



Pez cebra (Danio rerio) y su aplicación como modelo de investigación para el trastorno por déficit de atención e hiperactividad TDAH



Ruth Mélida Sánchez Mora, PhD. en
Biotecnología

Karoll Astrid Silvestre Lagos

Semillero Biotecnología y genética

Tabla de contenido

1

Introducción

2

Metodología

3

Resultados y
Discusión

4

Conclusiones

5

Referencias

6

Perspectivas
futuras

7

Participación
en eventos

1. Introducción

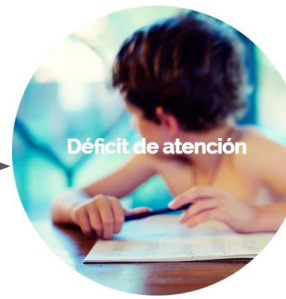


Tomado de:
<https://procrastinafacil.com/5-ejemplos-de-introducciones-escolares/>

TDAH

Trastorno del neurodesarrollo

Se presenta principalmente en niños



<https://www.somosmedicina.com/2017/03/cerebro-TDAH-resonancia-magnetica.html>

Afecta alrededor del 5% de niños en la edad escolar en todo el mundo

Etiología → 3 Factores

Neurobiológicos

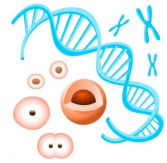
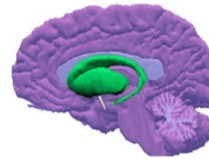
Ambientales

Genéticos

DA irregular en ganglios basales

Exposición materna a drogas

Heredabilidad del 75 al 90%



<https://ceneri.es/ganglios-basales-y-procesamiento-linguistico/>

<https://www.goconqr.com/slide/15607247/trastorno-por-deficit-de-atencion-e-hiperactividad>

<https://www.fundacioncadah.org/web/articulo/genetica-y-tDAH.html>



https://www.freepik.es/vector-premium/caricatura-divertido-nino-pequeno-posar_23831518.htm

<https://www.stickpng.com/es/img/dibujos-animados/ninas-world/nina-flores>

se manifiesta con una actividad excesiva

Modelos animales para evaluar patogenicidad del TDAH

Ratas



<https://ongteprotejo.org/datos/que-animales-se-usan-en-experimentacion-y-por-que/>

Mosca de la fruta
(*Drosophila melanogaster*)



https://es.wikipedia.org/wiki/Drosophila_melanogaster

Pez cebra
(*Danio rerio*)

Dark C, et al, 2020

Modelo heterocigoto
(chmp7 +/-)

Hiperactividad



<https://biotechmagazineandnews.com/a-proposito-del-pezc-ebra-y-la-esclerosis-multiple/>

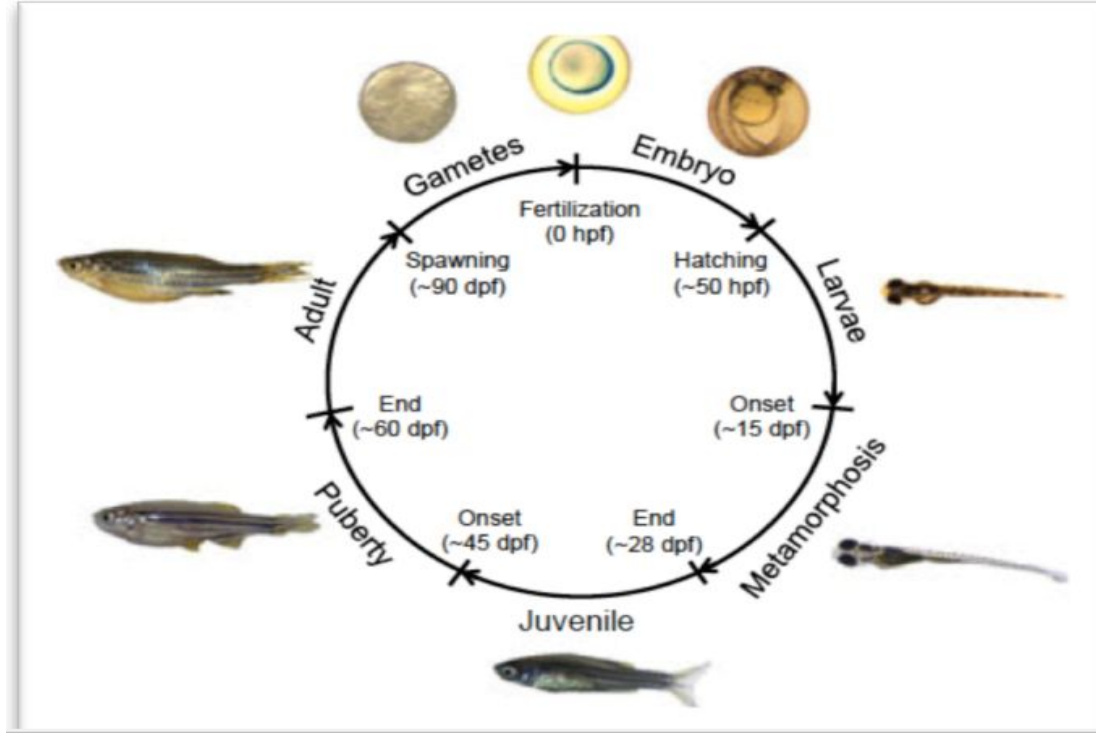
Ventajas

- Más del 70% de genes humanos tienen un ortólogo con el pez cebra
- Fertilización y desarrollo embrionario son ex utero

Desventajas

Muchos genes del pez cebra están duplicados

Etapas del desarrollo del Pez cebra



Fuente: Universitat Politècnica de Catalunya Universitat Politècnica de Catalunya.
Rodríguez C. septiembre 2016

Objetivos

Objetivo general

- Analizar el uso del modelo del pez cebrá (Danio rerio) en el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH).

Objetivos específicos

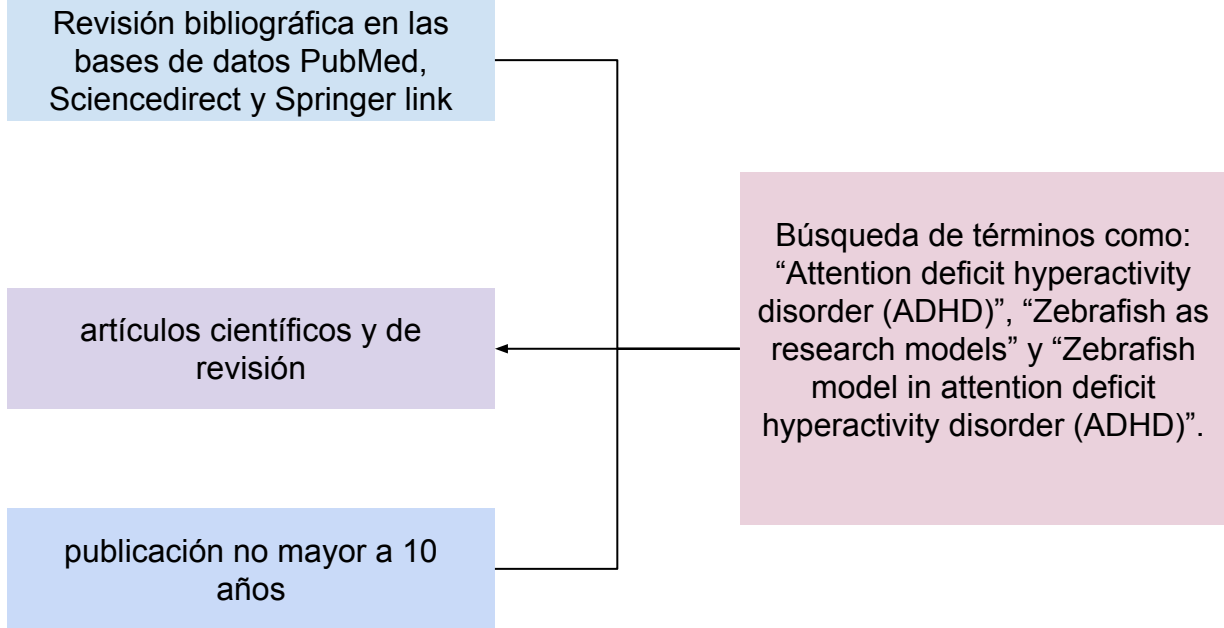
- Determinar los genes ortólogos en el Pez cebrá (Danio rerio) que están relacionados con el TDAH.
- Describir ensayos utilizados en la evaluación de los fenotipos que subyacen al TDAH en el pez cebrá.
- Analizar las diferentes aplicaciones del pez cebrá en el análisis de los fenotipos del TDAH

2. Diseño metodológico



<https://blog.ida.cl/estrategia-digital/metodologia-vs-herramientas-que-es-mas-relevante-en-la-investigacion-de-usuarios/>

Metodología



https://es.123rf.com/photo_68601344_la-creaci%C3%B3n-y-correcci%C3%B3n-de-art%C3%A1culos-b%C3%A1squeda-de-informaci%C3%B3n-en-internet-ilustraci%C3%B3n-vectorial.html

Revisión sistemática

Identificación	
Número de resúmenes identificados a través de la búsqueda en base de datos	54.264
Artículos después de deshacerse de los duplicados	49.987
Tamizaje	
Número total de resúmenes tamizados	130
Elegibilidad	
Número total de artículos a texto completo incluidos en la síntesis cualitativa de la RS	110
Número total de artículos seleccionados	92

3. Resultados y discusión



<https://blog-es.checklistfacil.com/gestion-de-resultados/>

Vías de neurotransmisores

Factores genéticos

Vía dopaminérgica

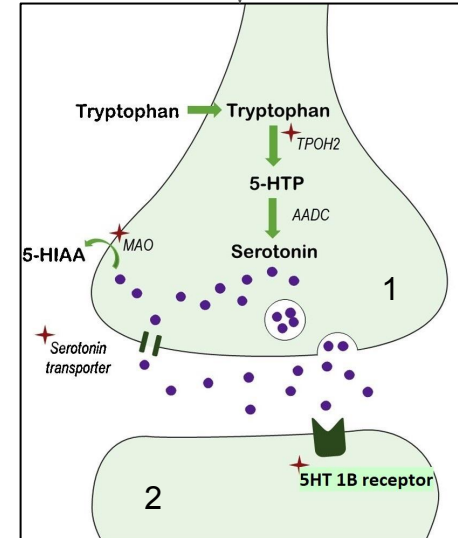
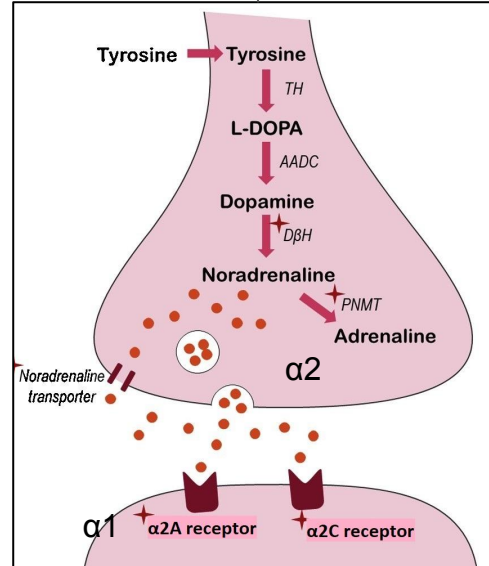
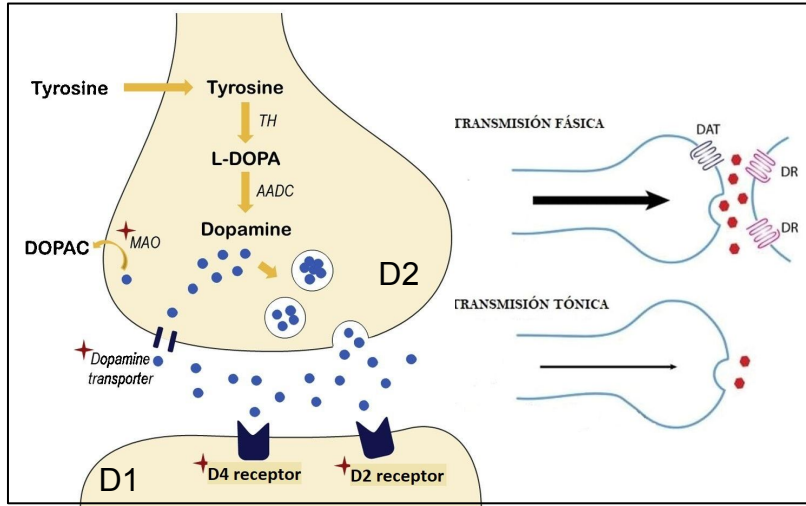
Vía noradrenérgica

Vía serotoninérgica

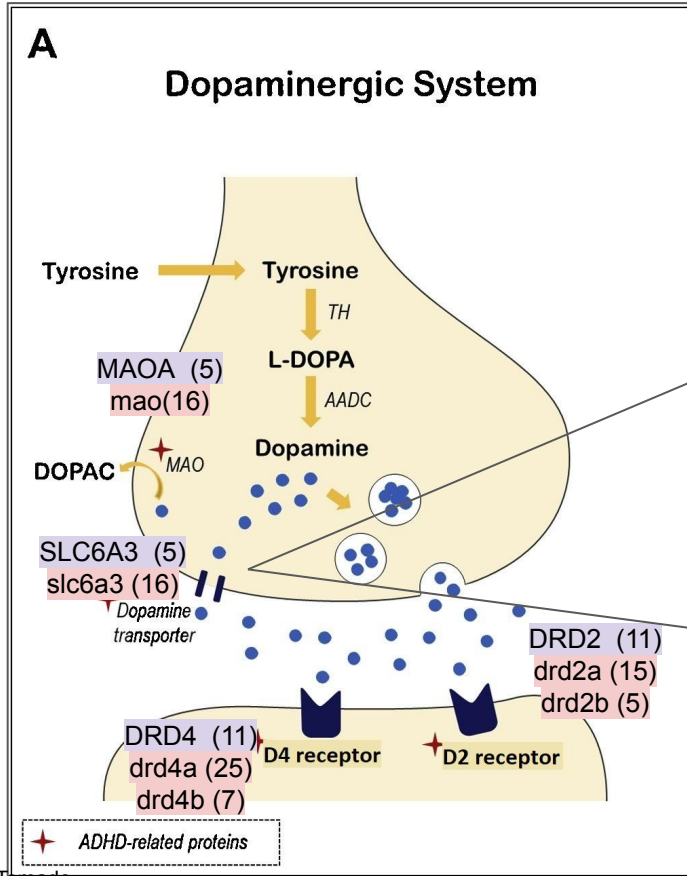
Alteración en la liberación
tónica y fásica

Locus coeruleus

Circuito orbitofrontal-
estriatal y corteza
prefrontal



1. Genes ortólogos en el Pez cebra implicados en la vía dopaminérgica



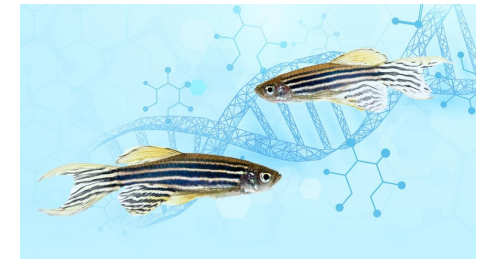
Mutación gen DAT1
3-UTR VNTR (10
repeticiones)

Sobreexpresión
DAT1

Disminuye la DA

Se ha estudiado en más
medida el sistema
dopaminérgico

Duplicación del genoma

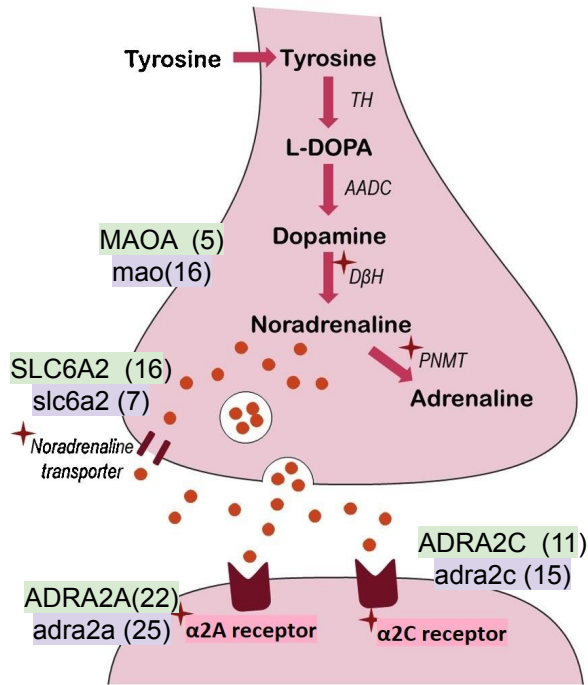


<https://www.gaceta.unam.mx/el-pezcetra-de-gran-utilidad-en-biomedicina-y-neurociencias/>

Genes ortólogos en el Pez cebra implicados en la vía noradrenérgica y serotoninérgica

B

Noradrenergic System



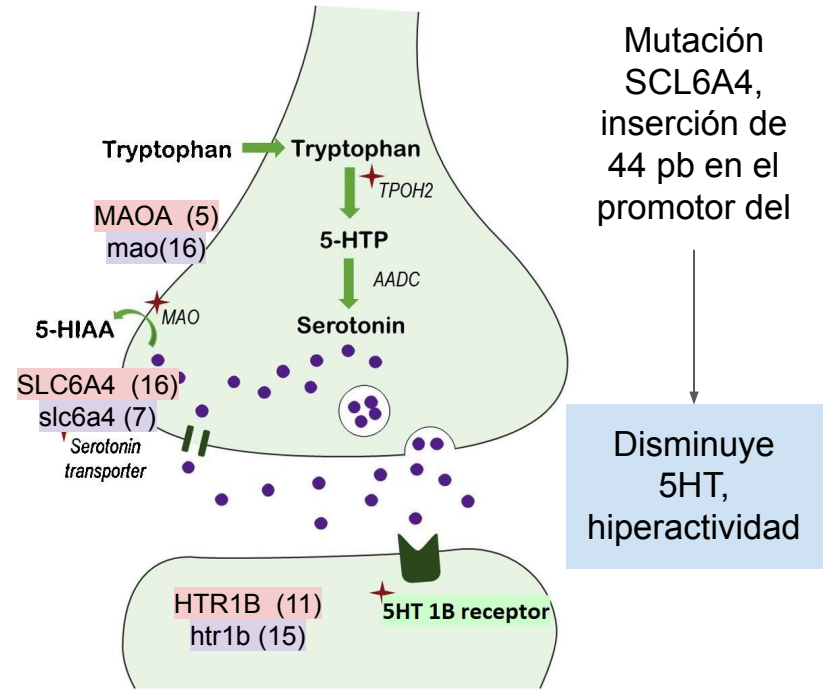
SNP
rs1800544
(C1291G) en
el gen
ADRA2A

Disminuye
NE en la
corteza
prefrontal

Déficit
atención

C

Serotonergic System



Mutación
SCL6A4,
inserción de
44 pb en el
promotor del

Disminuye
5HT,
hiperactividad

2. Ensayos para determinar la hiperactividad del TDAH en el Pez cebra

Ensayo de locomoción

Evalúa la locomoción en larvas de Pez cebra para determinar hiperactividad



Colocar larvas en pozos individuales, aclimatación 10 min



Registrar locomoción 5 a 10 min por video automatizado



<https://www.sochob.cl/web1/las-larvas-de-pez-cebra-ayudan-en-la-busqueda-de-supresores-del-apetito/>

★ Investigación del TDAH por medio de larvas y adultos mutantes

Ensayo de campo abierto

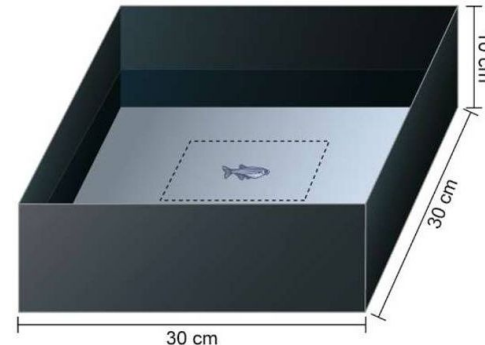
Evalúa la hiperactividad en el Pez cebra adulto



Colocar al Pez en una caja de acrílico



Grabar comportamiento de 5 a 15 min por video automatizado



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7228949/>

Ensayos para determinar la impulsividad e inatención del TDAH en el Pez cebra

Tarea de tiempo de reacción en serie de 5 repeticiones (5-C5RTT)

Evalúa la atención y la impulsividad



Se coloca al Pez en un aparato que consta de dos mitades



3 semanas de pre entrenamiento

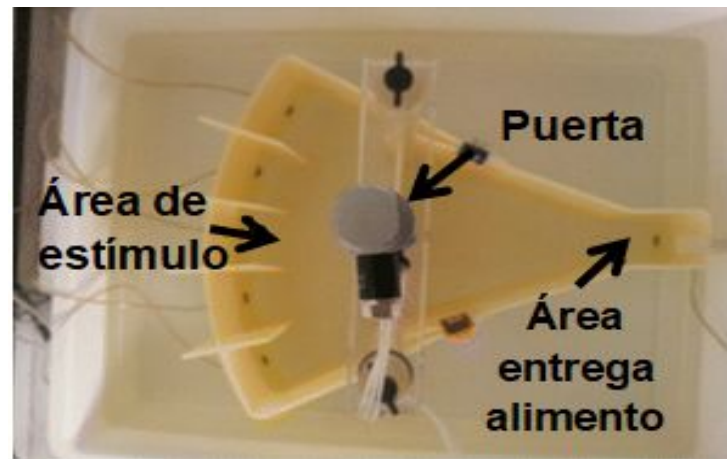
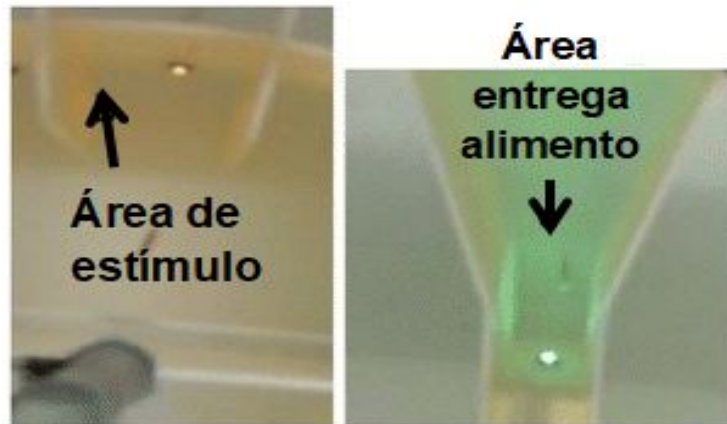


Impulsividad: Anticipación de la respuesta

Atención: Capacidad de responder al estímulo

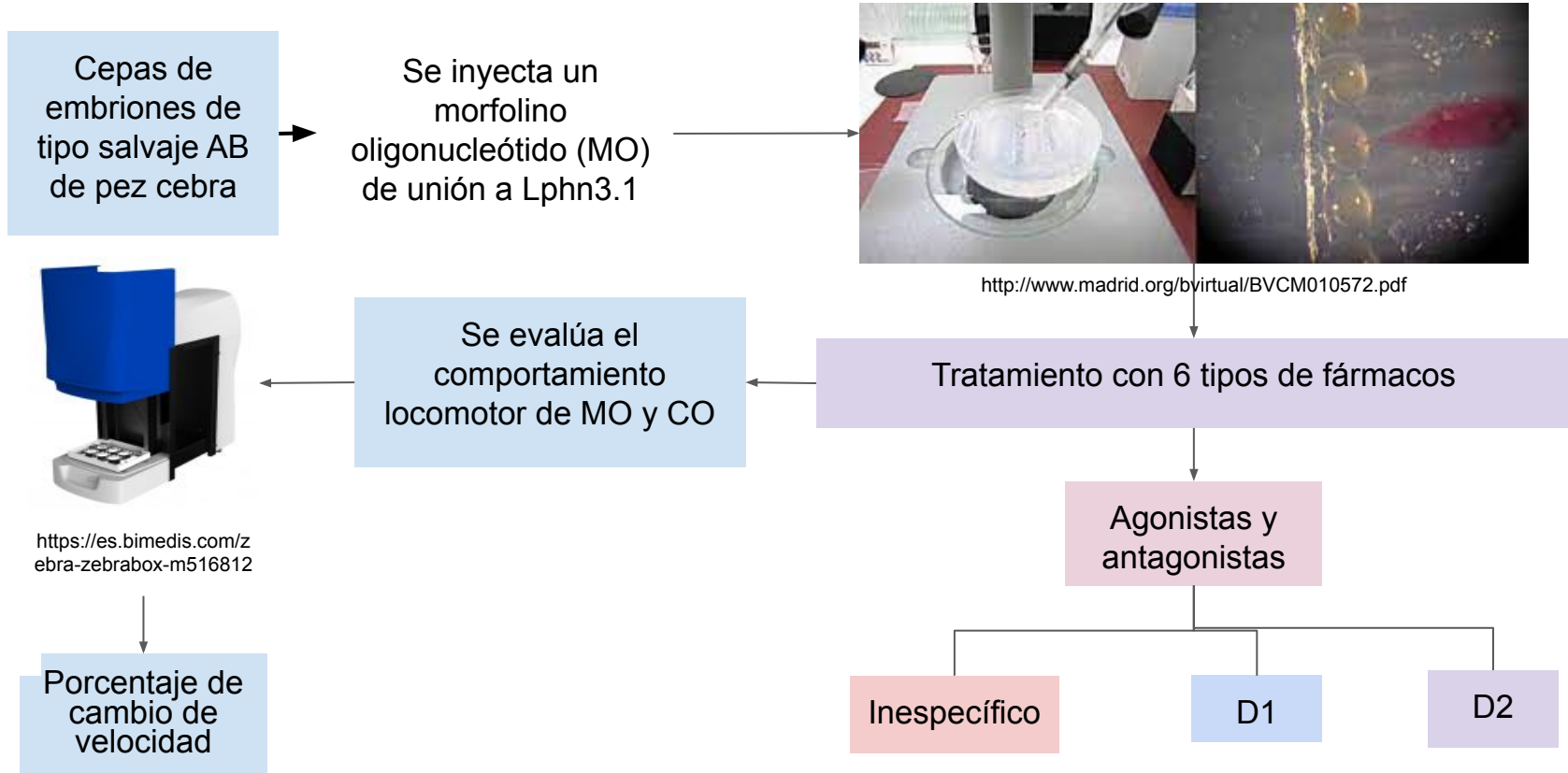


No existen ensayos que evalúe la inatención en larvas

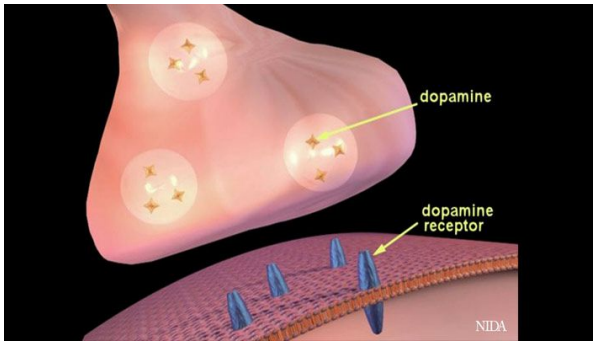
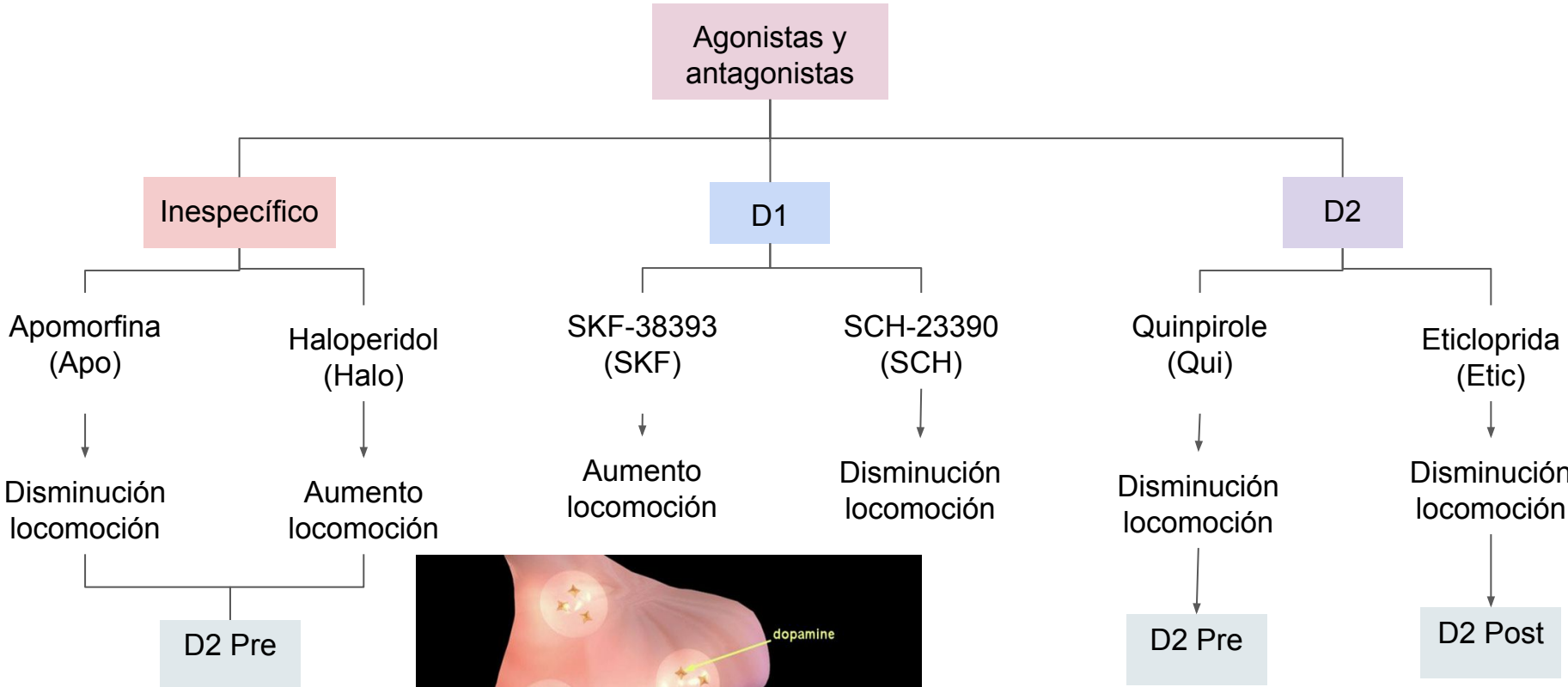


PSI:
Intervalo
previo al
estímulo

3. Aplicaciones del modelo Pez cebra: Evaluación de fármacos para explicar fenotipos del TDAH



Evaluación de fármacos para explicar fenotipos del TDAH



<https://infotiti.com/2019/04/neuronas-dopaminergicas/>

Desensibilización en MO

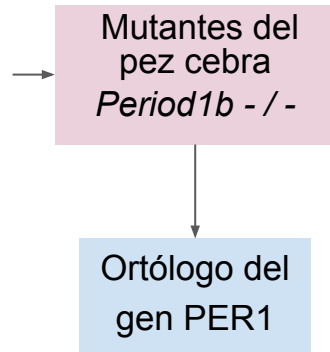
Aplicaciones del modelo Pez cebra: Evaluación de isoflavonas para tratar la hiperactividad en el TDAH

Hiperactividad en larvas del Pez cebra *Period1b* *-/-* expuestas a 5 isoflavonas

Compuestos fenólicos presentes en muchas plantas

Flemingia philippinensis

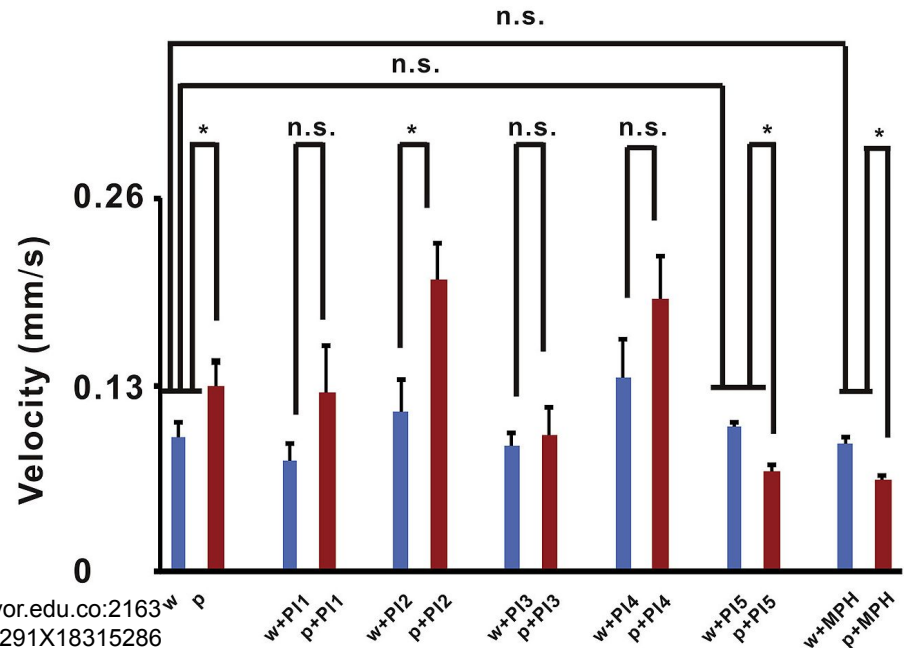
Contiene varias isoflavonas



Extracción isoflavonas de la raíz

Cromatografía

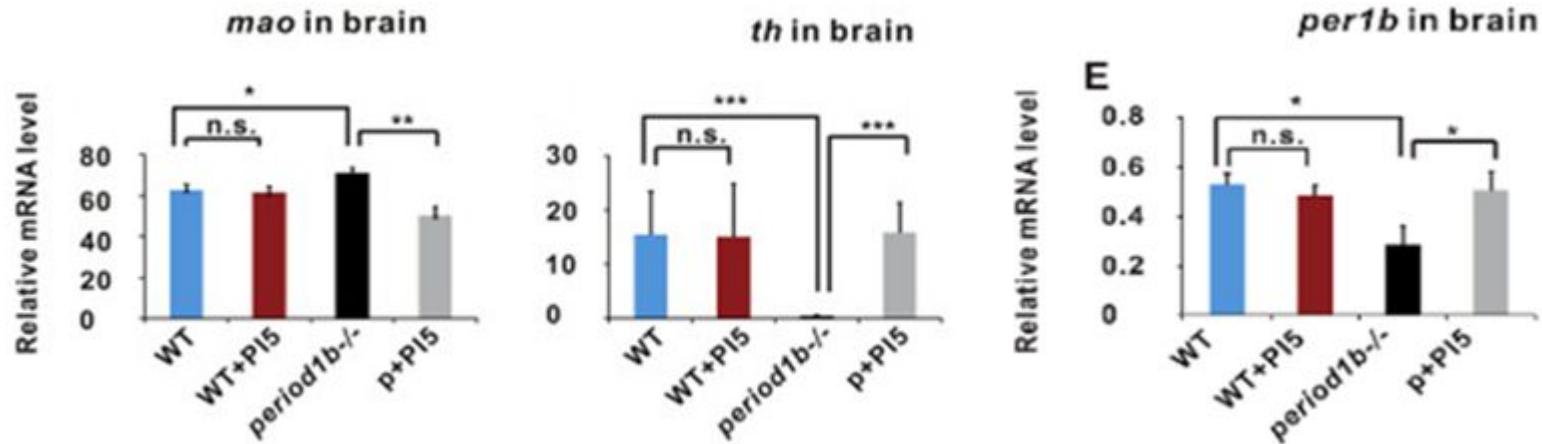
Flemifilipina 1 (P11)
Flemifilipina E (P12)
6,8 Diprenirobol (P13)
Flemingsina (P14)
Auriculasina (P15)



Aplicaciones del modelo Pez cebra: Evaluación de isoflavonas para tratar la hiperactividad en el TDAH

Expresión de genes implicados en la síntesis y degradación de DA

qRT-PCR inversa



<https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0006291X18315286>

Aumento niveles de DA



Terapia alternativa

Conclusiones

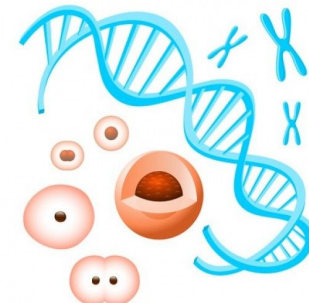
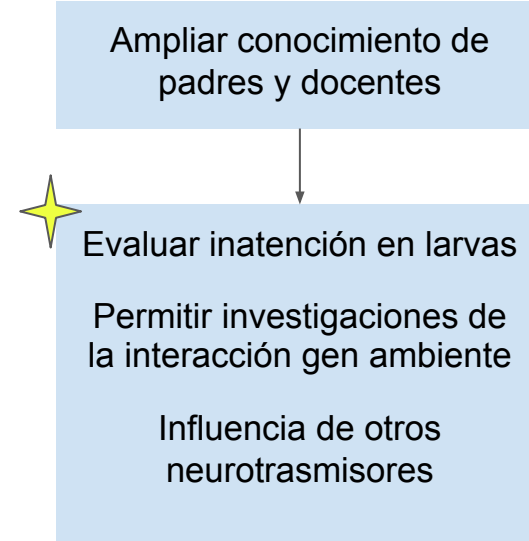
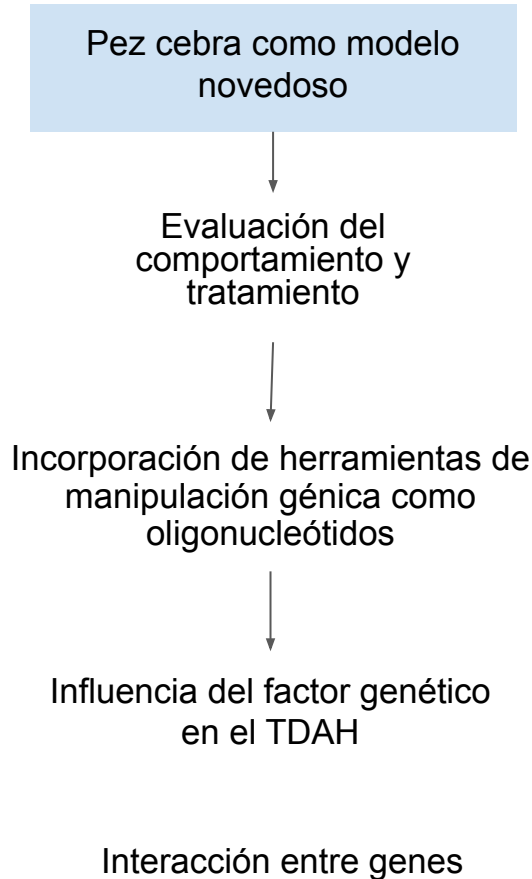


https://www.google.com/search?q=conclusiones&btn=msch&ved=2ahNKEwL4vB1v32AXtXoDHLemADAO2-cCegQIABAA&sq=conclusiones&gs_l=capNblWoCAzICAAQgAO2q2MyCAGAEAELEEDMgsABCABBCAxCDATIFCAAQgA2yR0gAEAEIEgUABCBDFCAAQgA2yR0gAEAEIEgUABCBDFCAAQgA05BAgaeMBCAgAELEDEMB0gsASChA4fEOg9sACAJwCCARBE0g9IABADIUOWJUTYH4u4Bw4W4p4F4A4C4p4B4x14N4S4K4AB4aoBC2s3ey13aXoaW4W4EB4E4B4client=eng&e=AJM4you3GNOJp&P4yCg44&hh=65T&blw=1366&tiz=1C1CH2N_esC0962C0962&imgcr=7YEzoyC007M

- El pez cebra presenta variedad de ventajas como modelo de investigación para el TDAH, una de estas son los genes ortólogos, que además se clasifican según el sistema al que afectan.
- Existen tres hipótesis relacionadas con el TDAH, la hipótesis serotoninérgica, noradrenérgica y dopaminérgica, siendo esta última la más estudiada en el TDAH, la cual habla de la teoría tónica-fásica de la DA que explica cómo surge cada uno de los síntomas.
- Existen ensayos que permiten evaluar los tres síntomas característicos del TDAH en el pez cebra, tanto en larvas como en adultos, el ensayo de locomoción determina la hiperactividad en larvas y el ensayo de campo abierto en adultos, por último el ensayo de 5-C5RTT determina la impulsividad e inatención en el Pez cebra adulto.

- Por medio de técnicas de manipulación génica como el uso de oligonucleótido de morfolino se han desarrollado peces mutantes para distintos genes ortólogos, los cuales en el humano son predisponentes para el desarrollo de la patología, como los son los genes LPHN3 y PER1, que indirectamente están implicados en la sinapsis dopaminérgica.
- Someter los mutantes del pez cebra a tratamiento con fármacos agonistas y antagonistas de receptores de DA permiten relacionar las alteraciones en estos receptores en el desarrollo de síntomas como la hiperactividad.
- El modelo permite desarrollar la investigación a nivel farmacológico, lo cual es importante ya que se puede evaluar la acción de fármacos existentes, y así mismo permite proponer nuevas alternativas farmacológicas como la aurículasina.

Perspectivas futuras



Referencias

- Rodríguez C. Efecto de la temperatura en la determinación sexual durante la fase de desarrollo del zebrafish (*Danio rerio*). [Ingeniería de Sistemas Biológicos]. Barcelona: Universitat Politècnica de Catalunya Universitat Politècnica de Catalunya; 2016.
- Fontana B, Franscescon F, Rosemberg D, Norton W, Kalueff A, Parker M. Zebrafish models for attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* [Internet] 2019 [Cited 20 mar 2021]; 100 (9-18). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0149763418308807>
- Midttun H, Vindas M, Nadler L, Overli O, Johansen I. Behavioural effects of the common brain-infecting parasite *Pseudoloma neurophilia* in laboratory zebrafish (*Danio rerio*). *Sci Rep* [Internet] 2020 [Cited 5 jul 2021]; 10 (8083). Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7228949/>
- Parker M, Brock A, Sudwarts A, Brennan C. Atomoxetine reduces anticipatory responding in a 5-choice serial reaction time task for adult zebrafish. *Psychopharmacology* [Internet] 2014 [Cited 2 ago 2021]; 231 (2671–2679). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2425/article/10.1007/s00213-014-3439-z>
- Wang T, Liuc Y, Liu H, Li C, Wang Y. Auriculasin from *Flemingia philippinensis* roots shows good therapeutic indexes on hyperactive behavior in zebrafish. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [Internet] 2018 [Cited 21 sep 2021]; 503 (1254-1259). Available in: <https://ezproxy.unicolmayor.edu.co:2163/science/article/pii/S0006291X18315286>



XIX ENCUENTRO REGIONAL DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN 2021

**"LOS SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN EN PANDEMIA
RETOS PARA LOS PROCESOS DE FORMACIÓN"**

**La Fundación Red Colombiana de Semilleros de Investigación RedColsi
Nodo Bogotá - Cundinamarca**

Otorga certificado a:

Karoll Astrid Silvestre Lagos

Con cedula de ciudadanía: **1.013.689.226**

en calidad de: **Ponente**

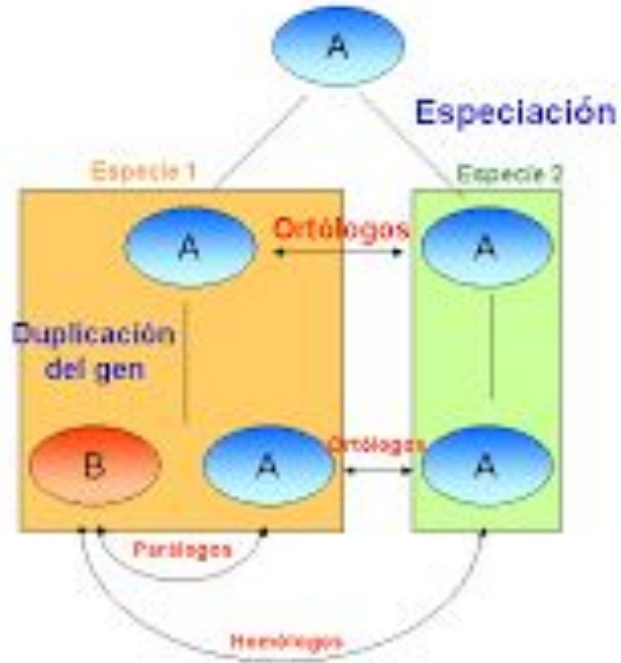
En el XIX Encuentro Regional de Semilleros de Investigación,
Nodo - Bogotá - Cundinamarca *Modalidad Virtual*, durante los días 10 al 14 de Mayo de 2021.

Carlos Edwin Carranza Gutierrez
Coordinador RedCOLSI
Nodo Bogotá - Cundinamarca

German Eduardo Vargas Zapata
Tesorero RedColsi
Nodo Bogotá - Cundinamarca

Gracias

Homólogos/Ortólogos/Parálogos



http://www.pdg.cnb.uam.es/cursos/Master2005/Fam_theory/familias.pdf

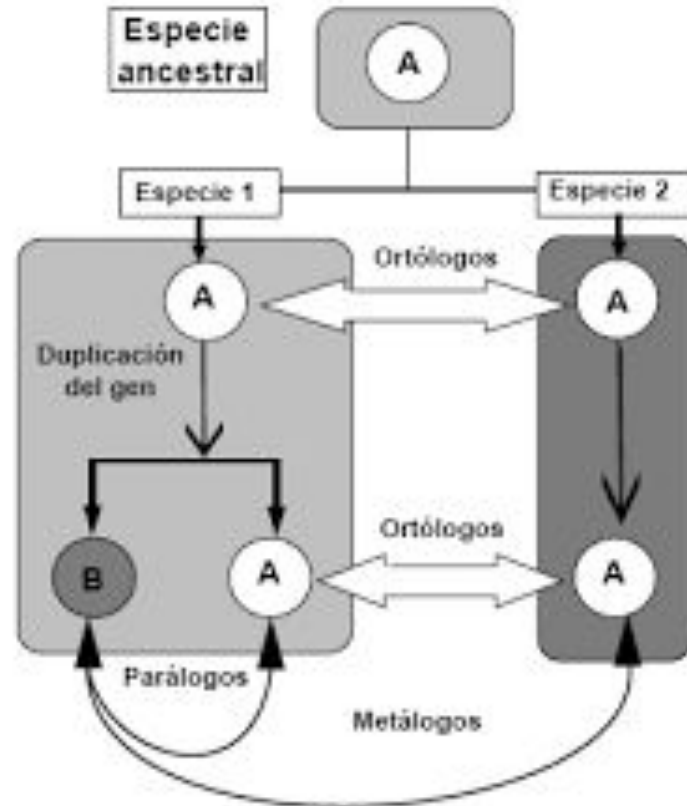


Figura 1. Relaciones de homología entre los genes

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332008000100011