

## **Efecto de la alteración glutamatérgica por activación del receptor de kainato sobre la memoria y conducta social en ratones juveniles**

Guadalupe Montserrat Flores-Zarate<sup>1,2\*</sup>, Miriam Guadalupe Contreras-Vázquez<sup>1,2\*</sup>, Lendy Yustin García-Miranda<sup>1</sup>, Eduardo de Jesús Delgado-Bautista<sup>1,2</sup>, Esther Juárez-Cortes<sup>1,3</sup> y José Vicente Negrete Díaz<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Plasticidad Cerebral y Neurociencia Integrativa, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato, México.

<sup>2</sup>Programa de Licenciatura en Psicología Clínica, Departamento de Enfermería Clínica, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato, México.

<sup>3</sup>Programa de Licenciatura en Fisioterapia, Departamento de Enfermería Clínica, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato, México.

jv.negrete@ugto.mx

esther.juarez@ugto.mx

ly.garciamiranda@ugto.mx

### **Resumen**

En México se tiene una alta prevalencia de trastornos mentales como la depresión, ansiedad, trastorno bipolar y esquizofrenia, en los últimos años la Pandemia por COVID 19 ha representado un factor importante en la salud mental, aumentando significativamente la cifra de personas con déficit cognitivo, afectivo y social prevalente en enfermedad mental. Este estudio deriva de el interés por nuestro grupo en conocer las alteraciones en la neurotransmisión en el desarrollo y su influencia en las conductas relacionadas a desordenes mentales, investigamos en ratón en etapa juvenil la modulación de la neurotransmisión glutamatérgica derivada de la activación de receptores de glutamato de tipo kainato. Debido a estudios anteriores se hipotetiza que la administración de ácido kaínico en la concentración de 5 mg/kg confiere vulnerabilidad a alteraciones en la conducta cognitiva en cuanto a memoria de reconocimiento y en la interacción social, las cuales fueron evaluadas mediante Prueba de Reconocimiento de Objeto Novedoso (NORT) y la prueba de Interacción Social (IS), respectivamente. Los resultados obtenidos sugieren que la modificación en la neurotransmisión del sistema glutamatérgico a edad juvenil podría influir en la alteración de la memoria y conducta social.

**Palabras clave:** glutamato, receptores de kainato, memoria, interacción social.

### **Antecedentes**

El glutamato se produce a una concentración de 10 mM en el cerebro de los mamíferos, es por ello que es el más abundante (Schousboe, 1981). Contribuye a la mayor parte de la transmisión excitatoria en el cerebro de mamíferos, interviene en procesos de transmisión sináptica, plasticidad y modulación (P. Li et al., 1999). Los receptores de glutamato se dividen en: inotrópicos (iGluRs) que participan en la transmisión rápida, los cuales son divididos en tres tipos dependiendo del agonista que los activan con mayor afinidad: receptores ácido N-metil-D-aspartico (NMDARs), receptores ácidos  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-izoxazolepropionico (AMPA) y kainato (KARs) y metabotrópicos (mGluRs) que participan en la transmisión mediada por una proteína G que interviene como segundo mensajero (Traynelis et al., 2010) (figura 1).

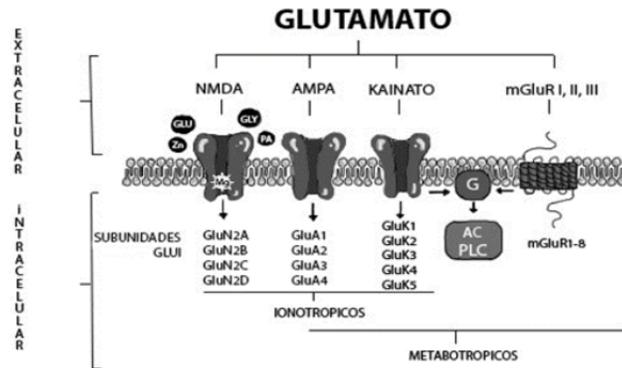


Figura 1. Receptores ionotrópicos y metabotrópicos de glutamato. NMDA, N-metil-D aspartato; AMPA, ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxalopropiónico; mGluRI, II y III, receptores I, II y III metabotrópicos a glutamato; AC, Adenilato Ciclasa; PLC, fosfolipasa C.

Los receptores de kainato (KARs) son activados por el compuesto excitotóxico ácido kainico (Nadler et al., 1981) y se encuentran en células piramidales e interneuronas del hipocampo, la amígdala lateral, el ganglio de la raíz dorsal, en las células de la retina, corteza cerebral, el globo pálido y en cerebelo (Huettner, 2003). El canal iónico de kainato es permisivo a  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , aunque se ha estudiado su acoplamiento a cascada de proteína G, por ello juega papel de receptor ionotrópico y metabotrópico (Straub et al., 2011). La estimulación de KARs por administración de ácido kaínico modula la liberación de glutamato mediante la concentración a la que se administre, es por ello que estudios anteriores demostraron que en concentraciones nanomolares, la aplicación de KA ( $>50\text{nM}$ ) facilita la liberación de glutamato (Herb et al., 1992), mientras que en concentraciones nanomolares altas ( $>100\text{nM}$ ) se inhibe su liberación (Negrete-Díaz et al., 2007).

En México la depresión y ansiedad son los principales trastornos mentales, seguidos de trastorno bipolar, esquizofrenia y trastornos alimenticios, dichos trastornos se ven acompañados de déficit cognitivo, afectivo y social. En los últimos años de Pandemia han representado factores importantes que repercuten en la salud mental, un estudio realizado en 2022 reportó que el 28% de la población mexicana estudiada presentaron síntomas de estrés posttraumático clínicamente significativo con tasas más altas en mujeres, personas menores de 35 años y personas con niveles socioeconómicos y educativos más bajos (Tausch et al., 2022).

La evaluación cognitiva de roedores con administración de kainato se realizó mediante la prueba de reconocimiento de objeto novedoso (NORT), la cual evalúa la capacidad de memoria de los animales. Requiere de tres objetos, numerados A, B y C y una arena de campo abierto (Zhu et al., 2018). La prueba incluye tres periodos: habituación, entrenamiento/ familiarización y prueba. En el periodo de habituación el ratón se coloca en la arena vacía y se le permite la exploración por 10 minutos, en el periodo de familiarización se colocan los objetos A y B en la arena del campo abierto y el ratón es colocado entre los dos objetos, donde se permite la exploración por alrededor de 5 minutos, posteriormente el ratón es devuelto al contenedor hogar, en el último periodo el objeto B es remplazado por el C y el ratón colocado de nuevo en medio de los dos objetos y se le permite la exploración por alrededor de 5 minutos. Entre cada uno de los periodos la arena debe limpiarse con alcohol para eliminar olores y desechos. El tiempo de cada uno de los periodos varía a fines específicos del estudio. El movimiento del ratón es registrado por una cámara y analizado posteriormente. Oler o tocar con la nariz y/o patas delanteras dentro de los 2 cm alrededor de los objetos se define como un evento de exploración. Sentarse o apoyarse en los objetos no se considera un comportamiento exploratorio. El índice de discriminación se calcula como el tiempo dedicado a explorar el objeto C dividido por el tiempo dedicado a explorar en ambos objetos. La base del índice de discriminación en ratones y ratas es alrededor del 70% (Zhu et al., 2014) (Schuch et al., 2016).

El comportamiento social es una construcción que incluye componentes sociales, interacción y memoria de reconocimiento y forma la base de comportamientos esenciales para la vida en grupo en la mayoría de las especies (Gabor et al., 2012) (Moy et al., 2004). En los humanos, es un intercambio de expresividades, símbolos, miradas, significados compartidos, gesticulaciones sobreentendidas, actos de correspondencia mutua (Benites et al., 2013), en otras palabras es un conjunto de conductas en las que nos relacionamos con otros. Es bien sabido que las alteraciones en la conducta son un indicio de alteraciones mentales, puesto que es "...Un síndrome caracterizado por una alteración clínicamente significativa del estado cognitivo, la regulación emocional o el comportamiento de un individuo, que refleja una disfunción de los procesos

psicológicos, biológicos o del desarrollo que subyacen en su función mental.” (American Psychiatric Association, 2013). Con lo anterior podemos destacar e inferir que el comportamiento social de un individuo y su alteración son indicios de afectaciones *mentales*.

Diversos estudios informan que el comportamiento social requiere de múltiples regiones cerebrales como la corteza media prefrontal (Felix-Ortiz et al., 2016)(Rilling et al., 2002). Las neuronas colinérgicas del prosencéfalo basal tienen un rol fundamental en funciones sociales, este sistema colinérgico se compone de células discretas que inervan diversas regiones cerebrales; las neuronas del tabique medial (MS) y la banda diagonal vertical de Broca (vDB) conllevan a proyecciones colinérgicas en hipocampo y corteza media prefrontal, las neuronas del núcleo basal magnocelularis (NBM) proporcionan inervaciones colinérgicas a toda la corteza y la amígdala basolateral (X. Li et al., 2017; Woolf, 1991).

Las deficiencias en las funciones sociales se observan en padecimientos mentales como la esquizofrenia, depresión y trastornos relacionados con la ansiedad (American Psychiatric Association, 2013). Los modelos animales que se usan para el estudio de estos padecimientos son determinantes para identificar objetivos farmacológicos y tratamientos más eficaces (*Animal and Translational Models for CNS Drug Discovery - Google Libros*, n.d.). La prueba de interacción social (IS) analiza el comportamiento de dos ratones que no están familiarizados entre sí y su interacción en una arena de campo abierto, proporcionando una medida de interés social, considerando que una disminución en la interacción y una mayor evitación activa en comparación con ratones de grupos control son menos sociales (File, 1980; File & Seth, 2003; Lapin et al., 1996).

Finalmente, las pruebas de Campo Abierto e Interacción Social son útiles para fenotipar comportamientos animales que se asocian con aspectos de comportamiento observados en humanos que padecen o no una enfermedad mental (Kraeuter et al., 2019).

## **Materiales y métodos**

### **Modelo experimental**

Se emplearon ratones de la cepa C57 Blc/6, se mantuvieron en condiciones estándar en un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 (8:00 a.m.- 8:00 p.m.) con libre acceso a agua y alimento, con una temperatura de 18-23°C y humedad 50-60%. Se mantuvieron en el Bioterio del Campus Celaya-Salvatierra de la Universidad de Guanajuato. Se crearon dos grupos asignando los organismos de manera aleatoria, a un grupo se le administró intraperitonealmente solución salina al 0.9% (grupo salina) y al otro 5 mg/kg de kainato (grupo kainato, KA, obtenido de Sigma-Aldrich).

### **Pruebas conductuales y tratamiento**

Las pruebas conductuales se realizaron en un cuarto sonoamortiguado a una temperatura de 25-30°C, humedad de 50-60% e iluminación de 100 lumens. Las distintas pruebas permitieron evaluar procesos cognitivos y sociales, y se realizaron en la semana 7 y 8 posnatales, previo a la segunda evaluación se administraron los distintos tratamientos.

### **Prueba de reconocimiento de objeto novedoso (NORT)**

Se evaluó memoria de reconocimiento mediante una arena rectangular de 45 X 35 cm de color blanco. Se configuraron cámaras que videograbaron la arena de la prueba NORT para su posterior análisis. Se establecieron 3 fases: habituación, familiarización y reconocimiento de objeto novedoso, cada una de 10 minutos de duración. La fase de habituación se realizó introduciendo al ratón en la arena sin objetos, en la fase de familiarización los ratones se colocaron en la arena con dos objetos (A y B), en una ubicación equidistante, la fase de reconocimiento de objeto novedoso consistió en reemplazar el objeto B por un objeto C (figura 2). Luego de los 10 minutos de duración de cada una de las fases el ratón era devuelto a una caja de traslado para colocarse finalmente en su caja hogar, y procediendo a limpiar la arena con alcohol al 70% antes de introducir al siguiente animal.



Figura 2. Arena para la prueba de reconocimiento de objeto novedoso (NORT, novel object recognition test, por sus siglas en inglés), en sus tres fases: habituación, familiarización y memoria de reconocimiento.

#### Cálculo del índice de discriminación

El índice de discriminación se calcula como restando el objeto familiar al tiempo dedicado a explorar el objeto novedoso, dividido entre la suma de ambos.

$$x = \frac{\text{Tiempo novedoso} - \text{tiempo familiar}}{\text{Tiempo novedoso} + \text{tiempo familiar}}$$

#### Prueba de Interacción Social (IS)

Se evaluó la interacción social en una arena rectangular de 45 x 35 cm de color blanco (figura 3). Se configuraron cámaras que videograbaron la arena de la prueba IS. Se establecieron 2 fases: familiarización e interacción social. En la fase de familiarización se colocaron dos contenedores vacíos en la arena y se introdujo al ratón a una distancia media de estos, en la fase de interacción social se colocó un ratón que no estaba familiarizado con el ratón experimental (estimulo social) en uno de los dos contenedores, dejando el otro contenedor vacío, posteriormente se colocó al ratón en una distancia media de estos (figura 3).

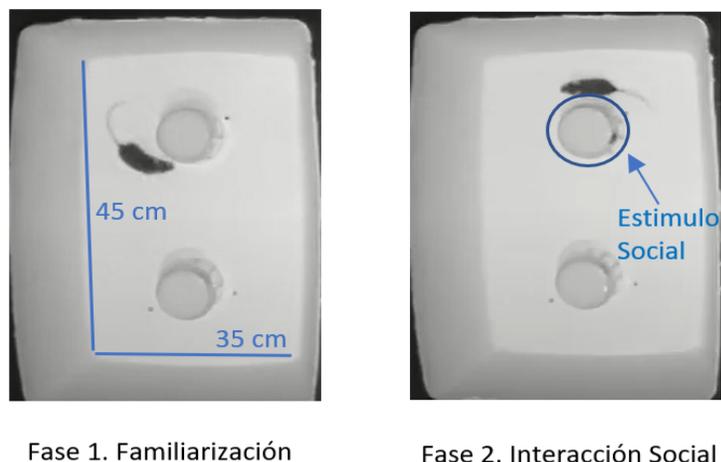


Figura 3. Arena para la prueba de Interacción Social (IS). Fases de familiarización e interacción social.

En cada una de las fases se permitió la exploración del ratón por 10 minutos, al finalizar cada etapa el ratón era devuelto a una caja de traslado para colocarse en su caja hogar y entre cada una de ellas se limpió la arena con alcohol al 70%.

#### Análisis de datos en software de conducta

Al finalizar las pruebas conductuales se evaluaron los vídeos capturados en su realización, estos fueron procesados y posteriormente analizados en el software Ethovision XT, donde se obtuvo lo siguiente:

- a) Prueba de Reconocimiento de Objetos (NORT): Tiempo en zona de objeto novedoso, número de visitas al objeto novedoso y,
- b) Prueba de Interacción Social: tiempo y frecuencia de interacción con el estímulo social y frecuencia en área social.

#### Análisis estadístico

Los datos se analizaron y graficaron usando el programa GraphPad Prism 5.0. Se realizó una estadística descriptiva debido al número o de animales por grupo, los datos se expresaron en medias  $\pm$  EEM.

#### Consideraciones éticas

El estudio se realizó conforme a procedimientos descritos en el proyecto aprobado CIBIUG-P05-2018.

## Resultados

Prueba de Reconocimiento de Objeto Novedoso (NORT).

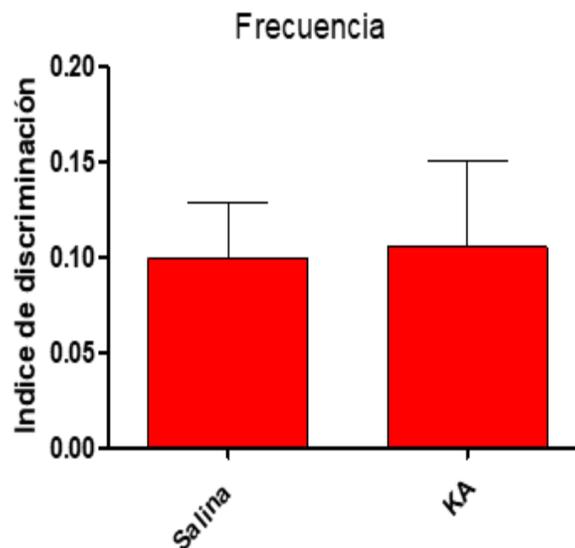


Figura 4. Índice de discriminación del número de visitas al objeto novedoso. Se observa diferencia entre el grupo con administración de solución salina y con administración de kainato en la frecuencia de visitas al objeto novedoso.

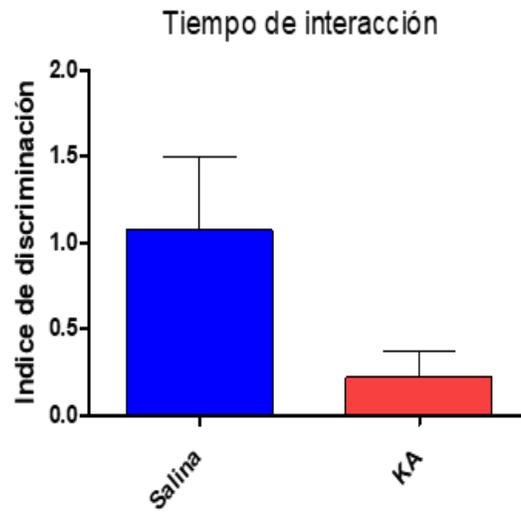


Figura 5. Índice de discriminación del Tiempo de interacción con el objeto novedoso. Se puede observar un mayor tiempo de interacción con el objeto novedoso en el grupo con administración de solución salina en comparación con el grupo de administración de kainato.

### Prueba de Interacción Social

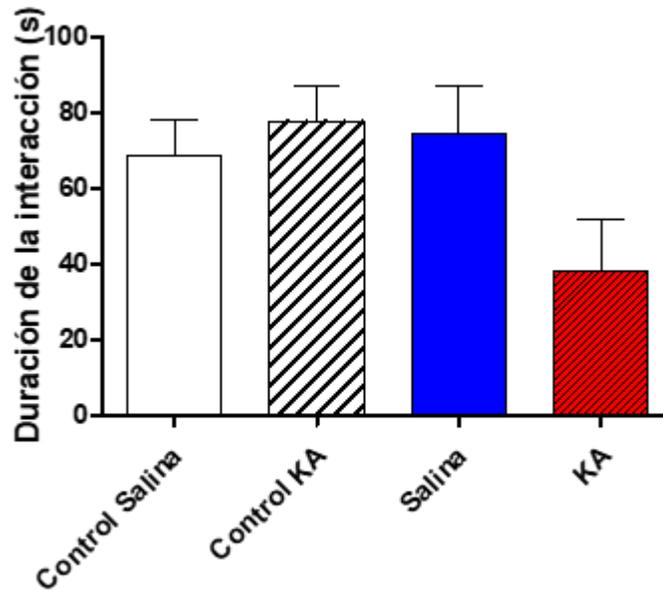


Figura 6. Tiempo de interacción con el estímulo social. Se observa una disminución notable en la duración de interacción del grupo con administración de kainato con respecto a los grupos controles y aquel con administración de solución salina.

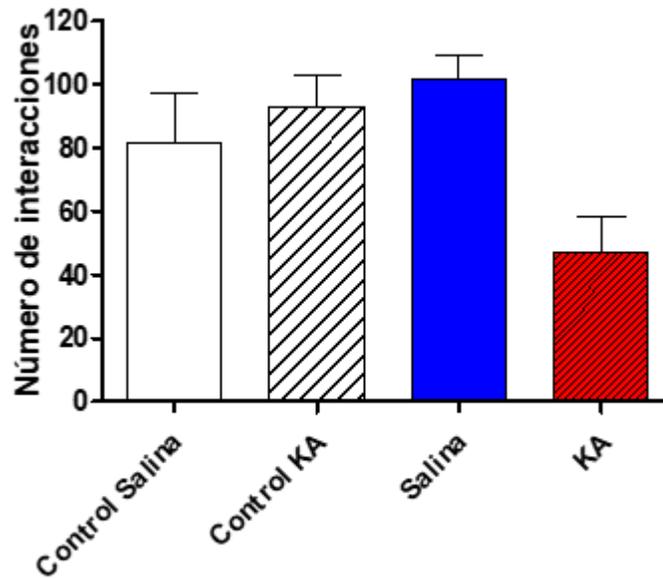


Figura 7. Frecuencia de interacción con el estímulo social. Se observa una disminución del número de interacciones con el estímulo social del grupo de kainato con respecto a grupos control y grupo con administración de solución salina.

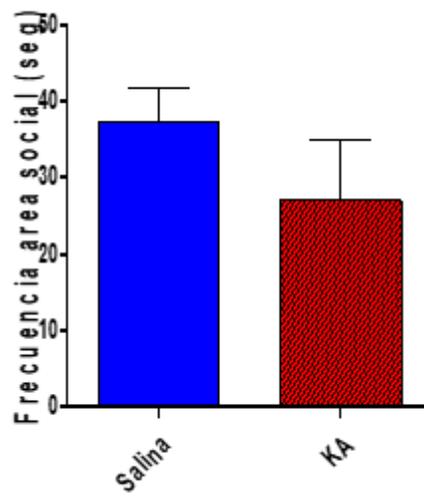


Figura 8. Frecuencia total en el área social. Se observa menor frecuencia en el área social del grupo con administración de kainato respecto al grupo con administración de solución salina

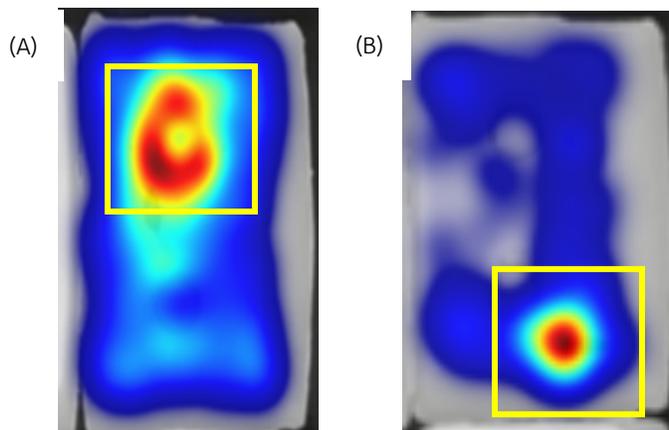


Figura 9. Mapas de calor de grupo con administración de solución salina (A) y grupo con administración de kainato (B), donde los colores fríos representan menor duración en el área, mientras que los cálidos una mayor duración. Se observa una mayor duración de interacción con la zona y estímulo sociales en A, mientras que en B tiene una mayor duración en el objeto vacío que no contiene el estímulo social.

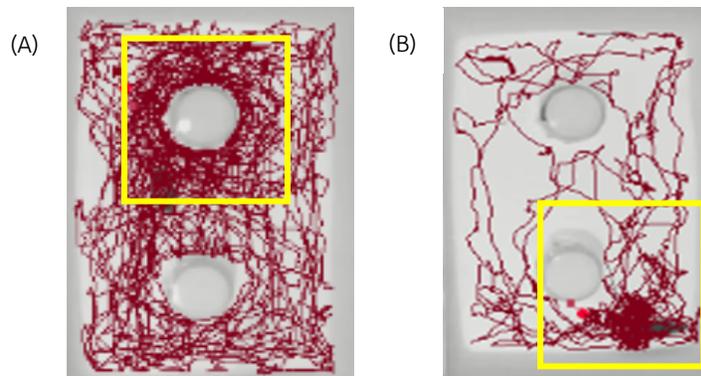


Figura 10. Tracking de recorrido del grupo con administración de solución salina (A) y administración de kainato (B). Se observa una mayor prevalencia del ratón en el área y estímulo sociales con respecto al grupo de administración de kainato en donde es notable la prevalencia en el área no social.

## Discusión de resultados

En nuestro estudio evaluamos la memoria de reconocimiento y la interacción social para investigar el efecto de la modulación de la liberación de glutamato, por activación de los receptores de kainato luego de la administración del agonista ácido kaínico. Encontramos que en el grupo administrado intraperitonealmente con kainato, los resultados en NORT muestran una disminución de la exploración del objeto novedoso, así como en la frecuencia de visitas a dicho objeto, con respecto al grupo control al que se le administró solución salina. De manera semejante, la conducta social se observó disminuida en el grupo con administración de kainato, con respecto al grupo administrado con solución salina. Se propone que los efectos observables son atribuibles a la administración de ácido kaínico, el cual actúa sobre el sistema glutamatérgico. Dichas condiciones observables en el grupo kainato son comparables a conductas relacionadas a enfermedad mental en el ser humano, es por ello por lo que es de importancia el estudio de este receptor y su potencial activación en eventos que pudieran modular la liberación o inhibición de glutamato en el sistema nervioso y predisponer o contribuir a enfermedad mental.

El número de organismos por grupo permitió realizar estadística descriptiva, un incremento en la  $n$  podrá poner en evidencia si las diferencias aquí observadas son significativas. Sin embargo, se encontraron

resultados que son congruentes con la evidencia en estudios anteriores, acerca de la influencia del receptor de kainato en la enfermedad mental, en concreto procesos cognitivos de memoria de reconocimiento y de interacción social, por lo que nuestros datos contribuyen al creciente acervo de la literatura sobre este receptor, que pretende explicar su compleja participación en la fisiopatología de trastornos mentales.

## Conclusión

Nuestros resultados sugieren que una modificación de la neurotransmisión en el sistema glutamatérgico debido a la administración de ácido kainico y posterior activación del receptor de glutamato de tipo kainato a edades juveniles podría estar participando en una alteración del procesamiento de la respuesta social y la memoria de reconocimiento.

## Agradecimientos

1. Beca de Verano de la Ciencia 2022 otorgada a las alumnas G.M.F-Z y a MG.C.-V.
2. Proyecto 014/2022, Convocatoria CIIC 2022, UGto. otorgado a J.V.N.D.
3. Programas de Licenciatura en Psicología y Licenciatura en Fisioterapia, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato.
4. Apoyos a Cuerpos Académicos 2021 y 2022, Departamento de Enfermería, División de Ciencias de la Salud en Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra Universidad de Guanajuato.
5. Rectoría de Campus Celaya-Salvatierra por las facilidades para la extensión del área de trabajo del laboratorio de Plasticidad Cerebral y Neurociencia Integrativa.

## Referencias

- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. <https://doi.org/10.1176/APPI.BOOKS.9780890425596>
- Animal and Translational Models for CNS Drug Discovery - Google Libros*. (n.d.). Retrieved July 26, 2022, from [https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=PP06je29CrMC&oi=fnd&pg=PP1&ots=zePLf4occ3&sig=hwtQHq2YBQJXw09KFW9SvrRPTEE&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=PP06je29CrMC&oi=fnd&pg=PP1&ots=zePLf4occ3&sig=hwtQHq2YBQJXw09KFW9SvrRPTEE&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- Benites, J. J., Benites, J. J., & Rodríguez, R. E. G. (2013). Interacción social y transporte público: Erving Goffman en la combi. *URBS. Revista de Estudios Urbanos y Ciencias Sociales*, 3(1), 144–154. <http://www2.ual.es/urbs/index.php/urbs/article/view/62>
- Felix-Ortiz, A. C., Burgos-Robles, A., Bhagat, N. D., Leppla, C. A., & Tye, K. M. (2016). Bidirectional modulation of anxiety-related and social behaviors by amygdala projections to the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 321, 197. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2015.07.041>
- File, S. E. (1980). The use of social interaction as a method for detecting anxiolytic activity of chlordiazepoxide-like drugs. *Journal of Neuroscience Methods*, 2(3), 219–238. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(80\)90012-6](https://doi.org/10.1016/0165-0270(80)90012-6)
- File, S. E., & Seth, P. (2003). A review of 25 years of the social interaction test. *European Journal of Pharmacology*, 463(1–3), 35–53. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01273-1](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01273-1)
- Gabor, C. S., Phan, A., Clipperton-Allen, A. E., Kavaliers, M., & Choleris, E. (2012). Interplay of oxytocin, vasopressin, and sex hormones in the regulation of social recognition. *Behavioral Neuroscience*, 126(1), 97–109. <https://doi.org/10.1037/A0026464>
- Herb, A., Burnashev, N., Werner, P., Sakmann, B., Wisden, W., & Seeburg, P. H. (1992). The KA-2 subunit of excitatory amino acid receptors shows widespread expression in brain and forms ion channels with distantly related subunits. *Neuron*, 8(4). [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(92\)90098-X](https://doi.org/10.1016/0896-6273(92)90098-X)
- Huettner, J. E. (2003). Kainate receptors and synaptic transmission. In *Progress in Neurobiology* (Vol. 70, Issue 5). [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(03\)00122-9](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(03)00122-9)
- Kraeuter, A. K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. (2019). Free Dyadic Social Interaction Test in Mice. *Methods in Molecular Biology*, 1916, 93–97. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2\\_8/TABLES/1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_8/TABLES/1)
- Lapin, I. P., Mutovkina, L. G., Ryzov, I. V., & Mirzaev, S. (1996). Anxiogenic activity of quinolinic acid and

- kynurenine in the social interaction test in mice. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 10(3), 246–249. <https://doi.org/10.1177/026988119601000312>
- Li, P., Wilding, T. J., Kim, S. J., Calejesan, A. A., Huettner, J. E., & Zhuo, M. (1999). Kainate-receptor-mediated sensory synaptic transmission in mammalian spinal cord. *Nature*, 397(6715). <https://doi.org/10.1038/16469>
- Li, X., Yu, B., Sun, Q., Zhang, Y., Ren, M., Zhang, X., Li, A., Yuan, J., Madisen, L., Luo, Q., Zeng, H., Gong, H., & Qiu, Z. (2017). Generation of a whole-brain atlas for the cholinergic system and mesoscopic projectome analysis of basal forebrain cholinergic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(2), 415–420. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1703601115/-DCSUPPLEMENTAL>
- Moy, S. S., Nadler, J. J., Perez, A., Barbaro, R. P., Johns, J. M., Magnuson, T. R., Piven, J., & Crawley, J. N. (2004). Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice. *Genes, Brain, and Behavior*, 3(5), 287–302. <https://doi.org/10.1111/J.1601-1848.2004.00076.X>
- Nadler, J. V., Evenson, D. A., & Cuthbertson, G. J. (1981). Comparative toxicity of kainic acid and other acidic amino acids toward rat hippocampal neurons. *Neuroscience*, 6(12). [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(81\)90096-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(81)90096-8)
- Negrete-Díaz, J. V., Sihra, T. S., Delgado-García, J. M., & Rodríguez-Moreno, A. (2007). Kainate receptor-mediated presynaptic inhibition converges with presynaptic inhibition mediated by Group II mGluRs and long-term depression at the hippocampal mossy fiber-CA3 synapse. *Journal of Neural Transmission*, 114(11). <https://doi.org/10.1007/s00702-007-0750-4>
- Rilling, J. K., Gutman, D. A., Zeh, T. R., Pagnoni, G., Berns, G. S., & Kilts, C. D. (2002). A neural basis for social cooperation. *Neuron*, 35(2), 395–405. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00755-9](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00755-9)
- Schousboe, A. (1981). Transport and metabolism of glutamate and gaba in neurons and glial cells. *International Review of Neurobiology*, 22(C). [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(08\)60289-5](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(08)60289-5)
- Schuch, C. P., Jeffers, M. S., Antonescu, S., Nguemeni, C., Gomez-Smith, M., Pereira, L. O., Morshead, C. M., & Corbett, D. (2016). Enriched rehabilitation promotes motor recovery in rats exposed to neonatal hypoxia-ischemia. *Behavioural Brain Research*, 304, 42–50. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2016.02.010>
- Straub, C., Hunt, D. L., Yamasaki, M., Kim, K. S., Watanabe, M., Castillo, P. E., & Tomita, S. (2011). Distinct functions of kainate receptors in the brain are determined by the auxiliary subunit Neto1. *Nature Neuroscience*, 14(7). <https://doi.org/10.1038/nn.2837>
- Tausch, A., e Souza, R. O., Viciano, C. M., Cayetano, C., Barbosa, J., & Hennis, A. J. (2022). Strengthening mental health responses to COVID-19 in the Americas: A health policy analysis and recommendations. *The Lancet Regional Health - Americas*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.lana.2021.100118>
- Traynelis, S. F., Wollmuth, L. P., McBain, C. J., Menniti, F. S., Vance, K. M., Ogden, K. K., Hansen, K. B., Yuan, H., Myers, S. J., & Dingledine, R. (2010). Glutamate receptor ion channels: Structure, regulation, and function. In *Pharmacological Reviews* (Vol. 62, Issue 3). <https://doi.org/10.1124/pr.109.002451>
- Woolf, N. J. (1991). Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Progress in Neurobiology*, 37(6), 475–524. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(91\)90006-M](https://doi.org/10.1016/0301-0082(91)90006-M)
- Zhu, W., Gao, Y., Chang, C. F., Wan, J. R., Zhu, S. S., & Wang, J. (2014). Mouse Models of Intracerebral Hemorrhage in Ventricle, Cortex, and Hippocampus by Injections of Autologous Blood or Collagenase. *PLoS ONE*, 9(5), 97423. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0097423>
- Zhu, W., Gao, Y., Wan, J., Lan, X., Han, X., Zhu, S., Zang, W., Chen, X., Ziai, W., Hanley, D. F., Russo, S. J., Jorge, R. E., & Wang, J. (2018). Changes in motor function, cognition, and emotion-related behavior after right hemispheric intracerebral hemorrhage in various brain regions of mouse. *Brain, Behavior, and Immunity*, 69, 568. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2018.02.004>