesto orgánico derivado de dos aminoácidos. Los aminoácidos pueden ser iguales o diferentes. Los dipéptidos se producen a partir de polipéptidos por la acción de la enzima hidrolasa dipeptidil peptidasa (Steane, 2014). Las proteínas dietéticas se digieren a dipéptidos y aminoácidos, y los dipéptidos se absorben más rápidamente que los aminoácidos, debido a que su captación implica un mecanismo separado. Los dipéptidos activan las células G que se encuentran en el estómago para secretar gastrina (Jean-Simon Suppo, 2015).

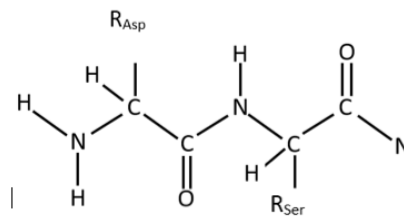
Informes han encontrado que los dipéptidos y tripéptidos pueden absorberse intactos a través del intestino y llegar a las estructuras del cerebro, logrando efectos beneficiosos en la mejora de la memoria y las funciones cognitivas (Katayama, 2014). Estudios in vivo en roedores han hallado que los compuestos conformados por dipéptidos y tripéptidos son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica (Tanaka, 2019).

Los dipéptidos que analizaremos a través de la TCTEQC son los de la tabla 12. Los cuales presentan la siguiente estructura molecular.

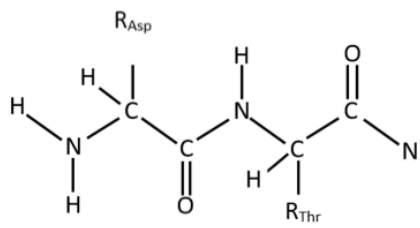
Glu-Asp  
(e-d)



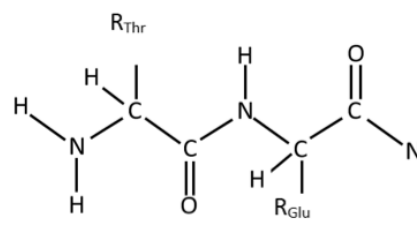
Asp-Ser  
(d-s)



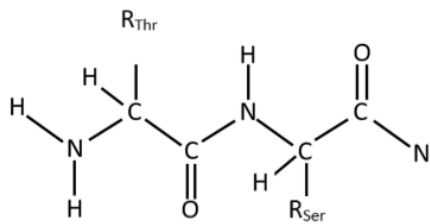
Asp-Thr  
(d-t)



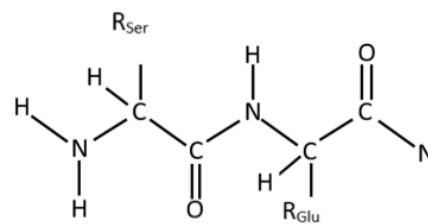
Thr-Glu  
(t-e)



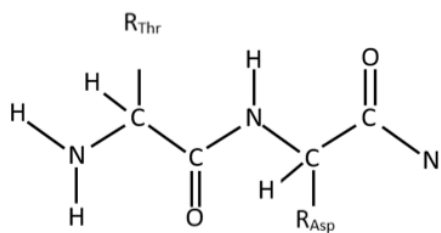
Thr-Ser  
(t-s)



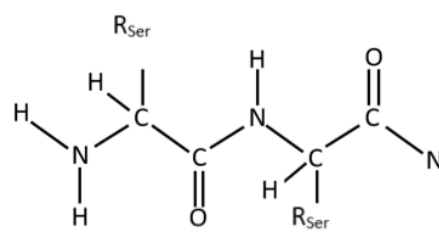
Ser-Glu  
(s-e)

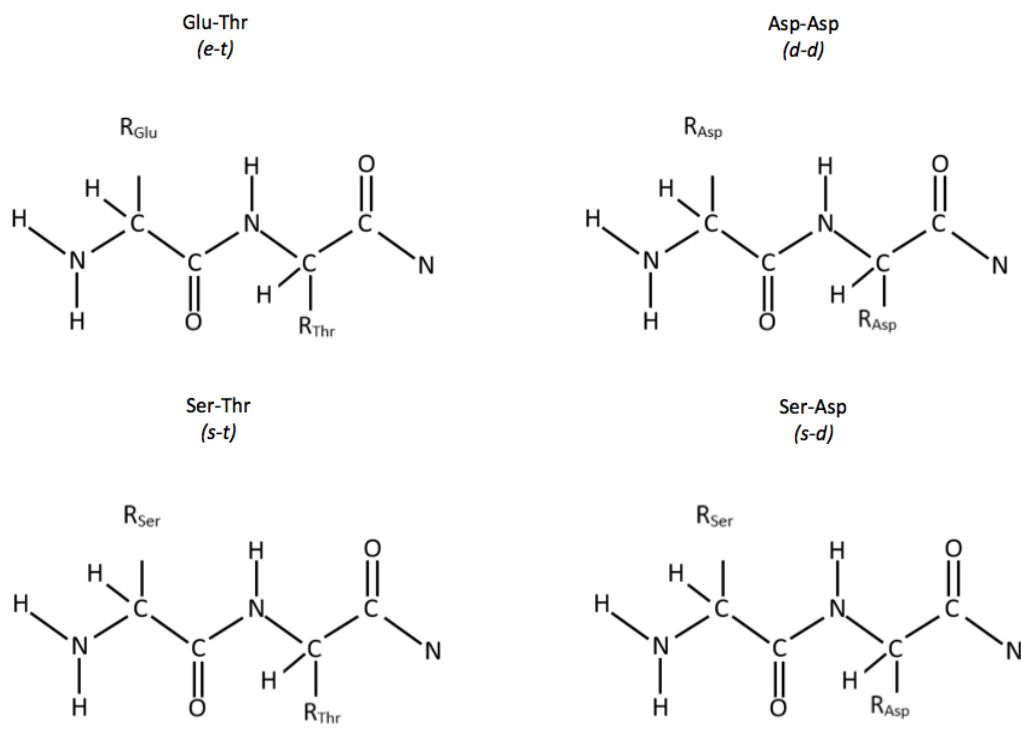


Thr-Asp  
(t-d)

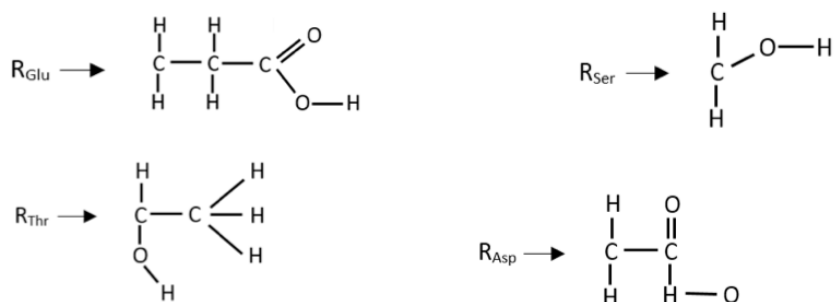


Ser-Ser  
(s-s)





Donde,



A continuación se muestra los resultados de los pozos cuánticos de los 12 principales dipéptidos encontrados en las neurotrofinas con respecto a los principales neurotransmisores del sistema nervioso central. La finalidad de este estudio es identificar que dipéptido juega un rol antioxidante e identificar el o los neurotransmisores con mayor probabilidad de interacción.

Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo
Asp/Ser	Acetilcolina	49.9354978	Media	Ser/Glu	Acetilcolina	56.3673316	Media	Glu/Thr	Acetilcolina	46.9228889	Media
Asp/Ser	Noradrenalina	99.9699473	Baja	Ser/Glu	Noradrenalina	76.4079742	Baja	Glu/Thr	Noradrenalina	106.896813	Baja
Asp/Ser	Glicina	35.9599042	Media	Ser/Glu	Glicina	39.0256649	Baja	Glu/Thr	Glicina	34.1328691	Media
Asp/Ser	Histamina	38.4331731	Baja	Ser/Glu	Histamina	42.083063	Baja	Glu/Thr	Histamina	36.3734829	Baja
Asp/Ser	GABA	37.1326643	Media	Ser/Glu	GABA	40.4144255	Baja	Glu/Thr	GABA	35.2241693	Baja
Asp/Ser	Dopamina	33.6572463	Media	Ser/Glu	Dopamina	36.4735682	Media	Glu/Thr	Dopamina	31.9011261	Baja
Asp/Ser	Serotonina	38.5891284	Baja	Ser/Glu	Serotonina	42.6046228	Baja	Glu/Thr	Serotonina	36.356413	Baja
Asp/Ser	Adrenalina	32.3678378	Media	Ser/Glu	Adrenalina	34.9670672	Media	Glu/Thr	Adrenalina	30.6955395	Media
Asp/Ser	Glutamato	35.7237427	Alta	Ser/Glu	Glutamato	38.831796	Baja	Glu/Thr	Glutamato	33.8682936	Media
Asp/Ser	Aspartato	34.4084522	Media	Ser/Glu	Aspartato	37.1741693	Media	Glu/Thr	Aspartato	32.7008779	Baja
Asp/Ser	Oxido nítrico	33.5703262	Alta	Ser/Glu	Oxido nítrico	36.4080499	Alta	Glu/Thr	Oxido nítrico	31.7999645	Media
Asp/Ser	ATP	21.9863624	Media	Ser/Glu	ATP	23.0977563	Media	Glu/Thr	ATP	20.9628675	Media

Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo
Ser/Thr	Acetilcolina	52.7317799	Media	Glu/Asp	Acetilcolina	48.0835494	Media	Asp/Thr	Acetilcolina	47.2473648	Media
Ser/Thr	Noradrenalina	84.5965222	Baja	Glu/Asp	Noradrenalina	108.13739	Baja	Asp/Thr	Noradrenalina	106.064719	Baja
Ser/Thr	Glicina	37.1955668	Baja	Glu/Asp	Glicina	34.9481978	Baja	Asp/Thr	Glicina	34.331644	Baja
Ser/Thr	Histamina	39.9327453	Baja	Glu/Asp	Histamina	37.2665567	Baja	Asp/Thr	Histamina	36.5970344	Baja
Ser/Thr	GABA	38.4692053	Baja	Glu/Asp	GABA	36.0642185	Baja	Asp/Thr	GABA	35.4316503	Baja
Ser/Thr	Dopamina	34.7629491	Media	Glu/Asp	Dopamina	35.2434637	Baja	Asp/Thr	Dopamina	32.0922338	Media
Ser/Thr	Serotonina	40.2335408	Baja	Glu/Asp	Serotonina	37.3224628	Baja	Asp/Thr	Serotonina	36.598184	Baja
Ser/Thr	Adrenalina	33.3722762	Media	Glu/Asp	Adrenalina	31.4753142	Media	Asp/Thr	Adrenalina	30.8776731	Media
Ser/Thr	Glutamato	36.9721164	Media	Glu/Asp	Glutamato	34.6985494	Media	Asp/Thr	Glutamato	34.0700623	Media
Ser/Thr	Aspartato	35.5064595	Baja	Glu/Asp	Aspartato	33.4772776	Baja	Asp/Thr	Aspartato	32.8868806	Media
Ser/Thr	Oxido nítrico	34.6826718	Alto	Glu/Asp	Oxido nítrico	32.6130568	Alto	Asp/Thr	Oxido nítrico	31.9925759	Alto
Ser/Thr	ATP	22.3146801	Media	Glu/Asp	ATP	21.5159758	Media	Asp/Thr	ATP	21.0751817	Media

Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo
Thr/Asp	Acetilcolina	47.2038455	Media	Ser/Asp	Acetilcolina	48.8676725	Media	Thr/Ser	Acetilcolina	51.5488075	Media
Thr/Asp	Noradrenalina	105.956847	Baja	Ser/Asp	Noradrenalina	103.593312	Baja	Thr/Ser	Noradrenalina	87.2047686	Baja
Thr/Asp	Glicina	34.2995554	Baja	Ser/Asp	Glicina	35.3553221	Baja	Thr/Ser	Glicina	36.5542551	Baja
Thr/Asp	Histamina	36.562189	Baja	Ser/Asp	Histamina	37.7414564	Baja	Thr/Ser	Histamina	39.1918708	Baja
Thr/Asp	GABA	35.3987282	Baja	Ser/Asp	GABA	36.4967411	Baja	Thr/Ser	GABA	37.7923899	Baja
Thr/Asp	Dopamina	32.0602464	Media	Ser/Asp	Dopamina	33.0840227	Media	Thr/Ser	Dopamina	34.1565593	Baja
Thr/Asp	Serotonina	36.5604888	Baja	Ser/Asp	Serotonina	37.8376321	Baja	Thr/Ser	Serotonina	39.4223755	Baja
Thr/Asp	Adrenalina	30.8465688	Media	Ser/Asp	Adrenalina	31.8266535	Media	Thr/Ser	Adrenalina	32.8019001	Media
Thr/Asp	Glutamato	34.0373526	Media	Ser/Asp	Glutamato	35.1103931	Media	Thr/Ser	Glutamato	36.3206183	Media
Thr/Asp	Aspartato	32.8561533	Media	Ser/Asp	Aspartato	33.8488699	Baja	Thr/Ser	Aspartato	34.9159052	Baja
Thr/Asp	Oxido nítrico	31.9602829	Alto	Ser/Asp	Oxido nítrico	32.9926768	Alto	Thr/Ser	Oxido nítrico	34.0711865	Media
Thr/Asp	ATP	21.0522405	Media	Ser/Asp	ATP	21.6833135	Media	Thr/Ser	ATP	22.0059012	Media

Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Dipéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo
Asp/Asp	Acetilcolina	48.497987	Media	Thr/Glu	Acetilcolina	49.3655945	Baja	Ser/Ser	Acetilcolina	53.268351	Media
Asp/Asp	Noradrenalina	104.288501	Baja	Thr/Glu	Noradrenalina	87.9434693	Baja	Ser/Ser	Noradrenalina	84.380375	Baja
Asp/Asp	Glicina	35.1268387	Baja	Thr/Glu	Glicina	35.1749917	Baja	Ser/Ser	Glicina	37.5257062	Baja
Asp/Asp	Histamina	37.4848542	Baja	Thr/Glu	Histamina	37.6488545	Baja	Ser/Ser	Histamina	40.304203	Baja
Asp/Asp	GABA	36.2585223	Baja	Thr/Glu	GABA	36.3583777	Baja	Ser/Ser	GABA	38.8131777	Baja
Asp/Asp	Dopamina	32.8635003	Baja	Thr/Glu	Dopamina	32.8137412	Media	Ser/Ser	Dopamina	35.0836271	Media
Asp/Asp	Serotonina	37.5594455	Baja	Thr/Glu	Serotonina	37.7415395	Baja	Ser/Ser	Serotonina	40.6397234	Baja
Asp/Asp	Adrenalina	31.6161685	Media	Thr/Glu	Adrenalina	31.5155465	Media	Ser/Ser	Adrenalina	33.6787456	Media
Asp/Asp	Glutamato	34.878242	Media	Thr/Glu	Glutamato	34.9163854	Media	Ser/Ser	Glutamato	37.3084221	Baja
Asp/Asp	Aspartato	33.6347755	Baja	Thr/Glu	Aspartato	33.6190083	Media	Ser/Ser	Aspartato	35.8159069	Media
Asp/Asp	Oxido nítrico	32.770321	Media	Thr/Glu	Oxido nítrico	32.715996	Alto	Ser/Ser	Oxido nítrico	35.0064008	Alto
Asp/Asp	ATP	21.5515519	Media	Thr/Glu	ATP	21.1711932	Media	Ser/Ser	ATP	22.5093796	Media

Tabla 15 Interacción de Dipéptidos y neurotransmisores con TCTEQC

Como se puede apreciar en los resultados de los pozos cuánticos de los dipéptidos contra los neurotransmisores, el óxido nítrico es el que presenta mayor número de interacciones con alta probabilidad, mientras que el Glutamato solo presenta una interacción. Los 9 dipéptidos con comportamiento antioxidante son los siguientes: Asp/Ser, Ser/Thr, Asp/Thr, Glu/Asp, Thr/Glu, Ser/Glu, Thr/Asp, Ser/Ser y Ser/Asp para el óxido nítrico, mientras que el Asp/Ser interactúa con el glutamato.

## 9.4. Tripéptidos

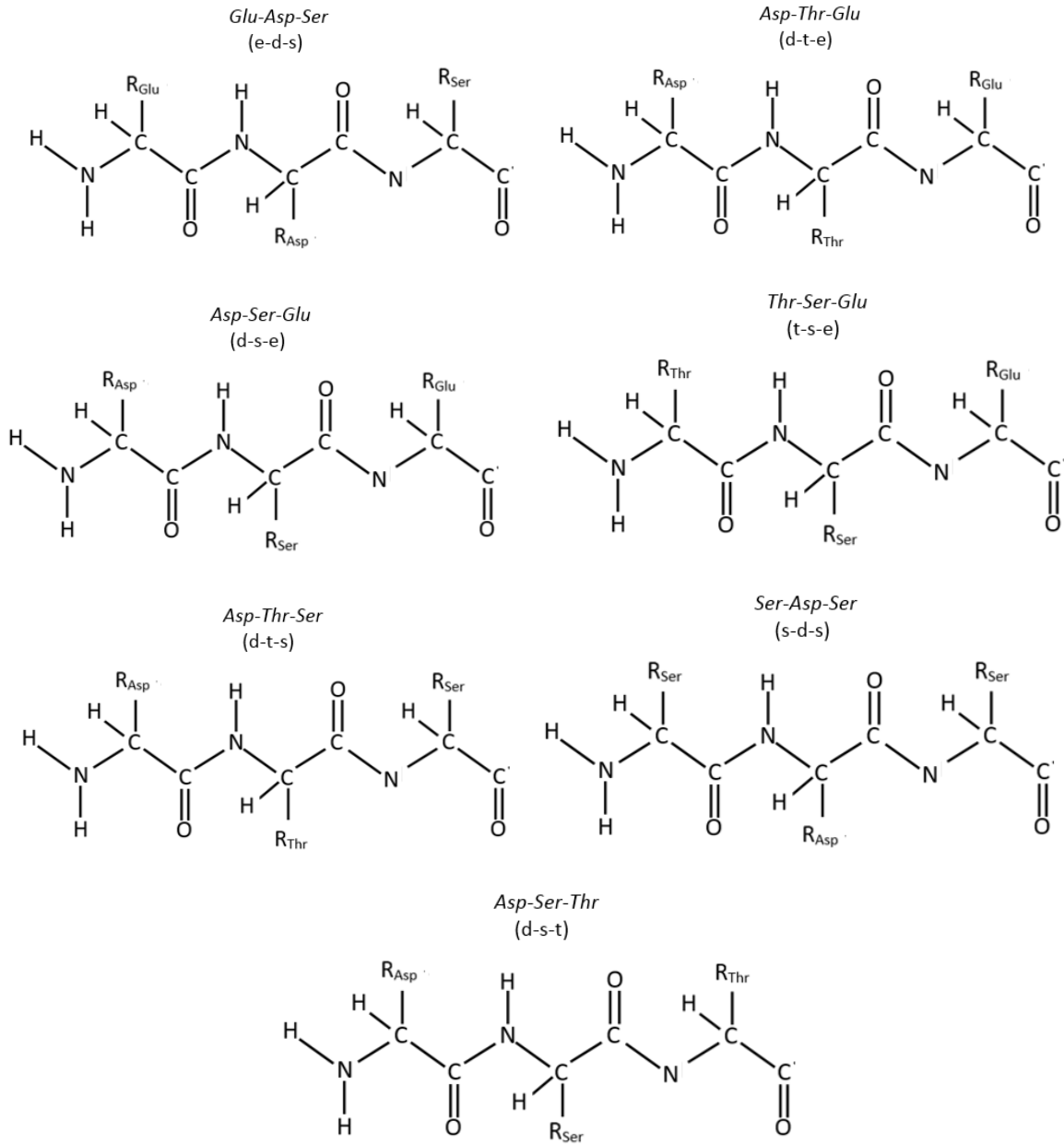
Un tripéptido es un péptido que consiste en tres aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. La naturaleza y función exactas de las proteínas están determinadas por los aminoácidos presentes y el orden en que aparecen. Los tripéptidos han demostrado que tienen la capacidad de inhibir las reacciones inflamatorias debido a una amplia variedad de causas y pueden ser utilizados para tratar reacciones inflamatorias y trastornos que implican una reacción inflamatoria en general, en mamíferos humanos y no humanos (Mathison, 2006).

Por otra parte, existen compuestos derivados de tripéptidos de uso farmacéutico que son útiles en el tratamiento de enfermedades autoinmune, inflamatorias o neurodegenerativas (□利局, 2015). También los tripéptidos son usados para los procesos de remodelado y regeneración óseos, que actúan como receptores de superficie de las células óseas permitiendo la adhesión de las células a la matriz extracelular y activando señales (Wozney JM, 1988).

Uno de los tripéptidos más importantes descubiertos es el glutatión, el cual es la molécula más abundante en el cuerpo y que es el principal antioxidante de las células, es ubicuo y ayuda a protegerlas de las especies reactivas del oxígeno, como los radicales libres y los peróxidos (Pompella, 2003).

Por otra parte, existen patentes que usan tripéptidos con afinidad a receptores de tirosina-quinasa y neurotrofinas como el NGF, que ayudan a la regeneración de las células nerviosas y mejoran la funcionalidad neuronal del hipocampo. En este estudio los tripéptidos reportados son Gly-Phe-Pro, Ile-Phe-Pro y Ile-Ile-Pro y los resultados encontraron que la administración logro cambios en la longitud de las dendritas en ratas (Gonella, 2002).

Existen un gran número de tripéptidos que presentan efectos beneficiosos para los sistemas biológicos y generalmente estos son de gran importancia por sus aplicaciones médicas. Los tripéptidos que analizaremos a través de la TCTEQC son los de la tabla 13. Los cuales presentan la siguiente estructura molecular.



A continuación se muestra los resultados de los pozos cuánticos de los 7 principales tripéptidos encontrados en las neurotrofinas con respecto a los principales neurotransmisores del sistema nervioso central. La finalidad de este estudio es identificar que tripéptido juega un rol antioxidante e identificar el o los neurotransmisores con mayor probabilidad de interacción.

Tripéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Tripéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Tripéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo
Glu-Asp-Ser	Acetilcolina	55.9843568	Media	Asp-Thr-Glu	Acetilcolina	51.7100327	Media	Asp-Ser-Glu	Acetilcolina	51.4196432	Media
Glu-Asp-Ser	Noradrenalina	78.9244892	Baja	Asp-Thr-Glu	Noradrenalina	88.7380055	Baja	Asp-Ser-Glu	Noradrenalina	86.9634353	Baja
Glu-Asp-Ser	Glicina	38.9398954	Baja	Asp-Thr-Glu	Glicina	36.7209108	Baja	Asp-Ser-Glu	Glicina	36.4613091	Baja
Glu-Asp-Ser	Histamina	41.9532607	Baja	Asp-Thr-Glu	Histamina	39.3641471	Baja	Asp-Ser-Glu	Histamina	39.0903506	Baja
Glu-Asp-Ser	GABA	40.3109464	Baja	Asp-Thr-Glu	GABA	37.9593747	Baja	Asp-Ser-Glu	GABA	37.6968622	Baja
Glu-Asp-Ser	Dopamina	36.4151558	Baja	Asp-Thr-Glu	Dopamina	34.3307017	Media	Asp-Ser-Glu	Dopamina	34.0639263	Baja
Glu-Asp-Ser	Serotonina	42.4560106	Baja	Asp-Thr-Glu	Serotonina	39.60889	Baja	Asp-Ser-Glu	Serotonina	39.3118855	Baja
Glu-Asp-Ser	Adrenalina	34.9259329	Baja	Asp-Thr-Glu	Adrenalina	32.9753499	Media	Asp-Ser-Glu	Adrenalina	32.7119916	Baja
Glu-Asp-Ser	Glutamato	38.7462692	Baja	Asp-Thr-Glu	Glutamato	36.4915131	Media	Asp-Ser-Glu	Glutamato	36.2257493	Media
Glu-Asp-Ser	Aspartato	37.1112216	Baja	Asp-Thr-Glu	Aspartato	35.0803267	Baja	Asp-Ser-Glu	Aspartato	34.8271568	Baja
Glu-Asp-Ser	Oxido nítrico	36.3497136	Media	Asp-Thr-Glu	Oxido nítrico	34.2473892	Alto	Asp-Ser-Glu	Oxido nítrico	33.9776082	Media
Glu-Asp-Ser	ATP	23.1555914	Media	Asp-Thr-Glu	ATP	22.157308	Media	Asp-Ser-Glu	ATP	21.9407069	Media

Tripéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Tripéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo	Tripéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo
Thr-Ser-Glu	Acetilcolina	52.4630519	Media	Asp-Thr-Ser	Acetilcolina	54.5312736	Media	Ser-Asp-Ser	Acetilcolina	50.7985576	Media
Thr-Ser-Glu	Noradrenalina	87.6836054	Baja	Asp-Thr-Ser	Noradrenalina	78.7478859	Baja	Ser-Asp-Ser	Noradrenalina	90.7703147	Baja
Thr-Ser-Glu	Glicina	37.1604424	Baja	Asp-Thr-Ser	Glicina	38.0315123	Baja	Ser-Asp-Ser	Glicina	36.2115017	Baja
Thr-Ser-Glu	Histamina	39.8639556	Baja	Asp-Thr-Ser	Histamina	40.9339266	Baja	Ser-Asp-Ser	Histamina	38.7795927	Baja
Thr-Ser-Glu	GABA	38.4197885	Baja	Asp-Thr-Ser	GABA	39.3662982	Baja	Ser-Asp-Ser	GABA	37.4232853	Baja
Thr-Ser-Glu	Dopamina	34.7525983	Media	Asp-Thr-Ser	Dopamina	35.5276775	Baja	Ser-Asp-Ser	Dopamina	33.8468076	Baja
Thr-Ser-Glu	Serotonina	40.1550101	Baja	Asp-Thr-Ser	Serotonina	41.3378122	Baja	Ser-Asp-Ser	Serotonina	38.9706028	Baja
Thr-Ser-Glu	Adrenalina	33.3759096	Media	Asp-Thr-Ser	Adrenalina	34.0757531	Baja	Ser-Asp-Ser	Adrenalina	32.5186207	Media
Thr-Ser-Glu	Glutamato	36.9385824	Media	Asp-Thr-Ser	Glutamato	37.8196737	Baja	Ser-Asp-Ser	Glutamato	35.9740486	Media
Thr-Ser-Glu	Aspartato	35.4893256	Baja	Asp-Thr-Ser	Aspartato	36.2577872	Baja	Ser-Asp-Ser	Aspartato	34.6093045	Baja
Thr-Ser-Glu	Oxido nítrico	34.6730369	Alto	Asp-Thr-Ser	Oxido nítrico	35.4532582	Media	Ser-Asp-Ser	Oxido nítrico	33.7594625	Media
Thr-Ser-Glu	ATP	22.3961076	Media	Asp-Thr-Ser	ATP	22.6033666	Media	Ser-Asp-Ser	ATP	21.9011298	Media

Tripéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo
Asp-Ser-Thr	Acetilcolina	49.7970135	Media
Asp-Ser-Thr	Noradrenalina	95.3941392	Baja
Asp-Ser-Thr	Glicina	35.721641	Media
Asp-Ser-Thr	Histamina	38.2001357	Baja
Asp-Ser-Thr	GABA	36.8998293	Baja
Asp-Ser-Thr	Dopamina	33.3971866	Media
Asp-Ser-Thr	Serotonina	38.3380329	Baja
Asp-Ser-Thr	Adrenalina	32.1029283	Media
Asp-Ser-Thr	Glutamato	35.4783288	Alto
Asp-Ser-Thr	Aspartato	34.1660552	Baja
Asp-Ser-Thr	Oxido nítrico	33.3068311	Alto
Asp-Ser-Thr	ATP	21.7204903	Media

Tabla 16 Interacción de tripéptidos y neurotransmisores con TCTEQC

Como se puede apreciar en los resultados de los pozos cuánticos de los tripéptidos contra los neurotransmisores, el óxido nítrico es el que presenta mayor número de interacciones con alta probabilidad, mientras que el Glutamato solo presenta una interacción. Los 3 tripéptidos con comportamiento antioxidante son los siguientes: Asp/Thr/Glu, Thr/Ser/Glu y Asp/Ser/Thr para el NO, mientras que el Asp/Ser/Thr interactúa con el glutamato.

## 9.5. Tetrapéptidos

Un tetrapéptido es un péptido, clasificado como oligopéptido, ya que solo consta de cuatro aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Muchos tetrapéptidos son farmacológicamente activos, y a menudo muestran afinidad y especificidad por una variedad de receptores en la señalización proteína-proteína. En la naturaleza están presentes tetrapéptidos lineales y cíclicos

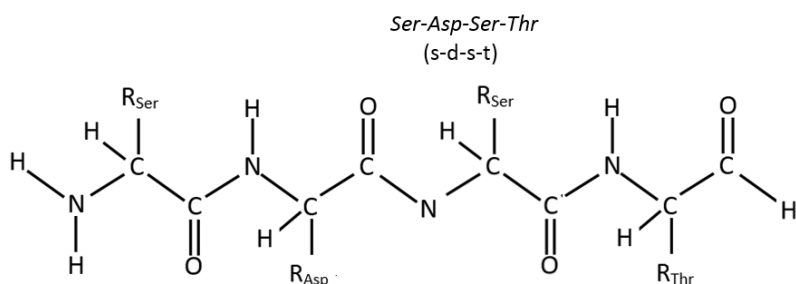
(CTP), el último de los cuales imita los giros inversos de las proteínas que a menudo están presentes en la superficie de las proteínas y los objetivos farmacológicos (Marshall S. A., 2009) (Sage Arbor, 2008).

Se ha descubierto en estudios, que los tetrapéptidos presentan características antioxidantes con un alto potencial, como lo son: Phe-Pro-His-Leu, y la Pro-Ala-Gly-Tyr que aparecen a menudo en la secuencia de los péptidos antioxidantes. (Maharani R, 2018).

Otra aplicación de los tetrapéptidos está relacionada con las neurotoxinas botulínicas (BoNT) que son toxinas que causan parálisis de los músculos flácidos que conducen a la muerte. Una investigación sistemática de varios inhibidores de péptidos cortos del dominio de proteasa de BoNT con un sustrato peptídico de 17 residuos condujo a que la Arginina-Arginina-Glicina-Cisteína tuviera una estructura tetrapéptida básica como el inhibidor más potente. Los resultados definen un tetrapéptido como el inhibidor de péptidos más pequeño en el contexto de un gran sustrato de proteína de más de 200 aminoácidos que tiene múltiples regiones de interacción con su enzima afin. Los inhibidores también deberían ser candidatos valiosos para el desarrollo de fármacos (Hale, 2011).

Existen patente basadas en tetrapéptidos (Ala-Glu-Asp-Pro) que han demostrado la actividad funcional neuronal en el sistema nervioso central y periférico basado en la normalización de los procesos metabólicos, estimulación de los parámetros de defensa antioxidante, mejora de los índices electrofisiológicos. Este tetrapéptido presenta una acción neuroprotectora en casos de impacto tóxico y traumático, además de actuar como agente para restaurar la integridad estructural y funcional del tejido nervioso (Grigoriev, 2000).

El tetrapéptido que vamos analizaremos a través de la TCTEQC es que se muestra en la tabla 14. A continuación mostramos su estructura molecular.



A continuación se muestra el resultado de los pozos cuánticos del tetrapéptido encontrado en las neurotrofinas con respecto a los principales neurotransmisores del sistema nervioso central. La finalidad es identificar si este juega un rol antioxidante e identificar el o los neurotransmisores con mayor probabilidad de interacción.

Tetrapéptido	Neurotransmisor	ETC	Pozo
Ser-Asp-Ser-Thr	Acetilcolina	51.55468372	Media
Ser-Asp-Ser-Thr	Noradrenalina	89.69379125	Baja
Ser-Asp-Ser-Thr	Glicina	36.65912919	Baja
Ser-Asp-Ser-Thr	Histamina	39.28702564	Baja
Ser-Asp-Ser-Thr	GABA	37.89161828	Baja
Ser-Asp-Ser-Thr	Dopamina	34.27712074	Media
Ser-Asp-Ser-Thr	Serotonina	39.52403386	Baja
Ser-Asp-Ser-Thr	Adrenalina	32.92773513	Media
Ser-Asp-Ser-Thr	Glutamato	36.4292476	Media
Ser-Asp-Ser-Thr	Aspartato	35.02657564	Media
Ser-Asp-Ser-Thr	Oxido nítrico	34.19354669	Alto
Ser-Asp-Ser-Thr	ATP	22.1482342	Media

Tabla 17 Interacción de Tetrapéptidos y neurotransmisores con TCTEQC

Como se puede apreciar en los resultados de los pozos cuánticos el tetrapéptido contra los neurotransmisores, el óxido nítrico es el que presenta mayor número de interacciones con alta probabilidad, por lo tanto presenta un comportamiento antioxidante.

El análisis de los bipéptidos, tripéptidos y tetrapéptido a través de TCTEQC nos indica que el neurotransmisor óxido nítrico presenta una alta probabilidad y que juega un papel fundamental con estos oligopéptidos presentes en HE. Por otra parte, también hay que resaltar que el neurotransmisor glutamato, también muestra una alta probabilidad solo para la secuencia de aminoácidos Asp-Ser y Asp-Ser-Thr, lo que podría indicar que juegan un rol importante en el sistema nervioso y explique los mecanismos de las biomoléculas en el HE. A continuación se muestra una tabla 18, el resumen de los resultados encontrados en el análisis.

<b>Dipéptido</b>	<b>Neurotransmisor</b>
Asp/Ser	Glutamato y Oxido nitrico
Ser/Glu	Oxido nitrico
Ser/Thr	Oxido nitrico
Glu/Asp	Oxido nitrico
Asp/Thr	Oxido nitrico
Thr/Asp	Oxido nitrico
Ser/Asp	Oxido nitrico
Thr/Glu	Oxido nitrico
Ser/Ser	Oxido nitrico
<b>Tripéptido</b>	
Asp-Thr-Glu	Oxido nitrico
Thr-Ser-Glu	Oxido nitrico
Asp-Ser-Thr	Glutamato y Oxido nitrico
<b>Tetrapéptido</b>	
Ser-Asp-Ser-Thr	Oxido nitrico

Tabla 18 Resumen de Interacción de con alta probabilidad

En la tabla 18, se aprecia que los aminoácidos Asp, Ser, Thr y Glu son las moléculas fundamentales con alta probabilidad de interacción con los neurotransmisores glutamato y óxido nítrico. Cabe mencionar que Glu es una molécula cuya naturaleza es aminoácido y neurotransmisor, por ello en el análisis de pozos cuánticos se encuentra de manera repetida. Consideramos que es mejor considerarlo como una molécula tipo neurotransmisor, por sus características de excitación en el sistema nervioso, por lo tanto, lo trataremos como tal. En la siguiente tabla 19, se muestran finalmente los péptidos que están involucrados con el NGF.

<b>Dipéptido</b>	<b>Neurotransmisor</b>
Asp/Ser	Glutamato y Oxido nitrico
Ser/Thr	Oxido nitrico
Asp/Thr	Oxido nitrico
Thr/Asp	Oxido nitrico
Ser/Asp	Oxido nitrico
Ser/Ser	Oxido nitrico
<b>Tripéptido</b>	
Asp-Ser-Thr	Glutamato y Oxido nitrico
<b>Tetrapéptido</b>	
Ser-Asp-Ser-Thr	Oxido nitrico

Tabla 19 Péptidos involucrados con el NGF

## 10.- MECANISMOS MOLECULARES PROPUESTOS BASADOS EN RESULTADOS DEL ANÁLISIS TCTEQC PARA BIOMOLÉCULAS BIOACTIVAS DE HONGO HERICIUM ERINACEUS.

En esta sección se mostrará los mecanismos y principios moleculares que consideramos que están involucrados en promover los factores de crecimiento nervioso por presencia de las biomoléculas que componen al hongo HE basados en los resultados encontrados por la TCTEQC.

### 10.1 Factor de crecimiento nervioso y aminoácidos (Asp, Ser y Thr)

Durante el desarrollo del trabajo de investigación, logramos identificar o aislar los siguientes aminoácidos Asp, Ser y Thr que consideramos que presentan mayor probabilidad de promover los factores de crecimiento nervioso. A continuación, se mostrará la función de cada uno de ellos y se analizará su impacto en el sistema nervioso.

#### 10.1.1 Serina

La Serina es un aminoácido polar no esencial, su símbolo es S en código de una letra y Ser en código de tres letras. Forma parte del centro activo de muchas enzimas gracias a su grupo -OH. Es precursor de otros aminoácidos como glicina, cisteína y de esfingolípidos.

Los principales usos de Serina en el cuerpo humano son para ayudar en la función del sistema nervioso central, así como con el funcionamiento general del cerebro. Está presente en las vainas de mielina que cubren los nervios situados en el cerebro. Sin suficiente Serina, estas vainas se vuelven delgadas o desaparecen por completo, lo que lleva a una incapacidad para los nervios para transmitir mensajes a otras partes del cuerpo (De Koning, 2003).

Este aminoácido también ayuda en la producción de anticuerpos de inmunoglobulina, los cuales son esenciales para un saludable sistema inmune. Además, se requiere la presencia de Serina para crear triptófano, que a su vez se utiliza para generar la serotonina. La serotonina es utilizada por el cerebro para regular el estado de ánimo, la depresión y la ansiedad (Meier R, 1989).

Para que el cuerpo humano produzca este aminoácido es necesario contar con ácido fólico, vitaminas B3 y B6. Estos compuestos se producen de forma natural en la carne, el maní y los productos lácteos, pero una dieta alta en alimentos procesados pueden conducir a una deficiencia. Aunque es poco común, es posible que el cuerpo humano tenga una deficiencia natural de este aminoácido. El trastorno por falta de esta molécula, se manifiesta normalmente como enfermedades neurológicas. Un examen del líquido cefalorraquídeo simple es típicamente suficiente para determinar si este trastorno es la causa subyacente de los síntomas (Deschepper CF, 1991).

A pesar de ser clasificada como un aminoácido nutricional no esencial, hay evidencias que indican que la Serina posee un importante mecanismo para mantener la homeostasis celular en el sistema nervioso central. Por ejemplo, las funciones de la Serina como un factor neurotrófico derivado de la glía son esenciales para la supervivencia y el desarrollo de las neuronas en el sistema nervioso central (Vaughan PJ, 1993).

### 10.1.2 Ácido Aspártico

Este aminoácido no esencial se encuentra normalmente en las proteínas y es importante en la síntesis del ADN, la urea y como neurotransmisor cerebral. El ácido aspártico puede ser sintetizado por el organismo humano y por lo tanto cargado negativamente a pH neutro. Su símbolo es D en código de una letra y Asp en código de tres letras.

Las funciones más importantes de Asp en el organismo son:

- Ayuda a mejorar la fatiga y la depresión.
- Ayuda a eliminar el amoníaco, protegiendo de esta forma el sistema nervioso.
- Participa en muchas funciones celulares y el metabolismo, en compañía del potasio y el magnesio, rejuveneciendo su actividad.
- Es indispensable para el mantenimiento del sistema cardiovascular, en compañía del magnesio, el calcio y el potasio.
- Protege el hígado ayudando a la expulsión de amoníaco.
- Incrementa la absorción, circulación y utilización de los siguientes minerales: calcio, magnesio, zinc y potasio, a través de la mucosa intestinal, la sangre y las células.

- Ayuda a la función del ARN y ADN, que son portadores de información genética.

Su carencia puede ocasionar una serie de trastornos en el organismo, algunos de ellos son:

- Alteraciones del sistema nervioso.
- Cansancio y fatiga.
- Alteraciones cardiovasculares.
- Alteraciones metabólicas.
- Trastornos hepáticos por intoxicación.

Otras tareas que realiza este compuesto es que asiste en la formación del ácido glutámico, estimulando las conexiones cerebrales. Además es un elemento muy importante para elevar los niveles de memoria, aprendizaje y el equilibrio del cuerpo.

Por otra parte, se conoce que este aminoácido está presente en la materia blanca y en la mielina en el cerebro humano (Man E.H., 1983), alcanzando sus niveles máximos entre 3 o 4 % entre los 20 a 45 años. Además se ha encontrado que este aminoácido juega un rol muy importante para la función de la proteína básica de mielina (W.T., 1974).

Estudios hechos en cerebros de víctimas adultas con esclerosis múltiples, se ha encontrado bajos niveles del ácido aspártico, comparado con cerebros normales (Susuki. K., 1973). Esto sugiere que el rendimiento de la mielina está sustentada en cierta manera por los niveles de este aminoácido (Trotter J.L., 1984).

Otros estudios realizados en ratones demostró que el ácido aspártico tiene una actividad indirecta en la síntesis y reparación de la vaina de mielina debido a su acción para desencadenar el aumento de los neuroesteroides cerebrales, que a su vez son capaces de aumentar la síntesis de la mielina y al mismo tiempo proteger las neuronas frente a lesiones externas (Afraei, 2017). Además, se conoce que las concentraciones de este aminoácido juega un papel importante en el proceso de envejecimiento tisular y senescencia y que pueden estar asociadas con patologías cerebrales anormales como Alzheimer, Parkinson, Esquizofrenia, esclerosis múltiple, etc. (Helfman P.M., 1977), (Kuhn, 1958).

### 10.1.3 Treonina

La Treonina es un potente precursor de la Glicina y la Serina, La Treonina se encuentra en el sistema nervioso central, en músculos esqueléticos y el miocardio (corazón). Su símbolo es T en código de una letra y Thr en código de tres letras

La Treonina interviene en la producción de neurotransmisores, estos son la clave en la transmisión de información por parte de nuestro cerebro y los encargados de nuestro estado de ánimo y felicidad. También participa en la formación de colágeno, en la síntesis de elastina y en la elaboración del esmalte de dientes y uñas.

Las principales características de este aminoácido son las siguientes:

- Es un aminoácido esencial que promueve el crecimiento normal de los músculos y tendones.
- Favorece al sistema cardiovascular, el sistema nervioso central, y al hígado.
- Definitivamente es uno de los mejores suplementos para conciliar el sueño.
- Es necesaria para crear Glicina y Serina, dos aminoácidos necesarios para la producción de colágeno, elastina y tejido muscular.
- Ayuda a mantener los tejidos conectivos y los músculos de todo el cuerpo, incluyendo el corazón, donde se encuentra en cantidades significativas.
- Fortalece los huesos y el esmalte de los dientes.
- Acelera la curación o la recuperación de una lesión producida por una herida.
- En el sistema inmunológico ayuda en la producción de anticuerpos, debido a que se encuentra en gran medida en el sistema nervioso central, pudiendo ser útil en el tratamiento de algunos tipos de depresión.
- Evita que las grasas se acumulen en el hígado, reduciendo la posibilidad de insuficiencia hepática.

También puede ser útil para el tratamiento de la enfermedad de Gherig Lou, también conocida como la esclerosis lateral amiotrófica (ALS), debido a que aumenta los niveles de glicina en el sistema nervioso central, o reducir los síntomas de la esclerosis múltiple.

Evidencia temprana sugiere que la Treonina es un aminoácido que se produce de manera natural, podría ser capaz de disminuir la espasticidad muscular que con frecuencia ocurre con la

esclerosis múltiple. Estudios de doble ciego hallaron una mejora modesta pero estadísticamente significativa en la espasticidad muscular entre personas que tomaron Treonina en comparación con aquellas que tomaron placebo (Lee A, 1993), (Hauser SL, 1992).

Por otra parte, la administración intraperitoneal de Treonina aumenta las concentraciones de glicina en la médula espinal de rata. Los contenidos de glicina también aumentaron en los sinaptosomas preparados a partir de médulas espinales de animales tratados previamente con Treonina. Estos hallazgos sugieren que las concentraciones plasmáticas de Treonina normalmente podrían afectar la producción de glicina por las neuronas del sistema nervioso central, y también que la Treonina exógena podría ser útil para modificar la transmisión glicinérgica (Maher, 1980).

Otro estudio, ha encontrado que este aminoácido juega un rol esencial en la neurotransmisión de las neuronas, neurogénesis y maduración nerviosa del sistema nervioso central, además de aumentar los niveles de NGF, dopamina, serotonina, glicina y GABA en la corteza cerebral y el hipocampo en roedores (Yamada, 2007).

## 10.2 Neurotransmisores: óxido nítrico y ácido glutámico en el sistema nervioso

### 10.2.1 Óxido nítrico

El óxido nítrico (NO) es un gas lipofílico que atraviesa fácilmente las membranas celulares. En ensayos biológicos, el NO tiene una vida media del orden de 5 a 30s (Ignarro, 1987); su fórmula química es  $N=O$ , y debido a que contiene un electrón no apareado es un radical libre que, como otros de su clase, reacciona rápidamente con otras moléculas (Palmer R. M., 1987).

El NO es un mensajero no tradicional, denominado factor relajante derivado del endotelio. Fue identificado al inicio de la década de los noventa como neurotransmisor parasimpático inhibitorio no adrenérgico no colinérgico. La importancia de este mensajero se debe a su gran participación en una gran variedad de procesos fisiológicos y fisiopatológicos. En los sistemas biológicos puede actuar como un agente oxidante o reductor. En el sistema nervioso central, el NO contribuye principalmente a acoplar el nivel de actividad cerebral con la irrigación de la circulación sanguínea al encéfalo y otras funciones como la diferenciación de las células gliales.

Además este neurotransmisor dirige el crecimiento de las terminaciones nerviosas, además de regular la supervivencia y migración neuronales, así como la diferenciación de las células gliales y liberación de neurotransmisores (Edelman M, 1992).

En el hipocampo el NO participa en la potenciación a largo plazo, actuando como mensajero retrogrado al ser producido en terminaciones postsinápticas como respuesta a un estímulo (p. ej. glutamato) difundiendo hacia las neuronas presinápticas en las que aumenta la liberación de neurotransmisores (G., 1999).

El NO se ha encontrado en todo tipo de células animales y vegetales en donde se ha detectado el aminoácido precursor L-arginina, el cual se oxida para producir el intermediario Nhidroxi-L-arginina y finalmente la L-citrulina y NO (Kerwin Jr, 1994), (Palmer R. M., 1988). En estas reacciones participan una familia de enzimas, la sintasa de óxido nítrico (NOS), que son tres moléculas estructuralmente parecidas, pero con características peculiares cada una en cuanto a su activación bioquímica.

Los nombres de estas enzimas reflejan el origen del tejido en que fueron encontradas: la NOS neuronal (nNOS), la NOS endotelial (eNOS) y la NOS inducible (iNOS) o de los macrófagos. Para activarse e iniciar la síntesis del óxido nítrico, las NOS neuronal y endotelial requieren del complejo  $Ca^{2+}/CaM$  (Bredt D. S., 1990), a diferencia de la inducible, que se activa por citosinas (Kerwin Jr, 1994) y otras sustancias que se producen en las respuestas inmunológicas. La NOS se ha localizado por inmunohistoquímica e hibridación in situ en neuronas y endotelio vascular que irriga al cerebro, además de las células gliales (Dinerman J, 1994).

La nNOS regula la síntesis de óxido nítrico en la neurotransmisión no adrenérgica y no colinérgica en el sistema nervioso autónomo que inerva los sistemas gastrointestinal y genitourinario, y el tracto respiratorio (Rand, 1995). En el sistema nervioso central, la nNOS participa en la regulación del flujo sanguíneo cerebral, la neurotransmisión excitatoria y la plasticidad cerebral (White, 2000), (Haley, 1992). La eNOS es responsable de la actividad relajante de los vasos sanguíneos, regula el tono vascular y la presión sanguínea, inhibe la agregación plaquetaria y bloquea la activación y adhesión de los leucocitos (RADOMSKI M, 1987). La iNOS participa en la inmunidad celular y en los mecanismos de defensa contra células tumorales y organismos patógenos. En el sistema nervioso, su síntesis se induce en los astrocitos

cuando se produce daño celular, infecciones virales, trauma o isquemia. En estos casos, la iNOS sintetiza óxido nítrico por periodos largos, lo que provoca daño neuronal (Murphy S. , 2000).

#### 10.2.1.1 Óxido nítrico y neurotransmisión

Como fue mencionado anteriormente, la síntesis del NO es iniciada por la liberación presináptica de ácido glutámico y es considerada una continuación de la señalización glutamatérgica (Bolaños J, 1997). Gracias a esta liberación, el NO se une a receptores NMDA (n-metil-d-aspartato), AMPA/kainato y metabotrópicos. Dicha unión produce, por diferentes mecanismos, un incremento en la concentración de  $Ca^{2+}$ , que activa diferentes proteínas y cascadas de segundos mensajeros. Entre estas proteínas se encuentra la calmodulina (CaM) que forma el complejo  $Ca^{2+}/CaM$  (STUEHR, 1997), (Schmidt, 1992), que a su vez se une a la sintetasa del nNOS y produce cambios en su conformación; éstos facilitan la oxidación de la Arginina para sintetizar la Citrulina y el NO. Este último se difunde rápidamente en dirección retrógrada a la neurona presináptica (Schuman, 1994), donde se une a la guanilato ciclasa y activa la síntesis de GMPc (monofosfato de guanosina cíclico) (ZHAO Y, 1999), o bien, modifica la liberación de neurotransmisores como acetilcolina, aspartato o glutamato. También puede regresar a su sinapsis original e influir en la liberación de neurotransmisores de sinapsis adyacentes (OHKUMA S, 2001). Además a travez de este proceso es activada la proteína quinasa de serina o treonina, lo que resulta en la regulación de diferentes procesos intra celulares.

En la tabla 20, muestra ejemplos de los diferentes neurotransmisores cuya liberación es modulada por NO (Montague, 1994). Los métodos de liberación utilizados son distintos, así como las estructuras cerebrales y los donadores de NO. Cuando se utilizan donadores de NO, se incrementa la liberación de neurotransmisores; el efecto contrario se observa cuando se utilizan inhibidores. En el sistema nervioso periférico, la síntesis de NO se activa por glutamato, bradicinina, serotonina, acetilcolina, histamina, endotelina-1 y sustancia P.

Tejido*	Donadores o Inhibidores	Métodos	Neurotransmisor	Liberación
Estriado	SNP, SNAP	microdiálisis	acetilcolina	aumenta
Estriado	L-NMMA	microdiálisis	acetilcolina	disminuye
Estriado	L-arginina	microdiálisis	dopamina	aumenta
Hipocampo	hidroxilamina	Cortes	norepinefrina	aumenta
SNP, SNAP	microdiálisis	GABA glutámico	aumenta	aumenta

Abreviaturas: SNP, nitroprusiato de sodio; L-NMMA, L-nitro-monometil-arginina; SNAP, S-nitroso-N-acetilpenicilamina; GABA ácido gama amino butírico, \*especie=rata

Tabla 20 Modulación de la liberación de neurotransmisores y óxido nítrico (Talavera-Cuevas, 2003)

En la tabla 20, se puede apreciar que el NO presenta una interacción con los neurotransmisores acetilcolina y norepinefrina o noradrenalina que son vitales en la enfermedad de Alzheimer. Por otra parte la dopamina es un neurotransmisor con clave para la enfermedad de Parkinson.

La distribución anatómica del NO se determina mediante diferentes técnicas histológicas como las inmunohistoquímicas en las cuales se utilizan anticuerpos específicos para las tres diferentes sintetetas. En caso de la nSON se encuentra principalmente en neuronas, la iSON aparece en las células gliales, pero sólo se expresa en casos de lesión cerebral o en enfermedades neurodegenerativas. A su vez, la eNOS se localiza en las fibras nerviosas que rodean los vasos sanguíneos cerebrales, así como en las células endoteliales de éstos. Todas las áreas donde el NO actúa como mensajero constituyen el sistema de neurotransmisión nitrérgico. Las regiones cerebrales que más expresan la NOS son en el cerebelo, hipocampo y bulbo olfatorio; corteza cerebral, cuerpo estriado, en general, región anterior del cerebro. Los ensayos de actividad de la NOS reflejan una distribución similar: mayor actividad en el cerebelo y algunas regiones límbicas, baja actividad en estriado, hipocampo y corteza cerebral. En la tabla 21 se muestran los sitios anatómicos en los que se detectó la presencia de estas enzimas.

S.N. Central	Cerebelo, bulbos olfatorios, núcleos pedunculopontinos, núcleos tegmentales, hipocampo, núcleos supraópticos, colículos superiores e inferiores, corteza cerebral, cuerpo estriado, médula espinal, corteza, amígdala.
S.N. Periférico	Tracto respiratorio, músculos anocóxicos, tracto urinario, útero, pene, corazón, vejiga, tracto gastrointestinal.

Tabla 21 Distribución de las sintetas de NO en el sistema nervioso (Talavera-Cuevas, 2003)

Para terminar se ha encontrado que la administración profiláctica subaguda de zinc en presencia de NO promueve la supervivencia celular, mediante la inducción de la expresión de quimiocinas

y factores de crecimiento como: BDNF y NGF a través de la vía de señalización de ERK y NFκB. Además también se presentan los siguientes efectos:

- Previene la disfunción endotelial a través de la expresión de eNOS en la fase temprana.
- Promueve el proceso regenerativo a través de la expresión de iNOS en la fase tardía.
- Regula el transcriptoma neurogénico.
- El NO regula genes involucrados en la diferenciación neuronal a los 7 días post-reperusión.

También la presencia de zinc y NO tiene un efecto epigenético sobre el transcriptoma de genes neurogénicos, promoviendo factores de crecimiento, quimiocinas, genes de proliferación, diferenciación, migración y maduración, rescatando a la neurona de la muerte celular (Blanco Álvarez, 2017).

De hecho el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y NO están relacionados íntimamente en procesos vasculogénesis y neurogénesis neuronal y estos procesos han sido reportados en estudios efectuados en el hongo HE (Cho, 2019).

#### 10.2.1.2 Óxido nítrico y neurotrofinas

El estudio del NO en el sistema nervioso central ha permitido conocer la importancia que tiene esta molécula en la neurotransmisión como mensajero celular atípico, que interactúa con diferentes moléculas blanco para producir efectos directos e indirectos que activan diferentes rutas de señalización intracelular. Su efecto en la relajación de los vasos sanguíneos cerebrales y su acción en diferentes enfermedades neurodegenerativas, al sintetizarse en las células gliales, son parte de las diversas funciones de esta molécula en el sistema nervioso, donde además actúa en procesos de plasticidad cerebral. Debido a la importancia funcional que tiene esta molécula para el organismo, su estudio es amplio y variado, y permite conocer diferentes mecanismos ocupados por la célula tanto en las neuronas como en la glía.

La relación que existe entre el NO y las diferentes neurotrofinas esta relacionada en diferentes aspectos. En el caso de la BDNF, se conoce que esta neurotrofina actúa a través de su Trk B relacionado con la tropomiosina, aumentando la producción de NO, así como modulando la

diferenciación y la supervivencia neuronal y juega un papel crucial en la plasticidad sináptica, como la potenciación a largo plazo (Biojone, 2015). Por otra parte, estudios han encontrado que la BDNF esta mediado por NO y juegan ambos un papel neuroprotector. (Caviedes Avendaño, 2011). Se ha concluido que la neurotrofina BDNF y NO son elementos neuroprotectores en neuronas cordicales pero no hipocampales, lo que podría convertirse en una alternativa terapéutica en patologías que involucran muerte neuronal por excitotoxicidad (Rogers, 2009).

En el caso de neurotrofina NT-3, se ha encontrado que el tratamiento de los macrófagos con NT-3 aumenta la secreción de NO en los macrófagos tratados con lipopolisacárido, jugando un papel importante en la función de los macrófagos durante las respuestas inflamatorias y en la reparación de tejidos (Barouch, 2001). También, se han encontrado en el endotelio pulmonar en humanos que las neurotrofinas NT inducen la producción de NO contribuyendo así a la vasodilatación (Meuchel, 2011).

Para el caso de NGF, se conoce que esta neurotrofina esta presente en células de Schwann, las cuales son estimuladas en presencia del NO, lo que sugiere que existe una interacción compleja de NO-NGF en la comunicación neurona-glia (Thippeswamy, 2007). Además, se ha encontrado que el NO ayuda en la supervivencia celular y promueve los efectos del factor de crecimiento NGF en el síndrome de alcoholismo fetal, logrando efectos neurotróficos y efectos neuroprotectores disminuyendo la muerte celular inducida por el alcohol (Bonthius D. J., 2003).

Investigaciones han encontrado que la producción de NO mediado por la nNOS participa como un neuromodulador de la actividad sináptica y tiene un efecto importante en la diferenciación neuronal, la supervivencia y la plasticidad sináptica durante la neurogénesis tanto en el desarrollo como en adultos (Sun, 2005). De hecho, hay evidencia de que el NGF promueven efectos de sobrevivencia a través de la vía NO/cGMP/PKG en cultivo celular, resaltando la importancia del NO sobre la sobrevivencia neuronal (Bonthius D. J., 2003). Además de desempeñar un papel importante en el crecimiento neuronal durante el desarrollo posnatal en el hipocampo, provocado por la presencia de NGF y BDNF logrando una resistentes a los procesos de envejecimiento neuronal (Hayakawa, 2008).

Finalmente, se sabe que el NO esta implicado en el desarrollo neuronal, la plasticidad y las alteraciones de la función sináptica y en el crecimiento y la remodelación de neuritas del hipocampo. Además de que el NO puede sustituir al NGF, retrasando la muerte de las células

PC12 privadas de factor trófico a través de un mecanismo que no implica una acción inhibitoria (Neurosci., 2012).

#### 10.2.1.2 Óxido nítrico y efectos tóxicos

La biología molecular moderna ha revelado que las características cruciales de la comunicación neuronal, la modulación de los vasos sanguíneos y la respuesta inmune están mediadas por el NO. En el cerebro, el NO funciona como neuromodulador y parece mediar aspectos del aprendizaje y la memoria. La sobre activación de los receptores de glutamato asociada con la isquemia cerebral y otros procesos excitotóxicos da como resultado una liberación masiva de NO. Como radical libre, el NO es inherentemente reactivo y media la toxicidad celular al dañar las enzimas metabólicas críticas y al reaccionar con el superóxido para formar un oxidante aún más potente, el peroxinitrito. A través de estos mecanismos, el NO parece jugar un papel importante en la fisiopatología del accidente cerebrovascular, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington y la esclerosis lateral amiotrófica (Bredt D. S., 1999).

El incremento en la concentración de NO en el sistema nervioso central se correlaciona con diferentes enfermedades neurodegenerativas, así como con infecciones virales como lo son: depresión, enfermedad de Huntinton, Alzheimer, Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, migraña, epilepsia, encefalitis autoinmune y viral, esclerosis múltiple, etc. En estos casos, la iSON inducible se expresa en la glía y produce cantidades excesivas de NO (Murphy, 2000), así como citocinas y otras especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, que son productos de la respuesta inmune desencadenada por el virus y que se piensa contribuyen a la lesión o disfunción del sistema nervioso central (LANE T, 1996). Los virus en que se ha probado que producen este efecto en modelos experimentales son el de la hepatitis, el de la coriomeningitis y el VIH tipo I, donde el efecto del NO parece ser benéfico para el organismo, pero no totalmente dañino para el virus (Talavera-Cuevas, 2003).

Otros casos son la esclerosis múltiple y de la encefalomiелitis autoinmune (modelo en animales), pues ambas enfermedades se caracterizan por la pérdida de mielina de los axones. En estas patologías se produce daño en la barrera hematoencefálica que permite la infiltración de monocitos y linfocitos, así como la activación de la glía que contribuye a la producción de

citocinas y NO (Merrill, 1996). Mediante técnicas inmunohistoquímicas se determinó la presencia de la iNOS en macrófagos y microglia. Sin embargo, no se sabe si la síntesis de NO tiene efectos dañinos o protectores ya que, en estudios donde se utilizó el modelo de encefalomiелitis autoinmune en ratones carentes de iNOS (FENIK-MELODY J, 1988), la enfermedad fue más aguda y prolongada, lo cual puede estar relacionado con la actividad inmunosupresora del NO (Okuda, (1997).), o bien, como sugieren otros estudios, actúa como protector en el sitio de la enfermedad.

Se sabe que el NO no es altamente reactivo a pesar de ser un radical libre, sólo reacciona con facilidad con otros radicales libres y metales de transición (Beckman J, 1996). Tiene afinidad por átomos metálicos y grupos sulfhidrilo en proteínas como guanilato ciclasa, el receptor glutamatérgico para NMDA, citocromo C y aconitasa, entre otras (Muñoz-Fernández M, 1998). Por otra parte, al NO se le atribuyen efectos protectores, como el evitar la muerte celular por apoptosis, así como reducir la toxicidad del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y la peroxidación de lípidos. El NO evita el ensamble de la oxidasa de NADPH, que es la principal enzima responsable del estrés oxidante durante una respuesta inmune celular (Wink D, 1999).

### 10.2.2 Ácido Glutámico

El ácido glutámico se considera como uno de los más importantes mediadores en la transmisión de señales excitatorias en el sistema nervioso central de los animales vertebrados y también es necesario para el funcionamiento normal del cerebro, así como para el desarrollo cognitivo, la memoria, aprendizaje y cognición. A pesar de no ser un aminoácido esencial para los humanos, el glutamato (la forma ionizada del ácido glutámico) tiene importantes implicaciones nutricionales para el crecimiento animal y se ha planteado que posee un valor nutritivo mucho mayor que el de otros aminoácidos no esenciales (Fonnum, 1984). Por otra parte, las concentraciones elevadas de este neurotransmisor es un potente tóxico capaz de provocar la muerte a neuronas y oligodendocitos (Choi, 1992).

Este aminoácido es especialmente abundante en el cerebro, sobre todo en el espacio intracelular (citosol), lo que permite la existencia de un gradiente entre el citosol y el espacio extracelular, que es delimitado por la membrana plasmática de las células nerviosas. Debido a que tiene

muchas funciones en las sinapsis excitatorias y a que ejerce sus funciones actuando sobre receptores específicos, su concentración se mantiene en niveles controlados, especialmente en el ambiente extracelular.

Los sitios de mayor concentración de glutamato son los terminales nerviosos, no obstante, su distribución está condicionada por las necesidades energéticas de las células de todo el cuerpo. Dependiendo del tipo de célula, cuando el ácido glutámico entra a la misma puede ser dirigido hacia la mitocondria, con fines energéticos, o puede redistribuirse hacia vesículas sinápticas y ambos procesos emplean sistemas específicos de transporte intracelular.

Una de las funciones fisiológicas más populares del ácido glutámico en el cuerpo de la mayor parte de los vertebrados es su participación como neurotransmisor excitador en el cerebro. Se ha determinado que más del 80% de las sinapsis excitatorias se comunican empleando glutamato o alguno de sus derivados. El glutamato también está relacionado con el desarrollo del sistema nervioso, con la iniciación y la eliminación de la sinapsis y con la migración, la diferenciación y la muerte celular. Es importante para la comunicación entre órganos periféricos como el tracto alimentario, el páncreas y los huesos (Okumoto, 2016).

Adicionalmente, el glutamato tiene funciones tanto en los procesos de síntesis proteica y peptídica, como en la síntesis de ácidos grasos, en la regulación de los niveles celulares de nitrógeno y en el control del balance aniónico y osmótico. Sirve como precursor para diferentes intermediarios del ciclo de ácidos tricarboxílicos (ciclo de Krebs) y también de otros neurotransmisores como el GABA. A su vez, es precursor en la síntesis de otros aminoácidos como la L-Prolina, la L-Arginina y la L-Alanina.

Las neuronas glutamatérgicas extienden su acción a lo largo del eje encefalomedular. Las terminales glutamatérgicas establecen contactos en alta proporción con espinas dendríticas, estructuras sobre las cuales existen mayores indicios de plasticidad morfofuncional y que se asocian a los procesos integrativos más complejos. El papel del ácido glutámico y su disfunción ha ganado importancia en neurología y en psiquiatría, en la medida en que se ha profundizado en el conocimiento sobre su metabolismo, tipos de receptores, transportadores y mecanismos de homeostasis, cuya disfunción puede llevar a muerte neuronal (Medina Marín, 2002).

Diferentes enfoques farmacéuticos se basan principalmente en los receptores de ácido glutámico como blancos terapéuticos para el tratamiento de enfermedades psiquiátricas y otras patologías

relacionadas con la memoria. Se ha demostrado que el suministro de este aminoácido a ratas que han sido sometidas a tratamientos quimioterapéuticos incrementa las características inmunológicas del intestino, además de mantener y potenciar la actividad y las funciones de la mucosa intestinal. Puesto que el ácido glutámico sirve como precursor en la síntesis de diversos tipos de moléculas como aminoácidos y otros neurotransmisores.

El ácido glutámico es un mediador primario de la transmisión sináptica excitadora en el SNC y sus receptores están localizados en una variedad de núcleos hipotalámicos; algunos de los cuales son críticos para la reproducción y en la función neuroendocrina, por su relación con la pubertad, la neurogénesis y el comportamiento reproductivo (MEZA-HERRERA CA, 2011). También se ha visto que algunos factores de crecimiento neuroprotectores como el NGF incrementan el transporte de glutamato, sin que los niveles de ARN<sub>m</sub> se vean modificados (Mattson, 2000).

Las neuronas glutamatérgicas denominadas así por que utilizan el ácido glutámico como neurotransmisor, representan dos tercios de las neuronas de la corteza cerebral, también llamadas “contenedoras de zinc” por las altas concentraciones de este elemento en su citoplasma, estas neuronas tienen una función importante en la potenciación de la memoria a largo plazo, el aprendizaje y los procesos cognitivos (Frederickson CJ, 2005).

En el cuerpo neuronal, las vesículas contenedoras de zinc y glutamato son ensambladas en el aparato de Golgi, para luego, movilizarse a través del axón a la terminal pre sináptica, donde por exocitosis y posterior a un estímulo nervioso, liberan zinc y glutamato a la hendidura, elementos que luego son captados por los sitios de unión ionotróficos y metabotrópicos en los receptores de la membrana post sináptica. Existen tres tipos de receptores ubicados en las terminales sinápticas y post sinápticas capaces de captar el zinc y el glutamato libres en la hendidura y su nombre se deriva de sus agonistas sintéticos, NMDA (N-metil-D-aspartato), AMPA (alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4- isoxazole propionato) y kainato. El NMDA es el que tiene mayor importancia porque posee el más alto número de sitios de unión para el glutamato y el zinc (Frederickson CJ, 2005)..

La estrecha relación del zinc y el neurotransmisor glutamato, que en estas neuronas están almacenados y son liberados de manera conjunta, demuestran la importancia del zinc en la sinapsis glutamatergica y relacionan su función con los procesos bioquímicos de mielinización, liberación de neurotransmisores y modulación de la excitabilidad neuronal, participando activamente en los procesos cognitivos. El zinc permite la prolongación del estímulo excitatorio

ya que modula la liberación del glutamato como neurotransmisor propiciador del estímulo y GABA como inhibidor (Vergnano AM, 2014).

Experimentos han encontrado que existe una relación muy fuerte entre el ácido glutámico y NO, ya que al ser promovido uno el otro también lo hace. Estudios hechos en ratas, se encontró que la liberación del agonistas del receptor de la hormona luteinizante (LHRH) es estimulada por ácido glutámico e inducida por NO (Rettori, 1994). Por otra parte, se ha hallado que la oxitocina inyecta unilateralmente en el subículo ventral del hipocampo de ratas macho promueve la erección, además de aumentar las concentraciones de NO y ácido glutámico de manera extracelular en el cerebro. Este proceso es debido a las posibles proyecciones eferentes neurales (glutamatergicas) desde el subículo ventral hacia áreas cerebrales extrahipocampales que modulan la actividad de las neuronas dopaminérgicas mesolímbicas (Melis, 2010).

Otros estudios han encontrado que existen altas concentraciones de ácido glutámico y NO en el hipotálamo debido a eventos preovulatorio de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) que son esenciales para la reproducción de los mamíferos. Se cree que el glutamato provoca estos efectos al activar la liberación del neurotransmisor NO.

Finalmente, estudios han encontrado que los neurotróficos NGF y BDNF y el ácido glutámico están involucrados en las cefaleas tensionales o dolores de cabeza en condiciones patológicas, debido a la transmisión glutamatergica involucrada en la procesamiento del dolor de cabeza. La correlación significativa entre BDNF y los niveles de NGF sugieren que la regulación positiva de BDNF mediada por NGF en sitios centrales involucrados en la sensibilización a largo plazo juega un papel clave en el dolor de cabeza en pacientes (Sarchielli, 2002).

## 11.- MINERALES EN EL SISTEMA NERVIOSO

Entre las sustancias que intervienen en los fenómenos bioquímicos de los organismos hay un grupo de elementos minerales que son indispensables en numerosas funciones biológicas. Son parte de las estructuras somáticas y participan en tejidos y líquidos corporales, y a la vez facilitan el equilibrio electrolítico, activan reacciones bioquímicas y facilitan la transmisión nerviosa. El hongo HE contiene 8 minerales (sodio, potasio, fósforo, zinc, magnesio, cobre, manganeso y

calcio) esenciales para el mantenimiento y función del sistema nervioso. A continuación describiremos brevemente cada uno de ellos y su importancia.

### 11.1 Sodio

Los impulsos nerviosos necesitan una fuente de energía para trabajar y, para ello, se nutren del sodio, el noveno elemento esencial para la vida. Este mineral representa el 0,15% del cuerpo humano y junto con el potasio, mantiene el llamado potencial de membrana, que es fundamental a la hora de generar impulsos nerviosos para la función cardíaca, la contracción muscular y el transporte de nutrientes. Además, también es necesario para controlar la presión arterial y el volumen sanguíneo.

Este mineral es de extrema importancia para numerosos procesos metabólicos del cerebro y todo el organismo, en circunstancias en que el organismo sufre una pérdida masiva de sodio, esto puede causar daño en determinadas sustancias del tronco cerebral e incluso comprometer la vida.

### 11.2 Potasio

Las células que forman el sistema nervioso, o neuronas, son células especializadas en recibir y enviar señales, y tienen múltiples prolongaciones por las que entran y salen dichas señales. Así, el potasio actúa como carga eléctrica en movimiento por la célula generando algunos cambios en el voltaje y en la corriente de los axones que producen que se sientan determinadas sensaciones frente a algo caliente, frío, salado, duro, etc. El potasio, es el mineral que aparece en mayor cantidad en el cuerpo humano después del calcio, y del fósforo, además es el encargado de mantener la presión normal en el interior y exterior de las células. También este ion regula el balance de agua en el organismo, y participa en el mecanismo de contracción y relajación de los músculos.

La investigación propone la especificidad de los iones de potasio en las células motoras permitiendo el paso del impulso nervioso en una sola dirección y adicionalmente el funcionamiento de la célula, en unos rangos de potencial específicos. El consumo del potasio contribuye a disminuir los problemas de aumento en la presión arterial, lo que a su vez ayuda a mantener sanos los vasos sanguíneos y con ello la circulación en el sistema nervioso, evitando accidentes cerebrales y mejorando las capacidades cognitivas de las personas.

### 11.3 Fosforo

Entre todos los nutrientes que participan en el desarrollo y el mantenimiento del sistema nervioso, el fósforo es el más reconocido, debido a que juega un papel muy importante en el crecimiento y lactancia en menores para el desarrollo de capacidades cognitivas e incluso problemas neurológicos.

En el sistema nervioso en adultos, el fósforo es indispensable para el correcto funcionamiento de las neuronas, pero también de todas las demás células ya que forma parte de sus membranas. De hecho, participa en muchas otras estructuras como los huesos o el material genético, así como la modulación de neurotransmisores cerebrales. El fósforo activa y desactiva enzimas y proteínas, mediante la pérdida o ganancia de grupos fosfatos así como de promover el aumento del factor de crecimiento de fibroblastos 23, regular las hormonas paratiroideas.

### 11.4 Zinc

Después del hierro, el zinc es el oligoelemento más abundante en el tejido nervioso; aunque la mayor parte del zinc forma una fracción estable, fuertemente unida a moléculas y complejos moleculares. Una pequeña proporción, 10-15% del zinc total en cerebro, permanece en forma iónica y se concentra en el interior de compartimentos membranosos.

Este elemento juega un papel de suma importancia en las funciones mediadas por neurotransmisores, actuando como modulador de la excitabilidad neuronal. La liberación adecuada del zinc, el organismo utiliza compuestos receptores celulares para neurotransmisores como los opiodes, la serotonina, la dopamina, los cannabinoides y la noradrenalina.

La deficiencia de zinc afecta al desarrollo cognitivo, cerebral y sexual en niños y adolescentes, además de causar cuadros de depresión, trastornos de humor, neurodegeneración, depresión y memoria.

### 11.5 Magnesio

El magnesio es ese mineral esencial que lleva a cabo más de 600 funciones metabólicas y actúa como un gran protector cerebral. De hecho, sus beneficios para mejorar los estados crónicos de estrés y ansiedad. Es un modulador y un potenciador de la buena salud y en especial de la salud neurológica, ya que ayuda en trastornos de insomnio, psicológica, demencia y mejora la agilidad cognitiva.

Está considerado el mineral antiestrés porque equilibra el sistema nervioso central influye sobre el sistema neurológico, favorece el sueño y la relajación y ejerce una eficaz acción sedante que consigue atenuar y reducir de forma considerable los nervios. De hecho, las condiciones de estrés crónico que envuelven la existencia moderna aumentan las necesidades diarias de magnesio, ya que este mineral nos proporciona tranquilidad cuando es necesario y favorece nuestra capacidad de trabajo en el ámbito laboral y cotidiano.

## 11.6 Cobre

Este mineral tiene una función muy importante en el sistema nervioso. En el cerebro, el cobre es esencial para la correcta formación del cerebro y sistema nervioso. También desempeña un papel fundamental a la hora de crear neurotransmisores.

La mayor concentración de cobre en el cuerpo humano se encuentra localizado principalmente en el hígado y en el cerebro y es importante para el desarrollo neuronal y los nervios. La deficiencia de cobre puede incluir trastornos que pueden incluir deficiencias en las células sanguíneas, anomalías en el tejido óseo y conjuntivo, y desórdenes neurológicos.

El cobre es un cofactor para múltiples enzimas, denominadas, como cuproenzimas y están asociadas para el funcionamiento normal del cerebro y el sistema nervioso. En el caso de la síntesis de neurotransmisores, la dopamina β hidroxilasa cataliza la conversión de la dopamina para el neurotransmisor norepinefrina. Para la formación y mantenimiento de la mielina, la envoltura de la mielina está hecha de fosfolípidos cuyas síntesis dependen de la actividad de la citocromo c oxidasa.

## 11.7 Manganeso

El manganeso es un elemento nutritivo esencial y es importante ingerir una pequeña cantidad diariamente para mantener buena salud. El déficit de Mn en la dieta puede producir anomalías congénitas, problemas en la reproducción, desórdenes de movimiento y alteraciones en el metabolismo de lípidos y carbohidratos. Además los niveles bajos de manganeso en la sangre y el cerebro esta relacionado con las convulsiones y epilepsia, así como la exposición crónica esta asociada con enfermedades neurodegenerativas y disfunción glial.

Por otra parte, recientemente se ha relacionado que los niveles de manganeso presentan un control sobre eje hipotálamo-hipofiso-reproductivo que se expresa a través de la estimulación pulsátil de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) sintetizada en las neuronas hipotalámicas, la cual esta ligada al óxido nítrico a través de la nNOS y diferentes neurotransmisores.

## 11.8 Calcio

El calcio es un mineral esencial para el funcionamiento del cerebro pues desempeña un papel central como mensajero de las células nerviosas. También regula la neurotransmisión, controla la excitabilidad nerviosa y es un elemento central en el proceso de muerte y recuperación neuronal . El calcio se requiere para la contracción apropiada del músculo, incluyendo los que ocurren dentro de las paredes de los vasos sanguíneos. El calcio también se utiliza para ayudar a la secreción de hormonas y de enzimas. El calcio juega un papel en mantener un latido del corazón constante, así como el transporte de iones a través de las membranas celulares.

## 12.- CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

### 12.1 Conclusiones

A continuación se enumerarán las conclusiones más relevantes de este trabajo de tesis

1.- El hongo *Hericium Erinaceus* posee 17 de 20 aminoácidos, que ayudan para formar diferentes proteínas en el cuerpo humano.

2.- El hongo *Herichium Erinaceus* contiene en su cuerpo fructífero 8 minerales, que son esenciales para el mantenimiento y supervivencia del sistema nervioso.

3.- Los aminoácidos Ser, Glu, Asp y Thr son las moléculas predominantes en el hongo *Herichium Erinaceus*, abarcando un 46.3 % de la composición total.

4.- Los resultados de las interacciones de las 58 bio-moléculas del hongo *Herichium Erinaceus* con respecto a los 20 aminoácidos analizados a través de la TCTEQC da como resultado 27 de ellas que presentan una alta probabilidad. Dentro de ellas se encuentran: Erinacinas (B, C, D, E, I, J, K, P, Q, R), Hericenona (A, B, C, D, J), Erinacerin A, Erinapyrone B, Herierin III, 2,3,4,7-Tetrahydro, 2 6-Dimethoxy, Herierin IV, 3 5-Dimethoxy, 3 Beta-5 Alpha-dihydroxy, 4-Chloro-3,5-d, CP-412,065, Hericirine y Erinaceolactone C.

5.- El porcentaje de participación de los aminoácidos , Ser, Glu, Asp y Thr en las 27 moléculas con alta probabilidad de ser antioxidante en hongo *Herichium Erinaceus* es de 72.16 %, lo que indica que estas moléculas son predominantes.

6.- El porcentaje aproximado de participación de Ser, Glu, Asp y Thr en las secuencias de aminoácidos presentes en las neurotrofinas es cercano a 25%.

7.- Basado en los resultados de TCTEQC y los mapas de aminoácidos de las neurotrofinas, concluimos que los factores NGF y NT-3 son las principales proteínas que promueven la supervivencia y la neurogénesis en el sistema nervioso, debido a que sus dipéptidos, tripéptidos y tetrapéptidos son los que presentan mayor número de interacciones con el óxido nítrico y ácido glutámico. Posiblemente esto se debe a que la NT-3 puede acoplarse también al receptor Trk A, que es el receptor del NGF.

8.- Los dipéptidos que presentan alta probabilidad de interacción con el óxido nítrico son Asp/Ser, Ser/Thr, Asp/Thr, Glu/Asp, Thr/Glu, Ser/Glu, Thr/Asp, Ser/Ser y Ser/Asp, mientras que el Asp/Ser interactúa además con el ácido glutámico.

9.- Los tripéptidos que presentan alta probabilidad de interacción con el óxido nítrico son Asp/Thr/Glu, Thr/Ser/Glu y Asp/Ser/Thr, mientras que el Asp/Ser/Thr interactúa además con el ácido glutámico.

10.- El tetrapéptido que presentan alta probabilidad de interacción con el óxido nítrico es Ser/Asp/Ser/Thr.

#### 11.- Serina

A continuación se enumera los aspectos más relevantes de la acción de este aminoácido en el sistema nervioso.

- La Serina es el aminoácido de mayor concentración en las neurotrofinas NGF y NT-3.
- Este aminoácido promueve el función general del sistema nervioso ya que ayuda al funcionamiento del cerebro, transmisión de mensajes y mantenimiento de la mielina.
- La presencia de Serina es esencial para formar triptófano, que a su vez se utiliza para generar la serotonina. La serotonina es utilizada por el cerebro para regular el estado de ánimo, la depresión y la ansiedad.
- La falta de esta molécula, se manifiesta normalmente como trastorno neurometabólico, microcefalia, trastornos del desarrollo neurológico y convulsiones.
- Las funciones de la Serina como factor neurotrófico derivado de la glía es esencial para la supervivencia y el desarrollo de las neuronas en el sistema nervioso central.

#### 12.- Treonina

A continuación se enumera los aspectos más relevantes de la acción de este aminoácido en el sistema nervioso.

- La Treonina es un amonoácido que encuentra en el sistema nervioso central, en músculos esqueléticos y el miocardio, por ello es considerado una molécula protectora o reguladora del sistema neuromuscular.
- Es un potente precursor de la Glicina y la Serina.
- Es una molécula que actua muy de la mano con el Ácido Áspártico y Mitionina e interviene en la producción de neurotransmisores, ayudando al estado de ánimo, tranquilidad y felicidad.
- Es un aminoácido esencial que promueve el crecimiento normal de los tendones y favorecer al sistema cardiovascular y sistema nervioso central.
- En el sistema inmunológico ayuda en la producción de anticuerpos, debido a que se encuentra en gran medida en el sistema nervioso central, pudiendo ser útil en el tratamiento de algunos tipos de depresión.
- Este aminoácido es útil para reducir los efectos de la enfermedad de Gherig Lou “esclerosis lateral amiotrófica” y esclerosis múltiple
- Es un neurotransmisor que esta implicado en procesos de neurogénesis y maduración nerviosa del sistema nervioso central.
- Aumenta los niveles de NGF, dopamina, serotonina, glicina y GABA en la corteza cerebral y el hipocampo.

### 13.- Ácido Aspártico

A continuación se enumera los aspectos más relevantes de la acción de este aminoácido en el sistema nervioso.

- Este aminoácido es un neurotransmisor cuya función es de carácter excitatorio del sistema nervioso central, además participa en la formación de glutamato.
- Ayuda a eliminar el amoniaco, protegiendo de esta forma el sistema nervioso.
- Es indispensable para el mantenimiento del sistema cardiovascular, en compañía del magnesio, el calcio y el potasio.
- Estimula las conexiones cerebrales aumentando los niveles de memoria, aprendizaje y equilibrio del cuerpo.

- Es un aminoácido presente en la materia blanca y en la mielina, jugando un rol muy importante para la función y mantenimiento de las vainas de mielina.
- La deficiencia de este aminoácido esta asociada con patologías cerebrales anormales como Alzheimer, Parkinson, Esquizofrenia, esclerosis múltiple, etc.

14.- Los oligopéptidos son moléculas con rápida absorción en el organismos que atraviesan fácilmente la barrera hematoencefálica llegando a las estructuras más profundas del cerebro. Su uso es amplio en el ramo farmacéutico para tratamiento de enfermedades autoinmune, inflamatorias y neurodegenerativas. Existen actualmente compuestos basados en oligopéptidos que promover la actividad funcional de las neuronas y glía, actuando como agentes que restauran la integridad estructural y funcional del tejido nervioso sin efectos tóxicos o traumáticos.

#### 15.- Oxido Nitrico

El óxido nítrico es una molécula que se encuentra implicado en la mayoría de trastornos neurológicas y mentales, debido a su gran participación en diferentes estructuras cerebrales en el sistema nervioso. Un rol importante de está molécula se centra en la participación en la vaso dilatación y regulación del flujo sanguíneo en todo el cerebro, logrando promover una mejor oxigenación y nutrición que se traduce en una cascada de procesos neuronales vitales.

El óxido nítrico en el sistema nervios central es vital para neurotransmisión como mensajero celular atípico, que interactúa con diferentes moléculas blanco para producir efectos directos e indirectos que activan rutas de señalización intracelular.

Su efecto en la relajación de los vasos sanguíneos cerebrales y su acción en diferentes enfermedades neurológicas, al sintetizarse en las células gliales, son parte de las diversas funciones de esta molécula en el sistema nervioso, donde además actúa en procesos de plasticidad cerebral y neurogénesis promoviendo el VEGF.

Debido a la importancia funcional que tiene esta molécula para el organismo, su estudio es amplio y variado, y permite conocer diferentes mecanismos ocupados por la célula tanto en las neuronas como la glía.

Esta bien documentado que esta molécula promueve la supervivencia celular, mediante la inducción de la expresión de quimiocinas y factores de crecimiento. También esta implicado en presentar efectos epigenético sobre el transcriptoma de genes neurogénicos, promoviendo las neurotrifinas BDNF, NT-3 y NGF, quimiocinas, genes de proliferación, diferenciación, migración y maduración, rescatando a la neurona de la muerte celular.

Aun que muchos estudios siguieren que el incremento en la concentración de óxido nítrico en el sistema nervioso central se correlaciona con diferentes enfermedades neurodegenerativas, no se sabe si la síntesis de esta molécula tiene efectos dañinos o protectores, por lo que actualmente la comunidad esta realizando investigación para aclarar estas interrogantes.

## 16.- Ácido Glutámico

El ácido glutámico es un neurotransmisor necesario para el funcionamiento normal del cerebro debido a su participación como neurotransmisor excitador en el cerebro. También tiene importantes implicaciones nutricionales, incluso mayor que el de otros aminoácidos no esenciales los cuales ayudan para el desarrollo cognitivo, la memoria y aprendizaje. El papel del ácido glutámico y su disfunción puede llevar a muerte neuronal y provocar diversos transtornos neuronales, gastricos y reproductivos.

El glutamato también está relacionado con el desarrollo del sistema nervioso, con la iniciación y la eliminación de la sinapsis y con la migración, la diferenciación y la muerte celular. Sirve como precursor para diferentes intermediarios del ciclo de ácidos tricarboxílicos y también de otros neurotransmisores como el GABA. A su vez, es precursor en la síntesis de otros aminoácidos como la L-Prolina, la L-Arginina y la L-Alanina.

Existe una relación muy cercana entre este neurotransmisor con las neurotrofinas y el NO. En caso del NO y el ácido glutámico se sabe por diferentes estudios que la síntesis de NO es producida por la liberación de ácido glutámico, por lo tanto, también debe haber una interacción o respuesta de las neurotrofinas por la entrucha relación que existe entre el NO con el BDNF, NT-3 y NGF.

## 17.- Conclusión Final

Como conclusión final podemos decir que el análisis de las diferentes biomoléculas del hongo *Hericiium Erinaceus* a través del estudio *in silico* y el uso de la TCTEQC, nos permitió encontrar las interacciones moleculares entre los diferentes aminoácidos y neurotransmisores.

Gracias al estudio se logró identificar los oligopéptidos (bipéptidos, tripéptidos y tetrapéptidos) con alta probabilidad de interacción con los neurotransmisores óxido nítrico y ácido glutámico y así correlacionarlos con los procesos de plasticidad y neurogénesis promovidos por las diferentes neurotrofinas y el NGF que eran desconocidos hasta ahora. La naturaleza biológica de estos oligopéptidos deben ser estudiados a mayor profundidad y realizar otros estudios *in vivo* y *in vitro*, para evaluar los efectos sobre los neurotransmisores promovidos.

Por último, podemos decir que los neurotransmisores hallados, están relacionados en las diferentes enfermedades neurológicas, bien sea en procesos de nacimiento, crecimiento o muerte neuronal, por lo que consideramos que su descubrimiento, ayudará a comprender mejor los procesos de plasticidad y neurogénesis otorgados al hongo *Hericiium Erinaceus*.

## 12.2 Trabajos a futuro

Este trabajo de tesis abre la posibilidad de generar por lo menos dos líneas de investigación relacionada con promoción de los factores neurotróficos por presencia de las moléculas bioactivas en el hongo *Hericiium Erinaceus*. La primera línea se enfoca en realizar la experimentación *in vitro* y *in vivo* de los resultados encontrados en este trabajo de tesis y la segunda línea de investigación se enfoca en ampliar el análisis cuántico a diferentes proteínas relacionadas con factores neurotróficos y correlacionarlos con los resultados encontrados.

Los trabajos futuros relacionados con la primera línea de investigación se centran en hacer uso de animales “ratas” de un biotério de una institución de prestigio para generar modelos transgénicos o farmacológicos con lesiones cerebrales de tipo neurológico específico a través de neurotóxicas para emular una patología en concreto. O bien, generar modelos con lesiones en axones “axotomía”. Estos modelos permitirían analizar la respuesta de crecimiento, plasticidad, reorganización y neurogénesis de las estructuras por de la ingesta de los diferentes oligopéptidos de manera individual. En estos modelos se establecería modelos de control, así como también modelos donde este involucrado la ingesta de micelio y del cuerpo fructífero del hongo *Hericiium*

Erinaceus. Otra prueba que se puede hacer a estos modelos es medir las concentraciones de nitritos y nitratos en el torrente sanguíneo para ver si existe alteraciones de los niveles de NO. Por último, también se realizarían otros dos tipos de pruebas, una relacionada con el registro poblacional a través de rebanadas sagitales de diferentes estructuras cerebrales “Hipotálamo, corteza, núcleo estriado, etc.” y la otra para medir la plasticidad a corto y a largo plazo por medio del protocolo de estimulación de pulso variado. Este último protocolo permite estimular las fibras neuronales a través de protocolos de estimulación eléctrica para recopilar información de las respuestas sinápticas de la población de células.

Los trabajos relacionados con la segunda línea de investigación, en primera instancia sería, analizar la familia completa de las proteínas que integran los factores de crecimiento, que presentan funciones hormonales y de neurotransmisión; Alrededor existen 100 diferentes clases de factores de crecimiento. Otro estudio que se puede hacer es analizar las proteínas receptoras de las neurotrofinas Trk A, B y C a través de los datos de las bases de datos de aminoácidos provistos por la NCBI; para así encontrar si en sus mapas de aminoácidos están presentes los diferentes oligopéptidos, de tal manera que se pueda ampliar los mecanismos de interacción entre las moléculas.

### 13.- BIBLOGRAFÍA

Calamusa, M. P. (2007). . Specific alterations of tyrosine hydroxylase immunopositive cells in the retina of NT-4 knock out mice. . *Vision research*, , 47(11), 1523-1536.

Cameron, H. A. (1998). Discussion point stem cells and neurogenesis in the adult brain. *Current opinion in neurobiology*, . 8(5), 677-680.

Campbell, S. C. (2013). Pharmacology and pharmacogenomics of neurological medications used in pregnancy. . *Clinical obstetrics and gynecology*, , 56(2), 305-316.

Lamprecht, R. &. (2004). . Structural plasticity and memory. *Nature Reviews Neuroscience*, , 5(1), 45-54.

LANE T, B. M. (1996). LANE T, BUCHMEIER M, WATRY D, FOX HS: Expression of inflammatory cytokines and inducible nitric oxide synthase in brains of SIV-infected Rhesus monkeys:applications to HIVinduced central nervous system disease. *Mol Med*,. *Mol Med*, , 2:27-37,.

Carlstedt, T. (1985). . Dorsal root innervation of spinal cord neurons after dorsal root implantation into the spinal cord of adult rats. *Neuroscience letters*, 55(3), , 343-348.

Caviedes Avendaño, A. A. (2011). *Caviedes Avendaño, A. A. (2011). Caracterización de una vía neuroprotectora mediada por la neurotrofina BDNF y óxido nítrico.* (2011). Caracterización de una vía neuroprotectora mediada por la neurotrofina BDNF y óxido nítrico. Chile: Univesidad de Chile.

- Lee A, P. V. (1993). A double-blind study of L-threonine in patients with spinal spasticity. . *Acta Neurol Scand* . , ;88:334 – 338.
- Lee E.W., S. K. (2000). Two novel diterpenoids, erinacines H and I from the mycelia of *Herichium erinaceum* //. . . . *Biosci. Biotechnol. Biochem* , P. 2402-2405.
- Lee JS, W. J. (2010). Effects of ascorbic acid and uracil on exo-polysaccharide production with *Herichium erinaceus* in liquid culture. . *Biotechnol Bioprocess* , Eng 15:453–45.
- Lee, E. W. (2000). Two novel diterpenoids, erinacines H and I from the mycelia of *Herichium erinaceum*. . *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 64(11), , 2402-2405.
- Leibinger, M. A. (2012). Role of mTOR in neuroprotection and axon regeneration after inflammatory stimulation. . *Neurobiology of disease*, , 46(2), 314-324.
- Leibrock J, L. F. (1994). Molecular cloning and expression of brain- derived neurotrophic factor. . *Nature* , 341, 149–152 .
- Chen, C. C. (2016). Erinacine S, a Rare Sesterterpene from the Mycelia of *Herichium erinaceus*. *Journal of natural products*, 79(2), , 438-441.
- Chen, J. Z. (2017). Genomic and transcriptomic analyses reveal differential regulation of diverse terpenoid and polyketides secondary metabolites in *Herichium erinaceus*. . *Scientific reports* .
- Levi-Montalcini. (1987). The nerve growth factor 35 years later. *Science* , 237, 1154–1162.
- LeWitt, P. A. (2008). Levodopa for the treatment of Parkinson's disease. . *New England Journal of Medicine*, , 359(23), 2468-2476.
- Lillien, L. E. (1985). Nerve growth factor is a mitogen for cultured chromaffin cells. . *Nature*, 317(6038), , 632-649.
- Li Yun, L. B., & Birnbaum, S. (2008). TrkB Regulates Hippocampal Neurogenesis and Governs Sensitivity to Antidepressive Treatment». *Neuron* 59 (3): , 399-412.
- Li, W. S. (2014). Erinacene D, a new aromatic compound from *Herichium erinaceum*.,. *The Journal of antibiotics*, 67(10) , 727.
- Li, W. Z. (2014). Hericirine, a novel anti-inflammatory alkaloid from *Herichium erinaceum*. *Tetrahedron Letters*, 55(30), , 4086-4090.
- Lindequist, U. N. (2005). the pharmacological potential of mushrooms. *Evid Based Complement Alternat Med* 2 , 285–299.
- Cho, K. O. (2019). Increased expression of vascular endothelial growth factor-C and vascular endothelial growth factor receptor-3 after pilocarpine-induced status epilepticus in mice. . *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, , 23(4), 281-289.
- Lodovichi C., B. N. (2000). Effects of neurotrophins on cortical plasticity: same or different? *J. Neurosci.* , 20, 2155–2165.
- Coelho, R. P.-B. (2009). . Neurotrophin-3 targets the translational initiation machinery in oligodendrocytes. . *Glia*, , 57(16), 1754-1764.
- Logan, A. A. (2006). Neurotrophic factor synergy is required for neuronal survival and disinhibited axon regeneration after CNS injury. . *Brain*, , 129(2), 490-502.

- Cohen, N. C. (2014). Chemical composition and nutritional and medicinal value of fruit bodies and submerged cultured mycelia of culinary-medicinal higher Basidiomycetes mushrooms. *International journal of medicinal mushrooms* , 16(3).
- Choi. (1992). Excitotoxic cell death. *J Neurobiol.* , 23:1261-1276.
- Choi, M. A. (2003). Characteristics of *Hericium erinaceus* and its extracts. *Korean J Food Preserv.* 560-564.
- Contestabile, A. (2001). Oxidative Stress in neurodegeneration: mechanism and therapeutic perspective”,. *Cur Top Med Chem.*, núm. 1, , pp. 553-568.
- Cordes, J. C. (2011). Total syntheses of angelicoin A, hericenone J, and hericenol A via migratory prenyl-and geranylation–aromatization sequences. *The Journal of organic chemistry*, 77(1), , 652-657.
- Lowry, O. H. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. , . *J. Biol. Chem.*, 191 , 265–275.
- Curtis, M. A. (2011). Neurogenesis in humans. *European Journals of Neuroscence* , 33(6) 1170-1174.
- 利局. (2015). *Patente nº 2015002706*. Japón.
- Aloe, L. R. (2015). Nerve Growth Factor: A Focus on Neuroscience and Therapy. . *Current neuropharmacology* , 13(3), 294–303.
- Afraei, S. D. (2017). Therapeutic effects of D-aspartate in a mouse model of multiple sclerosis. *journal of food and drug analysis* , 25(3), 699-708.
- Aihara, J. (1999). ReducedHOMO–LUMOGap as an index of kinetic stability for polycyclic aromatic hydrocarbons., . *The Journal of Physical Chemistry A*, 103(37) , 7487-7495. .
- Anke T, O. F. (1977). the striatins – new antibiotics from the basidiomycete *Cyathus striatus* (Huds. ex Pes.). *J Antibiot* , 30:221–225 .
- Arnone, A. C. (1994). Secondary mold metabolites: Part 46. Hericenones AC and erinapyrone C, new metabolites produced by the fungus *Herichium erinaceus*. *Journal of Natural products*, 57(5), , 602-606.
- Arora, V. P. (2018). Increased Grik4 gene dosage causes imbalanced circuit output and human Disease-Related behaviors. . *Cell reports* , 23(13), 3827-3838.
- Associates, W. (1980). *Official method of amino acid analysis*. . U.S.A: Amino acid analysis system in the operation manual of Waters Associates, ., p. 37 .
- Blanco Álvarez, V. M. (01 de Diciembre de 2017). Participación del óxido nítrico en la neurogénesis causada por la administración subaguda de zinc durante un proceso hipóxico-isquémico cerebral en rata. *Participación del óxido nítrico en la neurogénesis causada por la administración subaguda de zinc durante un proceso hipóxico-isquémico cerebral en rata*. Puebla, Puebla, México.
- Barde. (1989). Trophic factors and neuronal survival. *Neuron* 2, , 1525–1534.
- Barde, E. D. (1982). Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J* 1, , 549–553.
- Barouch, R. A. (2001). Macrophages express neurotrophins and neurotrophin receptors: regulation of nitric oxide production by NT-3. . *Journal of neuroimmunology* , 112(1-2), 72-77.
- Bavarsad Shahripour, R. e. (2011). The effect of NeuroAiD (MLC601) on cerebral blood flow velocity in subjects' post brain infarct in the middle cerebral artery territory. *Eur J Intern Med* , 22(5): p. 509-13.
- Bavarsad, S. R. (2011). The effect of NeuroAiD (MLC601) on cerebral blood flow velocity in subjects' post brain infarct in the middle cerebral artery territory. *Eur J Intern Med* , 22(5): p. 509-13.

- BDNF. (15 de SEP de 1995). *NCBI*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/CAA62632.1>
- Beckman J, K. W. (1996). Nitric oxide, superoxide, and peroxyxynitrite: the good, the bad, and the ugly. . *Am J Physiol* , 40:C1424-C37. .
- Benowitz, L. I. (2011). Inflammation and axon regeneration. *Current opinion in neurology*, . 24(6), 577-583.
- Bhandari, D. R. (2014). Analysis of cyathane-type diterpenoids from *Cyathus striatus* and *Herichium erinaceus* by high-resolution MALDI MS imaging. . *Analytical and bioanalytical chemistry*, 406(3), , 695-704.
- Bing-Ji, M. A.-C. (2012). Hericenone L, a new aromatic compound from the fruiting bodies of *Herichium erinaceus*. . *Chinese journal of natural medicines*, 5(10), , 363-365.
- Biojone, C. C. (2015). Interplay between nitric oxide and brain-derived neurotrophic factor in neuronal plasticity. . *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, , 14(8), 979-987.
- Bolaños J, A. A. (1997). Nitric oxide-mediated mitochondrial damage in the brain: mechanisms and implications for neurodegenerative diseases. . *J Neurochem* , 68:2227-40. .
- Boix, E. y. (2000). Funciones endocri- nas y envejecimiento,. *Endocr Nutr.*, núm. 47 , 113-121. .
- Bonthius, D. J. (2003). FGF-2, NGF and IGF-1, but not BDNF, utilize a nitric oxide pathway to signal neurotrophic and neuroprotective effects against alcohol toxicity in cerebellar granule cell cultures. *Developmental Brain Research* , 140(1): p. 15-28. .
- Bonthius, D. J. (2003). FGF-2, NGF and IGF-1, but not BDNF, utilize a nitric oxide pathway to signal neurotrophic and neuroprotective effects against alcohol toxicity in cerebellar granule cell cultures. . *Developmental Brain Research* , 140(1), 15-28.
- Bredt DS, H. P. (1990). localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. . *Nature* , 347~76%770. .
- Bredt, D. S. (1990). Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proceedings of the National Academy of Sciences* , 87(2), 682-685.
- Bredt, D. S. (1999). Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. . *Free radical research* , 31(6), 577-596.
- Davies, A. M. (2003). Regulation of neuronal survival and death by extracellular signals during development. . *The EMBO journal*, 22(11), , 2537-2545.
- De Lucca, A. J. (2007). Harmful fungi in both agriculture and medicine. , . *Revista iberoamericana de micología* , 24(1), 3.
- De Koning, T. J. (2003). L-serine in disease and development. *Biochemical Journal* , 371(3), 653-661.
- De Silva, D. R. (2013). Bioactive metabolites from macrofungi: Ethnopharmacology, biological activities and chemistry. *Fungal Divers* , 62:1–40.
- Deschepper CF, B. V. (1991). Production of thrombin and antithrombin III by brain and astroglial cell cultures. *Brain Res Mol Brain Res* . 11: 355-8.
- Dhandapani, K. M. (2000). The role of glutamate and nitric oxide in the reproductive neuroendocrine system. . *Biochemistry and Cell Biology* , 78(3), 165-179.
- Díaz, M. N. (2009). Inhibición del crecimiento axonal por proteoglicanos de condroitin sulfato en el sistema nervioso central. *Revista de Investigación Clínica* , 61(2), 140-149.

- Díaz-Martínez, N. E. (2009). Inhibición del crecimiento axonal por proteoglicanos de condroitin sulfato en el sistema nervioso central. . *Revista de Investigacion Clinica*, 61(2), , 140-149.
- Dinerman J, D. T. (1994). Endothelial nitric oxide synthase localized to hippocampal pyramidal cells: implications for synaptic plasticity. . *Proc Natl Acad Sci USA* , 91:4214-8. .
- Ding, Y. C. (2016). Autophagy induction stabilizes microtubules and promotes axon regeneration after spinal cord injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, , 113(40), 11324-11329.
- Dorsey, E. C. (2007). Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology*, , 68(5), 384-386.
- Dorsey, S. G.-T. (2006). In vivo restoration of physiological levels of truncated TrkB. T1 receptor rescues neuronal cell death in a trisomic mouse model. *Neuron* , 51(1), 21-28.
- Dorsey, S. G.-T. (2006). In vivo restoration of physiological levels of truncated TrkB. T1 receptor rescues neuronal cell death in a trisomic mouse model. *Neuron* , 51(1), 21-28.
- Dreyfus, c. (1989). Effects of nerve growth factor on cholinergic brain neurons. *Trends Pharmacol Sci* , 10, 145–149.
- Dubois, M. G. (1956). Colorimetric method for deter- mination of sugar and related substance. . *Anal. Chem* 28 , 350–356 .
- Dubois, M. G. (1956). Colorimetric method for deter- mination of sugar and related substance. *Anal. Chem.*, 28, , 350–356 .
- Edelman M, G. J. (1992). Nitric oxide: linking space and time in the brain. . *Proc Natl Acad Sci USA* , 89:11651-2. .
- Ekman, F. K. (2019). CRISPR-Cas9-mediated genome editing increases lifespan and improves motor deficits in a huntington’s disease mouse model. . *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, , 17, 829-83.
- Ernst, A. A. (2014). Neurogenesis in the striatum of the adult human brain. . *Cell*, , 156(5), 1072-1083. .
- Escobar, A. &. (2008). Barrera hematoencefálica. Neurobiología, implicaciones clínicas y efectos del estrés sobre su desarrollo. . *Revista Mexicana de Neurociencia*, , 9(5), 395-405.
- Flórez, J. &. (1997). Neurotransmisión en el sistema nervioso central. . *Farmacología humana*, , 3.
- Fan G., E. C. (2000). Knocking the NT4 gene into the BDNF locus rescues BDNF deficient mice and reveals distinct NT4 and BDNF activities. . *Nat. Neurosci.* , 3, 350– 357.
- Feigin, V. L. (2017). , Global, regional, and national burden of neurological disorders during 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015,. *The Lancet Neurology* , DOI: 10.1016/S1474-4422(17)30299-5.
- FENIK-MELODY J, B. S. (1988). Experimental autoimmune encephalomyelitis is exacerbated in mice lacking the NOSgene. . *J Immunol* , , 160:2940-2949,.
- Fonnum, F. (1984). Glutamate: a neurotransmitter in the mammalian brain. *Journal of Neurochemistry*, . 18(1), 27–33. .
- Frederickson CJ, K. J.-Y. (2005). The neurobiology of zinc in health and disease. . *Nat Rev Neurosci.* , ;6(6):449–62.
- Freeman R. S., B. R. (2004). "NGF deprivation-induced gene expression: after ten years, where do we stand?". *Progress in Brain Research* , 146: 111–26.
- Fumero, A. C. (2009). Funcion de la neurotrofina-3 en el desarrollo y mantenimiento de las estructuras olfativas (Doctoral dissertation,. *Universidad de La Laguna*).

- G., M. (1999). *Biochemical pathways: an atlas of biochemistry and molecular biology*. . Berlin: John Wiley & Sons, .
- Geribaldi-Doldán, N. E.-G.-C.-B.-S.-R.-G. (2016). 12-Deoxyphorbols Promote Adult Neurogenesis by Inducing Neural Progenitor Cell Proliferation via PKC Activation. *International Journal of Neuropsychopharmacology* , 1-14.
- Giavasis, I. (2014). Bioactive fungal polysaccharides as potential functional ingredients in food and nutraceuticals. . *Current Opinion in Biotechnology*, 26, , 162-173.
- Ginn, S. &. (2012). "One in four" with a mental health problem: the anatomy of a statistic. . *Bmj* , 344, e1302.
- Ginty DD, a. S. (2002). Retrograde neurotrophin signaling: Trk-ing along the axon. . *Curr Opin Neurobiol* , 12, 268–274 .
- Gonella, J. R.-M. (2002). *Patente nº ES2230480T3*. España.
- González-Pérez, M. (2017). . Quantum Theory of the Electron Transfer Coefficient. . *International Journal of Advanced Engineering, Management and Science*, 3(10). , 10024-1028.
- Gonzalez-Perez, M. (5 de 01 de 2017). Modelo6000. Puebla, Puebla, México.
- Grigoriev, V. K. (2000). *Patente nº EP1224212B1*. Alemania-Francia.
- Guardo-Gómez, V. F.-P. (2020). Ingeniería Tisular Para Regeneración Nerviosa: Una Revisión. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, , 58(1), 50-60.
- Gómez, R. N. (2007). Células en glia envolvente olfatoria: potencial para la reparación de lesiones del sistema nervioso central. . *Universitas Médica*, , 48(4), 396-413.
- Hall, S. M. (1989). Regeneration in the peripheral nervous system. . *Neuropathology and applied neurobiology*, , 5(6), 513-529.
- Hale, M. O. (2011). Basic tetrapeptides as potent intracellular inhibitors of type A botulinum neurotoxin protease activity. *Journal of Biological Chemistry*, , 286(3), 1802-1811.
- Haley, J. E. (1992). The role of nitric oxide in hippocampal long-term potentiation. . *Neuron* , , 8(2), 211-216.
- Hachinski, V. C. (1975). Cerebral blood flow in dementia. . *Archives of neurology*, 32(9), , 632-637.
- Hamburger V, a. L.-M. (1949). Proliferation, differentiation and degeneration in the spinal ganglia of the chick embryo under normal and experimental conditions. . *J Exp Zool* , 111, 457–501 .
- Hamburgor, L.-M. I. (1953). "A diffusible agent of mouse, producing hyperplasia of sympathetic ganglia and hyperneurotization of viscera in the chick embryo". *Exp. zool.* 123 , cl. :233-288.
- Han, S. M. (2016). Mitochondria localize to injured axons to support regeneration. . *Neuron*, , 92(6), 1308-1323.
- HART, R. C., GROSSMAN, R., & RAM, H. (2006). Dietary neurotransmitter precursors for balanced synthesis of neurotransmitters. *U.S. Patent Application* , No 10/913,027,.
- Hauser SL, D. T.-B. (1992). An antispasticity effect of threonine in multiple sclerosis. . *Arch Neurol* . , 49:923 - 926.
- Hayakawa, N. A. (2008). Age-related changes of NGF, BDNF, parvalbumin and neuronal nitric oxide synthase immunoreactivity in the mouse hippocampal CA1 sector. *Metabolic brain disease*, , 23(2), 199-211.
- Hazekawa M, K. A. (2010). Neuroprotective effect of repeated treatment with *Hericium erinaceum* in mice subjected to middle cerebral artery occlusion". *Journal of Health Science*, vol. 56, no. 3, , pp. 296–303,.
- Helfman P.M., B. J.-Y. (1977). Consideration on the role of aspartic acid racemization in the aging process, . *Gerontology* , 23:419-425.

- Hebert, L. E. (2013). . Alzheimer disease in the United States (2010–2050) estimated using the 2010 census. . *Neurology*, , 80(19), 1778-1783.
- Hermann, J. &. (2017). First- principles models for van der Waals interactions in molecules and materials: concepts, theory, and applications. . *Chemical Reviews*, 117, , 4714-4758. .
- Hernández, R. P. (2004). Medicina regenerativa: Células madre embrionarias y adultas. *Revista cubana de hematología, inmunología y hemoterapia*, , 20(3), 0-0.
- Hernández-Saavedra, D. &. (2007). Evolución y radicales libres. Importancia del estrés oxidativo en la patología humana. *Revista médica del instituto mexicano del seguro social 45* .
- Hicks Gómez, J. J. (2001). *Introducción a la bioquímica de los radicales libres*. México: Mc Graw Hill Interamericana, México.].
- Huang, E. J. (2001). Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annual review of neuroscience*, 24, 677–736. doi:10.1146/annurev.neuro. , 24.1.677.
- Huertas Fernández-Espartero, C. (2013). Mecanismos moleculares que regulan la migración celular colectiva.
- Ibáñez. (1995). Neurotrophic factors: from structure-function studies to designing effective therapeutics. *Trends Biotech* , 13, 217–227.
- Ignarro, L. J. (1987). . Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. . *Proceedings of the National Academy of Sciences*, , 84(24), 9265-9269.
- INEGI. (2016). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición* . Obtenido de <https://datos.gob.mx/busca/dataset/encuesta-nacional-de-salud-y-nutricion-2016-medio-camino-seccion-nutricion>.
- Information, N. C. (20 de mayo de 2019). *PubChem*. Obtenido de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Erinacine-A>
- Ippolito, J. A. (1990). Hydrogen bond stereochemistry in protein structure and function. . *Journal of molecular biology*, , 215(3), 457-471.
- Jauch, E. e. (2013). Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals . *American Heart Association/American Stroke Association. Stroke*, , 44(3): p. 870-947 .
- Jean-Simon Suppo, R. M.-M. (2015). Dipeptide Syntheses via Activated  $\alpha$ -Aminoesters». . *Org. Synth.* , 92: 296.
- Jensen, M. C. (2013). The neurological disease ontology. . *Journal of biomedical semantics*, , 4(1), 42.
- Jessen, K. R. (20015). Schwann cells: development and role in nerve repair. . *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, , 7(7), a020487.
- Johnston, M. V. (2004). Clinical disorders of brain plasticity. . *Brain and Development*, , 26(2), 73-80.
- Jones KR, R. L. (1990). Molecular cloning of a human gene that is a member of the nerve growth factor family». . *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87 (20): 8060-4 .
- Jones, T. M. (1972). A gas chromatographic method for the determination of aldose and uronic acid constituents of plant cell wall poly- saccharides. . *Plant Physiol.*, 49, , 926–936 .
- Jordán, J. (2003). . Avances en el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas. . *Offarm: farmacia y sociedad*, , 22(3), 102-114.
- Klein, R. (1994). Role of neurotrophins in mouse neuronal development. *The FASEB Journal* , , 8(10), 738-744.

- Klotz, I. M. (1962). . Hydrogen bonds between model peptide groups in solution. . *Journal of the American Chemical Society* , , 84(18), 3461-3466.
- Katayama, S. I. (2014). Oral administration of soy peptides suppresses cognitive decline by induction of neurotrophic factors in SAMP8 mice. . *J. Agric. Food Chem.* 62 , 3563–3569.
- Kawagishi, H. A. (1992). Chromans, hericenones F, G and H from the mushroom *Herichium erinaceum*. . *Phytochemistry*, 32(1), , 175-178.
- Kawagishi, H. A. (1990). Hericenone A and B as cytotoxic principles from the mushroom *Herichium erinaceum*. *Tetrahedron letters*, 31(3), , 373-376.
- Kawagishi, H. A. (1991). Hericenones C, D and E, stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the mushroom *Herichium erinaceum*. . *Tetrahedron Letters*, 32(35) , , 4561-4564.
- Kawagishi, H. M. (2006). Erinacines J and K from the mycelia of *Herichium erinaceum*. *Tetrahedron*, 62(36) , , 8463-8466.
- Kawagishi, H. S. (1996). Erinacine D, a stimulator of NGF-synthesis, from the mycelia of *Herichium erinaceum*. . *Heterocyclic Communications*, 2(1), , 51-54.
- Kawagishi, H. S. (1994). Erinacines A, B and C, strong stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the mycelia of *Herichium erinaceum*. . *Tetrahedron letters* , 35(10), 1569 1585.
- Kawagishi, H. S. (1994). Erinacines A, B and C, strong stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the mycelia of *Herichium erinaceum*. *Tetrahedron letters*, 35(10), , 1569-1585.
- Kawagishii, H. S. (1996). Erinacines E, F, and G, stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the mycelia of *Herichium erinaceum*. 7399-7405. *Tetrahedron Letters*, 37(41),.
- Kenmoku H., S. T. (2002). A new erinacine from *Herichium erinaceum*, and its biosynthetic route to erinacine C in the basidiomycete. . *Biosci. Biotechnol. Biochem* 66 N3 , 571-575.
- Kenmoku, H. S. (2000). Isolation of erinacine P, a new parental metabolite of cyathane-xylosides, from *Herichium erinaceum* and its biomimetic conversion into erinacines A and B. . *Tetrahedron Letters*, 41(22), , 4389-4393.
- Kenmoku, H. T. (2004). Erinacol (cyatha-3, 12-dien-14 $\beta$ -ol) and 11-O-acetylcynthia A3, new cyathane metabolites from an erinacine Q-producing *Herichium erinaceum*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 68(8),. *biotechnology, and biochemistry*, 68(8), .
- Kenmoku, H. T. (2014). Erinacol (cyatha-3, 12-dien-14 $\beta$ -ol) and 11-O-acetylcynthia A3, new cyathane metabolites from an erinacine Q-producing *Herichium erinaceum*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 68(8), , 1786-1789.
- Kerwin Jr, J. F. (1994). The arginine-nitric oxide pathway: A target for new drugs. *Medicinal research reviews*,. 14(1), 23-74.
- Khan, M. A. (2013). *Herichium erinaceus*: an edible mushroom with medicinal values. . *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 10(1) , 253-258.
- Kiernan, J. A. (2014). *Barr El Sistema Nervioso Humano*. Wolters Kluwer Health.
- Kim, Y. O. (2014). A comprehensive review of the therapeutic effects of *Herichium erinaceus* in neurodegenerative disease. . *한국버섯학회지*, 12(2), , 77-81.
- Kimura, Y. N. (1991). Hericerin, a new pollen growth inhibitor from the mushroom *Herichium erinaceum*. . *Agricultural and biological chemistry*, 55(10), , 2673-2674.

- kinase, N. r. (26 de 08 de 2021). *The human protein atlas*. Obtenido de The human protein atlas: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000198400-NTRK1/tissue>
- Kolotushkina, E. V. (2003). The influence of Hericium erinaceus extract on myelination process in vitro. *Fiziol Zh*, 49(1), 38-45.
- Kolotushkina, E. V. (2003). The influence of Hericium erinaceus extract on myelination process in vitro. *Fiziol Zh*, 38-45.
- Konigsberg Fainstein, M. &.-M. (2008). Radicales libres y estrés oxidativo: *aplicaciones médicas (No. Sirsi) [9789707293212]*.
- Kromer, L. F. (1987). Nerve growth factor treatment after brain injury prevents neuronal death. *Science*, 235(4785), 214-216.
- Kuffler, S. W. (1982). *De la neurona al cerebro: Aspectos celulares de la función del sistema nervioso*. Barcelona: editorial Reverté S. A.
- Kuhn, W. (1958). Relation between optical activity and aging. *Adv. Ensymol.*, 20:1-29.
- McKay, A. C. (1980). Effect of oral benzodiazepines on memory. *British Journal of Anaesthesia*, 52(12), 1247-1257.
- Malagelada, C. J.-L. (2010). Rapamycin Protects against Neuron Death in In Vitro and In Vivo Models of Parkinson's Disease. *Journal of Neuroscience*, 30(3), 1166-1175.
- MacAskill, A. F. (2010). Control of mitochondrial transport and localization in neurons. *Trends in cell biology*, 20(2), 102-112.
- Ma. B. J. Shen, J. W. (2010). Hericenones and erinacines: stimulators of nerve growth factor (NGF) biosynthesis in Hericium erinaceus. *Mycology*, 1(2), 92-98.
- Ma. B. J., S. J. (2010). Hericenones and erinacines: stimulators of nerve growth factor (NGF) biosynthesis in Hericium erinaceus. *Mycology*, 1(2), 92-98.
- Madsenf, J. E. (2021). Adult Neurogenesis and Antidepressant Treatment: The Surprise Finding by Ron Duman and the Field 20 Years Later. *Biological Psychiatry Available*, 45-50.
- Maharani R, e. a. (2018). Synthesis of Tetrapeptides and Screening of their Antioxidant Properties. *Current Bioactive Compounds*.
- Maher, T. J. (1980). L-threonine administration increases glycine concentrations in the rat central nervous system. *Life sciences*, 26(16), 1283-1286.
- Man E.H., S. M. (1983). Accumulation of Aspartic acid with age in human brain. *Science*, 220:1407-1408.
- Manso, M. B. (2015). *Efecto del salubrinal sobre la formación de la cicatriz glial tras una lesión en el sistema nervioso central*. España: Universidad Complutense de Madrid (Doctoral dissertation), .
- Marcelo Hermes-Lima, K. B. (2005). *Oxidative Stress and Medical Sciences*. Book Editor(s):.
- Marshall, S. A. (2009). "A virtual library of constrained cyclic tetrapeptides that mimics all four side-chain orientations for over half the reverse turns in the protein data bank". *Journal of Computer-aided Molecular Design*, 23 (2): 87.
- Marshall, T. H. (2017). The next generation in brain recovery and neuroregeneration. *Journal of American Physicians and Surgeons*, 22(2), 44-47.
- martinez, D. (2003). Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Revista de la facultad de medicina* 46 .

- Martínez, J. G. (2013). Recuerdo anatómico y funcional del sistema nervioso. In Tratado de enfermería neurológica . Elsevier . , (pp. 3-10).
- Martínez, N. D. (2009). . Inhibición del crecimiento axonal por proteoglicanos de condroitin sulfato en el sistema nervioso central. . *Revista de investigación clínica* , 61(2), 140-149.
- Mashimo H, H. X. (1996). Neuronei constitutive nitric oxide synthase is involved in murine enteric inhibitory neurotransmission. *J C/in h-west* , 98:8-13. .
- Masi, G. &. (2001). The hippocampus, neurotrophic factors and depression. . *CNS drugs* , 25(11), 913-931.
- Mathison, R. (2006). *Patente nº ES2325251T3*. España.
- Matsushima, Y. E. (2009). Historical overview of psychoactive mushrooms. *Inflammation and Regeneration* , 29(1) , 47-58.
- Matsushita, K. e. (1996). Effect of systemic zinc administration on delayed neuronal death in the gerbil hippocampus. . *Brain Res* , 743(1-2): p. 362-5. .
- Mattson, M. Z. (2000). Neurotrophic factors protect cortical synaptic terminals against amyloid and oxidative stress-induced impairment of glucose transport, glutamate transport and mitochondrial function. *Cerebral Cortex* , 10(1), 50-57.
- Melis, M. R. (2010). Oxytocin induces penile erection when injected into the ventral subiculum: role of nitric oxide and glutamic acid. . *Neuropharmacology* , 58(7), 1153-1160.). .
- Medina Marín, A. &. (2002). Sistema glutamatérgico, primera parte: Sinaptología, homeostasis y muerte celular. . *Revista colombiana de Psiquiatría* , 31(3), 193-218.
- Medrano, B. G. (2013). Regeneración de las lesiones críticas del nervio periférico con factores de crecimiento. Estudio experimental. . *Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología* , 57(3), 162-169.
- Meier R, S. P. (1989). Induction of gliaderived nexin after lesion of a peripheral nerve. . *Nature* , 342: 548-50.].
- Meiri, K. F. (1998). Neurite outgrowth stimulated by neural cell adhesion molecules requires growth-associated protein-43 (GAP-43) function and is associated with GAP-43 phosphorylation in growth cones. . *Journal of Neuroscience* , 18(24), 10429-10437.
- Merrill, J. E. (1996). Cytokines in inflammatory brain lesions: helpful and harmful. . *Trends in neurosciences* , 19(8), 331-338.
- Meuchel, L. W. (2011). Neurotrophins induce nitric oxide generation in human pulmonary artery endothelial cells. . *Cardiovascular research* , 91(4), 668-676.
- MEZA-HERRERA CA, T.-M. M.-M.-B.-S.-L. (2011). Glutamate supply positively affects serum release of triiodothyronine and insulin across time without increases of glucose during the onset of puberty in the female goat. . *Animal Reproduction Science*. , 125:74-80. ISSN: 0378-4320.
- Milionis, H. e. (2005). Risk factors for first-ever acute ischemic non-embolic stroke in elderly individuals. I. *nt J Cardiol* , 99(2): p. 269-75 .
- Ming, G. L. (2005). Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.*, . 28, 223-250.
- Missiaglia, E. D. (2010). Pancreatic endocrine tumors: expression profiling evidences a role for AKT-mTOR pathway. *Journal of clinical oncology* , 28(2), 245.

- Miyashita, T. W. (2010). . Neurotrophin-3 is involved in the formation of apical dendritic bundles in cortical layer 2 of the rat. *Cerebral Cortex*, , 20(1), 229-240.
- Mizuno, T. W. (1992). Antitumor-active polysaccharides isolated from the fruiting body of *Herichium erinaceum*, an edible and medicinal mushroom called yamabushitake or houtou. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 56(2), , 347-348.
- Moldavan, M. G. (2007). Neurotropic and trophic action of lion's mane mushroom *Herichium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Aphyllphoromycetidae) extracts on nerve cells in vitro. *International Journal of Medicinal MushroomS*, 9(1).
- MontalciniR, L. (1987). The norve growth factor Sbyears later. *Science* 237: , 1154-1162.
- MONTAGUE P, G. C. (1994). Role of NO production in NMDA receptor-mediated neurotransmitter release in cerebral cortex. . *Science*, , 263:973-7,.
- Montague, P. R. (1994). . Role of NO production in NMDA receptor-mediated neurotransmitter release in cerebral cortex. . *Science*, , 263(5149), 973-977.
- Mori K, I. S. (2009). Improving effects of the mushroom Yamabushitake (Hr) on mild cognitive impairment: a double-blind placebo-controlled clinical trial". . *Phytotherapy Research*, vol. 23, no. 3 , pp. 367–372, . .
- Mori, K. I. (2009). . Improving effects of the mushroom Yamabushitake (*Herichium erinaceus*) on mild cognitive impairment: a double-blind placebo-controlled clinical trial. *An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* , 367-372.
- Mori, K. O. (2008). Nerve growth factor-inducing activity of *Herichium erinaceus* in 1321N1 human astrocytoma cells. . *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 31(9), , 1727-1732.
- Mori, K. O. (2008). Nerve growth factor-inducing activity of *Herichium erinaceus* in 1321N1 human astrocytoma cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 31(9), , 1727-1732.
- Muñoz-Fernández M, F. M. (1998). The role of tumor necrosis factor, interleukin 6, interferon-g and inducible nitric oxide synthase in the development and pathology of the nervous system. . *Prog Neurobiol* , 56:307-40. .
- Murphy. (2000). Production of nitric oxide by glial cells: regulation and potential roles in the CNS. *Glia*, , 29(1), 1-13.
- Murphy, S. (2000). . Production of nitric oxide by glial cells: regulation and potential roles in the CNS. . *Glia*, , 29(1), 1-13.
- Nache, R. J. (2017). *La regeneración neuronal*. españa: National Geographic.
- Nagano, M. S. (2010). Reduction of depression and anxiety by 4 weeks *Herichium erinaceus* intake. . *Biomedical Research* , 231-237.
- Nagano, M. S. (2010). Reduction of depression and anxiety by 4 weeks *Herichium erinaceus* intake., . *Biomedical Research*, 31(4) , 231-237.
- Tostes, M. H. F. S., Teixeira, H. C., Gattaz, W. F., Brandão, M. A. F., & Raposo, N. R. B. (2012). Altered neurotrophin, neuropeptide, cytokines and nitric oxide levels in autism. *Pharmacopsychiatry*, 45(06), 241-243.
- NGF. (11 de MARZO de 1993). *The National Center for Biotechnology Information*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/CAA37703.1>
- Noda, Y. F. (1996). Asymmetric syntheses of (-)-erinapyrones A and B. . *Heterocycles*, 2(43), , 271-275.

NT-3. (07 de 03 de 1995). *NCBI*. Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AAA63231.1>

NT-4. (9 de 5 de 2008). *NCBI*. Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AAH12421.1>

Obara, Y. &. (2002). The signaling pathway of neurotrophic factor biosynthesis. *Drug News Perspect*, , 290-298.

OHKUMA S, M. K. (2001). Nitric oxide and peroxynitrite as factor to stimulate neurotransmitter release in the CNS. *. Progress Neurobiol* , , 64:97-108,.

Okamoto K, S. A. (1993). Antimicrobial chlorinated orcinol derivatives from mycelia of *Hericium erinaceum*. *. Phytochemistry* 3 , 1445–1446.

Okuda, Y. S. ((1997).). Nitric oxide via an inducible isoform of nitric oxide synthase is a possible factor to eliminate inflammatory cells from the central nervous system of mice with experimental allergic encephalomyelitis. *Journal of neuroimmunology*,. 73(1-2), 107-116.

Okumoto, S. F. (2016). Amino acids of the glutamate family: Functions beyond primary metabolism. *. Frontiers in Plant Science*, , 7, 1–3. .

Ortiz E., O. E. (2007). *El libro de la vida. Vivamos AMPM: manual de funciones cerebrales*. . Bogotá:: Artes Gráficas A y G Ltda.

Plosker, G. L. (2009). Cerebrolysin. *. Drugs & aging*, 26(11), , 893-915.

Palmer, R. M. (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *. Nature*, , 327(6122), 524-526.

Palmer, R. M. (1988). . Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *. Nature*, , 333(6174), 664-666.

Park, K. K. (2008). Promoting axon regeneration in the adult CNS by modulation of the PTEN/mTOR pathway. *. Science*, , 322(5903), 963-966.

Park, K. K. (2010). PTEN/mTOR and axon regeneration. *Experimental neurology*, , 223(1), 45-50.

Park, K. K. (2010). PTEN/mTOR and axon regeneration. *Experimental neurology*, 223(1) , , 45-50.

Pedré, L. L. (2004). Factor de crecimiento nervioso en la neurodegeneración y el tratamiento neurorestaurativo. , *. Revista CENIC. Ciencias Biológicas* 35(3), , 150-154.

Pedré., L. (2004). Factor de crecimiento nervioso en la neurodegeneración y el tratamiento neurorestaurativo. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, , 35(3), 150-154.

Pernet, V. J. (2008). Nogo-A and myelin-associated glycoprotein differently regulate oligodendrocyte maturation and myelin formation. *J. ournal of Neuroscience*, , 28(29), 7435-7444.

Phan, C. W. (2017). Edible and medicinal mushrooms: emerging brain food for the mitigation of neurodegenerative diseases. *Journal of medicinal food*, . 20(1), 1-10.

Phan, C. W. (2015). Therapeutic potential of culinary-medicinal mushrooms for the management of neurodegenerative diseases: diversity, metabolite, and mechanism. *Critical reviews in biotechnology*, 35(3) .

Piekarski, D. G.-T. (2017). Structure and stability of clusters of  $\beta$ -alanine in the gas phase: importance of the nature of intermolecular interactions. *. Physical Chemistry Chemical Physics* , , 19(7), 5465-5476.

Pierucci D, C. S. (2001). "NGF-withdrawal induces apoptosis in pancreatic beta cells in vitro". *Diabetologia* , 44 (10): 1281–95. .

- Pompella, A. V. (2003). The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem Pharmacol.* , 66 (8): 1499-503.
- Portugal, M. T. (2018). Señalización por nucleótidos: nucleogénesis, neuroprotección y reparación del sistema nervioso. *Discursos.*
- Qian FG, X. G. (1990). Isolation and identification of two new pyrone compounds from the culture of *Hericium erinaceus*. *Acta Pharm Sin* 25 , 522–525.
- Quir, R. E. (2014). Breve descripción de los mecanismos moleculares de daño celular provocado por los radicales libres derivados de oxígeno y nitrógeno. *Revista Esp. Med Quir* 19 , 446-454.
- RADOMSKI M, P. R. (1987). S:Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet*, 2:1057-8, 1987.
- Rand, M. J. (1995). Nitric oxide as a neurotransmitter in peripheral nerves: nature of transmitter and mechanism of transmission. *Annual Review of Physiology* , 57(1), 659-682.
- Ratto MH, L. Y. (2012). "The nerve of ovulation-inducing factor in semen". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 109 (37): 15042–7.
- RD, R. (2014). El papel del hipocampo en la cognición flexible y el comportamiento social. *Fronteras en neurología humana.* , 23-59.
- Rettori, V. K. (1994). Nitric oxide mediates the stimulation of luteinizing-hormone releasing hormone release induced by glutamic acid in vitro. *Brain research bulletin* , 33(5), 501-503.
- Rita Levi-Montalcini y Pietro Calissano. (agosto 1979). *El factor de crecimiento nervioso* , . "Libros de Investigación y Ciencia" 1990 [3].
- Rogers, N. B. (2009). Neuroprotección mediada por BDNF y Oxido Nítrico frente a excitotoxicidad en neuronas corticales e hipocampales. *Revista ANACEM* , 3(2).
- Rosas, L. C. (2019). MICROFLUÍDICA COMO PLATAFORMA DE ESTUDIO EN NEUROBIOLOGÍA. *Gente Clave* , 3(2), 89-113.
- Roth, C. M. (1996). Van der Waals interactions involving proteins. *Biophysical journal* , 70(2), 977-987.
- Schatzberg, A. &. (2006). *Tratado de psicofarmacología*. Barcelona: Elsevier Masson.
- Schmidt, H. H. (1992). . Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent NO synthase type I: a biopteroflavoprotein with Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-independent diaphorase and reductase activities. *Biochemistry* , 31(12), 3243-3249.
- Sloane, P. D. (2002). . The public health impact of Alzheimer's disease, 2000–2050: potential implication of treatment advances. *Annual review of public health* , 23(1), 213-231.
- Schulman, M. M. (1996). Nitric oxide modulates synaptic vesicle docking fusion reactions. *Neuron* , 18:1229-1236.
- Schuman, E. M. (1994). . Locally distributed synaptic potentiation in the hippocampus. *Science* , 263(5146), 532-536.
- Schumns EM, M. D. (1994). : Nitric oxide end synaptic function. *Annu Rev Neurosci* , 17:153-183. .
- Sánchez-Fernández, R. E.-O.-E.-B.-G.-M.-R. ((2013).). Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* , 16(2) , 132-146.
- Salud, S. d. (18 de 2019 de 2018). *Diagnóstico epidemiológico*. Obtenido de [http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/pasm\\_cap3.pdf](http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/pasm_cap3.pdf).

- Sage Arbor, J. K. (2008). "c[D-pro-Pro-D-pro-N-methyl-Ala] adopts a rigid conformation that serves as a scaffold to mimic reverse-turns". . *Biopolymers* , . 90 (3): 384–393.
- Sanchez, M. M. (2016). *Evaluación in vitro de factores estimuladores e inhibidores de neuroregeneración presentes en cultivos celulares de la glía envolvente olfatoria (Doctoral dissertation)*,. Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá).
- Sarchielli, P. A. (2002). Brain-derived neurotrophic factor in cerebrospinal fluid of patients with chronic daily headache: relationship with nerve growth factor and glutamate levels. . *The Journal of Headache and Pain* , , 3(3), 129-135.
- Sekine, Y. L.-M. (2018). Functional genome-wide screen identifies pathways restricting central nervous system axonal regeneration. . *Cell reports* , , 23(2), 415-428.
- Shen, T. H. (2014). Development of an enzyme linked immunosorbent assay for detection of cyathane diterpenoids. *BMC biotechnology*, 14(1), , 98-115.
- Shimbo, M. K. (2005). Erinacine A increases catecholamine and nerve growth factor content in the central nervous system of rats. *Nutrition research*, 25(6), , . 617-623.
- Sica, R. E. (2000). Factores tróficos y enfermedades neurológicas humanas. . En *Medicina* (págs. 60, 725.).
- Skaper. (2008). The biology of neurotro- phins, signalling pathways, and functional pep- tide mimetics of neurotrophins and their receptors. *CNS & Neurol Disorders – Drug Targets* , 7, 46–62.
- Snyder, S. H. (1992). Biological roles of nitric oxide. . *Scientific American* , , 266(5), 68-77.
- Soppet, D., Escandon, E., Maragos, J., & al], [. (1991). The neurotrophic factors brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 are ligands for the trkB tyrosine kinase receptor.» *Cell* 65 (5): , 895-903.
- Stadler, M. &. (2015). Fungal natural products—the mushroom perspective. *Frontiers in microbiology*, 6 , 127-138.
- Steane, R. (2014). Hydrolysis of a dipeptide. *BioTopics*.
- STUEHR. (1997). Structure-function aspects in the nitric oxide synthases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* , 37:339-59,.
- Suay I, A. F. (2000). Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities. *Antonie Van Leeuwenhoek* 78 , :129 139.
- Sun, Y. J. (2005). Sun, Y., Jin, K., Childs, J. T., Xie, L., Mao, X. O., & Greenberg, D. A. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* , 25(4), 485-492.
- Susuki. K., K. S. (1973). Myelin in multiple sclerosis: Composition appearing white matter, . *Arch. Neurol.* , 28:293-297.
- Talavera-Cuevas, E. C.-L.-L. (2003). . Aspectos sobre las funciones del óxido nítrico como mensajero celular en el sistema nervioso central. . *Salud Mental* , , 26(2), 42-50.
- Talaverón Aguilocho, R. (2015). Reacción glial tras el implante de precursores neurales en un modelo de lesión del sistema nervioso central.
- Tanaka, M. D. (2019). Brain-transportable dipeptides across the blood-brain barrier in mice. *Scientific reports* , , 9(1), 1-10.
- Taylor, S. J.-E. (2006). . Delivery of neurotrophin-3 from fibrin enhances neuronal fiber sprouting after spinal cord injury. . *Journal of Controlled Release* , , 113(3), 226-235.
- Thippeswamy, T. H. (2007). Nitric oxide-NGF mediated PPTA/SP, ADNP, and VIP expression in the peripheral nervous system. . *Journal of Molecular Neuroscience* , , 33(3), 268-277.

- Thoenen H., B. Y. (1980). Physiology of nerve growth factor. *Physiological Reviews*, 60(4), 1284-1335.
- Thoenen. (1995). Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science*, 270, 593–598.
- Thongbai, B. R. (2015). *Herichium erinaceus*, an amazing medicinal mushroom. *Mycological progress*, 14(10), 91.
- Toiber, J. M. (2009). Terapia celular y terapia génica ex vivo:: avances en el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central. *Revista de neurología*, 49(9), 483-489.
- Torres, W. H. (2002). Biología de las especies de oxígeno reactivas. *Mens Bioquim*, 26, 19-53.
- Trotter J.L., W. C. (1984). Studies of myelin proteins in multiple sclerosis brain tissue. *Neurochem. Res.* 9: 147-152.
- Ueda K, T. M. (2008). An endoplasmic reticulum (ER) stress-suppressive compound and its analogues from the mushroom *Herichium erinaceum*. *Bioorg Med Chem.* 16: 9467–9470.
- Vaughan PJ, C. D. (1993). Regulation of protease nexin-1 synthesis and secretion in cultured brain cells by injury-related factors. *J Biol Chem*, 268: 3720-7.
- Vergnano AM, R. N. (2014). Zinc dynamics and action at excitatory synapses. *Neuron*, 82(5):1101–14.
- W.T., N. (1974). Isolation of myelin from nerve tissue. *Methods in Enzymology*, 31:435-444.]
- Wang, L. D. (2004). Structure of polysaccharides from the fruiting body of *Herichium erinaceus*. *Pers. Carbohydrate polymers*, 241-247.
- Wang, X. W. (2018). Lin28 signaling supports mammalian PNS and CNS axon regeneration. *Cell reports*, 24(10), 2540-2552.
- White, R. P. (2000). Effect of inhibition of nitric oxide synthase on dynamic cerebral autoregulation in humans. *Clinical Science*, 99(6), 555-560.
- Wink D, V. Y. (1999). L. Antioxidant effects of nitric oxide. *Methods Enzymol*, 301:413-24.
- Wise, A. K. (2005). Resprouting and survival of guinea pig cochlear neurons in response to the administration of the neurotrophins brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3. *Journal of Comparative Neurology*, 487(2), 147-165.
- Wong KH, V. S. (2007). Activity of aqueous extracts of lion's mane mushroom *Herichium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers (Aphylllophoromycetidae) on the neural cell line NG108-15. *Int J Med Mushrooms*, 9:57–65.
- Wong, K. H. (2012). Neuroregenerative potential of lion's mane mushroom, *Herichium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (higher Basidiomycetes), in the treatment of peripheral nerve injury. *International journal medicinal mushrooms*, 14(5).
- Wortmann, M. (2012). Dementia: a global health priority-highlights from an ADI and World Health Organization report. *Alzheimer's research & therapy*, 4(5), 40.
- Wozney JM, R. V. (1988). Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*, 16:242(4885):1528-34.
- Wulf, D. (2002). "Free radicals in the physiological control of cell function", *Physiol Rev*.
- Wu, J. T. (2014). Erinaceolactones A to C, from the culture broth of *Herichium erinaceus*. *Journal of natural products*, 78(1), 155-158.
- Y., S. (s.f.).

- Yamada, T. T. (2007). Theanine, r-glutamylethylamide, increases neurotransmission concentrations and neurotrophin mRNA levels in the brain during lactation. . *Life sciences*, , 81(16), 12.
- Yan, Y. e. (2006). Insulin-like growth factor-1 is an endogenous mediator of focal ischemia-induced neural progenitor proliferation. . *Eur J Neurosci*, , 24(1): p. 45-54. .
- Yang, B. K. (2003). Hypolipidemic effect of an exo-biopolymer produced from a submerged mycelial culture of *Herichium erinaceus*. . *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 67(6), , 1292-1298.].
- Yiu, G. &. (2006). . Glial inhibition of CNS axon regeneration. *Nature Reviews Neuroscience*, , 7(8), 617-627.
- Yoshizaki, K. Y. (2008). Neurotrophic factor neurotrophin-4 regulates ameloblastin expression via full-length TrkB. . *Journal of Biological Chemistry*, , 283(6), 3385-3391.
- ZHAO Y, B. P. (1999). : A molecular basis for nitric oxide sensing by soluble guanylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci*, , 96:14753-14758, .
- Zhuang, C. M. (1996). Purification and characterization of a lectin from the toxic mushroom *Amanita pantherina*. , . *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1291(1) , 40-44.