



UNAM IZTACALA

# Universidad Nacional Autónoma de México

## Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**Efecto de la Melatonina en la actividad motora y citología de la corteza, hipocampo, cuerpo estriado y sustancia nigra compacta de ratas envejecidas**

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
LICENCIADA EN PSICOLOGIA  
P R E S E N T A (N)  
**Alejandra Rosas Núñez**

Directora: Dra. **María Rosa Avila Costa**  
Dictaminadores: Dra. **Verónica Anaya Martínez**  
Dr. **José Cristóbal Pedro Arriaga Ramírez**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

El uso de imágenes, 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 donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al proyecto PAPIIT-DGAPA IN220111 y al proyecto PAPCA-2013 No.12.

A las Doctoras María Rosa Avila, Verónica Anaya y al Doctor Pedro Arriaga por ser parte del sínodo, a la Doctora Laura Colín por la beca que me proporcionó.

Gracias María Rosa por tus jalones de orejas, por tu apoyo y por enseñarme que los acontecimientos pueden ser posibles en la medida que lo busques. Gracias Vero por tu paciencia y disposición incondicional. María Rosa te admiro inmensamente por tu capacidad para salir adelante ante cualquier situación y por tu temperamento tan audaz para dirigir al equipo de Neuromorfología.

Esta tesis es resultado del trabajo en equipo, agradezco a Paty, Ana, Chucho y José Luis por sus aportaciones en la metodología y los resultados; a Carmen y a Ricardo por sus desvelos y apoyo en la redacción y bibliografía de este documento y de los seminarios; a Montse por sus preguntas frecuentes en los seminarios, que bien me pusieron en aprietos pero me ayudaron bastante; a mis colegas Javier y Fidencio por enseñarme que los psicólogos no sólo podemos ser parte de las Neurociencias, somos fundamentales; a Enrique por su constante buen sentido del humor y apoyo para resolver dudas.

A Lichita que es un amor de persona y a la Doctora Laura Colín por impulsarme en cada momento a consolidar este proceso.

Amigos me llevo mucho de ustedes se quedan con una parte de mi corazón, todos y cada uno de ustedes son muy especiales para mí. El día de mi titulación compartiré esta dicha y felicidad con ustedes, es un triunfo de todos, son fundamentales para cerrar el ciclo.

## **DEDICATORIA**

A mi familia: Al Señor Armando Rosas y a la Gran Señora Socorro Núñez.

Padres doy gracias a la vida y a la genética por estar aquí, mamita te agradezco infinitamente llevarme en tu vientre y mostrarme la luz del día y el camino a la libertad. Nunca dudes de los valores que sembraste en mí, son ellos los que nunca olvidarán de ti, TE AMO. Papito hermoso gracias por regresar al amor de nuestro hogar, quédate aquí para siempre.

Al príncipe: Emiliano. Te amo, quiero verte crecer, dar tus primeros pasos, emitir tus primeras palabras y escuchar esas carcajadas me hacen sentir que la vida es más que hermosa, dichosa yo de disfrutar tu existencia.

A mis hermanos: Fabis, Cinti y Armando.

Fabián Rosas mi hermanito, siento un gran orgullo y admiración por tus logros y los que vendrán eres muy brillante por tu esfuerzo constante. Mi brazo extendido está para que lo tomes si lo llegas a necesitar.

Cintia Rosas mi fortaleza, sabiduría y apoyo incondicional, hermanita te voy a extrañar pero nunca dejar de frecuentar. Cintia y Hugo, regálenos una niñita le hace falta a esta familia.

Armando Rosas mi hermano mayor, fortaleza y dador de vida, me siento muy orgullosa de ti y de Diana por su valentía y amor a la vida. Mando no olvides que amamos a tu familia, son parte de esta dicha. No tengo palabras para agradecer este apoyo que me has brindado para titularme, hermano te amo de todo corazón ¡muchas gracias! no sabes la magnitud de tu apoyo.

A mis padres, a mis tres hermanos y a mi Emi, motivos de mi existencia y de mi felicidad perpetua. GRACIAS POR SER MI FAMILIA.

## ABREVIACIONES

CAT Catalasa

CPU Caudado y putamen

DA Dopamina

D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub> Receptores Dopaminérgicos

EA Enfermedad de Alzheimer

EH Enfermedad de Huntington

ELA Esclerosis lateral amiotrófica

EP Enfermedad de Parkinson

ERN Especies reactivas de nitrógeno

ERO Especies reactivas de oxígeno

GB Ganglios Basales

GD Giro Dentado

GP Globo pálido

GPe Globo pálido externo

GPI Globo pálido interno

GPx Glutación peroxidasa

GRD Glutación reductasa

SNc Sustancia nigra compacta

SNr Sustancia nigra reticulada

SNP Sistema nerviosos periférico

SOD Superóxido dismutasa

S1 Corteza sensorial primaria

6-OHDA 6-hidroxidopamina

GSH Glutación

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Peróxido de hidrógeno

•HO<sub>2</sub> Hidroperoxilo

MT<sub>1</sub> y MT<sub>2</sub> Receptores de melatonina acoplados a proteínas G

MT<sub>3</sub> Enzima quinona reductasa

M1 Corteza motora primaria

Nacc Núcleo acumbens

NEM Neuronas espinosas medianas

NST Núcleo subtalámico

OH• Radical hidroxilo

O<sub>2</sub>•- Anión superóxido

O<sub>2</sub> Oxígeno

ROO• Radical peroxilo

SNC Sistema nervioso central

SN Sustancia nigra

# ÍNDICE

<b>1. Introducción</b>	
1.1 Antecedentes.....	2
1.2 Hipótesis del envejecimiento.....	4
1.1.1 Estrés oxidativo.....	4
1.1.2 Disfunción mitocondrial.....	5
1.1.3 Homeostasis del Calcio.....	8
<b>2. Estructuras cerebrales implicadas en la actividad motora y los procesos cognitivos</b>	<b>10</b>
2.1 Corteza Cerebral.....	10
2.1.1 Elementos Neuronales.....	11
2.1.2 Corteza Frontal.....	13
2.1.2.1 Corteza Motora.....	14
2.1.3 Corteza Parietal.....	15
2.2 Hipocampo.....	17
2.2.1 Elementos Neuronales.....	18
2.3 Ganglios Basales.....	19
2.3.1 Anatomía Funcional.....	19
2.3.2 Sustancia Nigra Compacta.....	21
2.3.3 Cuerpo Estriado.....	24
2.3.3.1 Elementos Neuronales.....	25
2.3.3.2 Aferencias del cuerpo estriado.....	27
2.4 Espinas Dendríticas.....	28
2.4.1 Pérdida de espinas dendríticas.....	30
<b>3. Antioxidantes</b> .....	<b>31</b>
3.1 Antioxidantes enzimáticos.....	32
3.2 Antioxidantes no enzimáticos.....	33
3.3 Melatonina.....	34
3.4 Receptores de Melatonina.....	36
3.5 Propiedades antioxidantes.....	37

3.5.1 Barredor de Radicales.....	37
3.5.2 Estimula el Sistema Antioxidante.....	38
<b>4. Justificación.....</b>	<b>40</b>
<b>5. Hipótesis Experimental.....</b>	<b>40</b>
<b>6. Objetivo General.....</b>	<b>41</b>
6.1 Objetivos particulares.....	41
<b>7. Material y Método.....</b>	<b>41</b>
<b>8. Resultados.....</b>	<b>44</b>
<b>9. Discusión.....</b>	<b>56</b>
<b>10. Conclusión.....</b>	<b>65</b>
<b>11. Referencias</b>	
<b>12. Anexo</b>	

## RESUMEN

El estudio del envejecimiento humano comenzó a centrarse en la pérdida neuronal a partir de la década de los 50's. La hipótesis de los radicales libres explica el proceso de envejecimiento como resultado de la acumulación de daño oxidativo en la célula y sus compartimentos. A pesar de que la neurona cuenta con un sistema antioxidante para remover el daño producido por la oxidación, en el envejecimiento este sistema pierde su capacidad de síntesis. El desequilibrio entre los factores oxidantes y antioxidantes produce degeneración e incluso muerte neuronal.

Las espinas dendríticas son proyecciones especializadas en la transmisión sináptica, vulnerables a situaciones de estrés oxidativo las cuales son más susceptibles de perderse en el envejecimiento. Se ha considerado que la degeneración neuronal se encuentra implicada con el déficit motor y cognitivo, procesos que dificultan las actividades cotidianas de los adultos mayores y deterioran la calidad de vida. La melatonina es una neurohormona que ha mostrado poseer propiedades antioxidantes y neuroprotectoras; sin embargo su síntesis disminuye con el envejecimiento.

El objetivo del presente estudio consistió en comparar el efecto de la melatonina sobre la conservación de neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra compacta (SNc), de espinas dendríticas de neuronas piramidales de la corteza, del hipocampo, de neuronas espinosas medianas del estriado, y el desempeño motor fino evaluado mediante la prueba de viga en ratas Wistar envejecidas. Nuestros resultados muestran que las áreas más susceptibles al daño durante el envejecimiento son las neuronas piramidales del hipocampo, de la corteza y las neuronas dopaminérgicas de la SNc. El tratamiento con melatonina conserva las espinas dendríticas de todas las estructuras analizadas; previene la muerte de las neuronas dopaminérgicas de la SNc y beneficia la actividad motora fina en ratas envejecidas. Las estructuras más beneficiadas fueron el hipocampo y la SNc. El tratamiento con melatonina durante el envejecimiento puede retardar o prevenir el daño citológico beneficiando la actividad motora, también podría complementar la terapia farmacológica en las enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson y de Alzheimer.

**Palabras clave:** envejecimiento, corteza, hipocampo, ganglios basales, melatonina, espinas dendríticas, actividad motora.



# 1. INTRODUCCIÓN

El envejecimiento es un proceso gradual que se caracteriza por modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciadas por los cambios inherentes a la edad y a la interacción del organismo en un ambiente determinado (Sánchez, 2003; Ángeles *et al.*, 2011; Beltrán *et al.*, 2011). La población del país es de 112.3 millones de personas, de las cuales el 9% (10 millones) corresponden a personas de 60 años en adelante, porcentaje que ha incrementado con el tiempo (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, México 2011).

El envejecimiento no es sinónimo de enfermedad, diversas patologías inician en etapas tempranas de la vida y persisten en la vejez (Murray y Lopez, 1977; Miller y O'Callaghan, 2005; González *et al.*, 2007). La prevalencia de la discapacidad se incrementa gradualmente a partir de los 45 años pero alcanza niveles significativamente altos a partir de los 70, modificando el desempeño motor y repercutiendo en la ejecución de actividades cotidianas (Brown, 1991; Vandervoort, 1992; Smith, 1999; Krampe, 2002; Ulfhake, 2002; Hortobágy, 2003; Programa de Acción Específico 2007-2012 Envejecimiento; Lara, 2012). Otras características del envejecimiento son el déficit de memoria y el deterioro de los sentidos (Mora y Martínez, 2001; Ugalde, 2010), funciones que han sido asociadas a la modificación de la morfología neuronal (Flood, 1985; Ugalde, 2010), la disminución de la sustancia gris y blanca (Resnick *et al.*, 2003; Ota *et al.*, 2006; Langenecker *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2007) y la disminución en la síntesis de neuroquímicos (Cham *et al.*, 2007; 2008).

Una de las diferentes hipótesis para explicar el origen del envejecimiento, propone el estrés oxidativo como la causa principal. De acuerdo a este modelo los radicales libres son la fuente directa de daño oxidativo a las macromoléculas, produciendo un desbalance entre los estados óxido y reducción del metabolismo celular, que se manifiesta en la generación de daño oxidativo y en su acumulación a lo largo de la vida del organismo (Zentella, 2002), teniendo la capacidad de desencadenar procesos neurodegenerativos (YiSun, 1990).

Las neuronas tienen sistemas antioxidantes que disminuyen o neutralizan el daño oxidativo inducido por los radicales libres (Simonian y Coyle, 1996). Se ha descrito la propiedad antioxidante de la melatonina, la cual es una neurohormona sintetizada principalmente en la

glándula pineal (Sánchez, 2003). Sin embargo la producción de melatonina en el organismo se pierde gradualmente a lo largo de la vida (Reiter, 1983; Reiter *et al.*, 1987; Reiter *et al.*, 2000; Pang, 2005). Este decremento se ha reportado en humanos (Reiter, 1986; Sharma *et al.*, 1989), ratas (Pang *et al.*, 1984; Dax y Sugden, 1988) y otros animales (King *et al.*, 1981; Pang y Tang, 1983), principalmente en la corteza parietal, el hipocampo y la médula espinal, y en menor grado en el cerebelo y el estriado (Laudon, 1988).

## 1.1 Antecedentes

Distintos estudios han encontrado que el envejecimiento representa reducción progresiva de algunas estructuras celulares principalmente de control motor y procesos cognitivos (Colon, 1972; Shefer, 1973; Devaney y Johnson, 1980; Henderson *et al.*, 1980; Anderson *et al.*, 1983).

A principios de la década de los 40's el estudio del envejecimiento comenzó a centrarse en la pérdida neuronal y su relación con el déficit sensoriomotor en ratas envejecidas (Kuhlenbeck, 1944), posteriormente se utilizaron cerebros humanos (Brody, 1955; Coleman y Flood, 1987; Peters, 1998). El interés por estudiar el efecto del envejecimiento en la preservación neuronal del cerebro humano subyace por la falta de investigaciones, las cuales estaban centradas en el decremento del peso cerebral. Analizando diversos tejidos cerebrales, se llegó a la conclusión de que la pérdida neuronal no es parcial (Brody, 1955, 1970).

Brody (1955) examinó cerebros humanos (0-95 años de edad) removidos cuatro horas postmortem, y extrajo muestras de la corteza frontal, parietal, temporal y occipital las cuales fueron teñidas con violeta de cresilo. Sus resultados muestran pérdida neuronal con el envejecimiento principalmente en la corteza frontal, parietal y temporal. Estructuras en las cuales encontró menor cantidad de neuronas granulares (capa II y IV) y piramidales (capa III y V). Estudios posteriores mostraron que principalmente las neuronas piramidales de la capa V se pierden durante el envejecimiento humano (Henderson *et al.*, 1980; Terry *et al.*, 1987; deBrabander *et al.*, 1998).

Otra estructura en la cual se ha prestado interés durante el proceso de envejecimiento es el hipocampo, por su participación en la consolidación de la memoria, principalmente en pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA). La pérdida de neuronas piramidales del área

CA1 en la EA es significativamente mayor en comparación con personas envejecidas neurológicamente intactas. En ratas, la pérdida de neuronas en CA1 está relacionada con la adquisición de la memoria espacial (Deupree *et al.*, 1993; West *et al.*, 1994).

Por otra parte la sustancia nigra compacta (SNc) y el estriado son núcleos pertenecientes a los ganglios basales (GB) cuya función principal es la generación y el control del movimiento. La SNc muestra menor cantidad de neuronas dopaminérgicas en ratas envejecidas, así como el cuerpo estriado contiene menor número de neuronas espinosas medianas de proyección (NEM) (Crocker, 1997), también se ha encontrado disminuida la dopamina (DA) en dichos núcleos (Keyser, 2004; Collier, 2011).

Las espinas dendríticas son sensibles a una gran variedad de condiciones patológicas, como en un modelo de la enfermedad de Parkinson (EP), donde se ha reportado pérdida de espinas dendríticas en las NEM del estriado (Ingham *et al.*, 1997), en neuronas piramidales de la capa V de corteza cerebral, en neuronas piramidales del área CA1 del hipocampo y en las NEM en un modelo de estrés oxidativo (Avila-Costa, 2000). Bajo la hipótesis del estrés oxidativo o de los radicales libres, el envejecimiento al ser una condición que favorece la formación de daño oxidativo en el sistema nervioso central (SNC) (Brody, 1955), también promueve la pérdida de espinas dendríticas en estructuras cerebrales implicadas en procesos cognitivo-conductuales principalmente, pudiendo afectar el desempeño en las actividades cotidianas de los adultos mayores.

En nuestro laboratorio se ha encontrado que en condiciones patológicas la medicación con antioxidantes puede disminuir la pérdida de espinas dendríticas. La administración de taurina previene la pérdida de espinas dendríticas de las NEM, las neuronas piramidales de la corteza (capa V) y del hipocampo (área CA1) (Avila-Costa, 2000); la medicación con melatonina preserva mayor cantidad de espinas de las NEM (Gutiérrez, 2007), así como la bromocriptina (Anaya *et al.*, 2012).

Se ha reportado que el tratamiento con melatonina revierte los cambios degenerativos del SNC en modelos de la EA y de la EP (Pappolla *et al.*, 2000; Antolin *et al.*, 2002), previniendo la inflamación neuronal y protegiendo las mitocondrias (Matsubara *et al.*, 2003; Thomas y Mohanakumar, 2004; Lahiri *et al.*, 2005; Wu y Swaab, 2005; Srinivasan *et*

*al.*, 2006; Feng *et al.*, 2006). En nuestro laboratorio se ha encontrado que la melatonina en un modelo de la EP, protege las alteraciones producidas por la inyección intracerebral de la neurotoxina selectiva 6-OHDA, principalmente en el núcleo estriado donde se caracterizan por menor número de botones con edema, mayor prevalencia de contactos sinápticos con espinas, bajos niveles de peroxidación de lípidos (Gutiérrez, 2007), recuperación de la conducta motora fina evaluada con la prueba de viga de equilibrio y supervivencia de células dopaminérgicas (Mayoral, 2008; García, 2008; Torres, 2012). Por lo cual, el daño citológico y motor inducido por condiciones patológicas puede ser prevenido por la administración de antioxidantes como la melatonina.

## 1.2 Hipótesis del envejecimiento

Las hipótesis que explican el proceso de envejecimiento consideran las alteraciones fisiológicas en el organismo: daño en las mitocondrias, acumulación de proteínas aberrantes en el citosol, daño a macromoléculas, mutaciones somáticas, mayor o menor transcripción de genes específicos (Gil del Valle, 2011), cambios en la función inmunológica y desbalance entre los factores pro-oxidantes y antioxidantes (Calabrese *et al.*, 2000). Las hipótesis del envejecimiento han sido divididas en dos categorías generales: estocásticas y de desarrollo genético. Las estocásticas están agrupadas en: hipótesis de mutaciones somáticas y reparación del ADN, catástrofe de error, modificación de proteínas y radicales libres (estrés oxidativo/ADN mitocondrial). Las del desarrollo genético consideran el envejecimiento genéticamente programado, en este grupo se encuentra la hipótesis de los genes de longevidad, síndrome del envejecimiento acelerado, neuroendócrino, inmunológico, senescencia celular y la de muerte celular (Sohal, 2002; Hughes, 2005).

### 1.2.1 Estrés Oxidativo

Una hipótesis que explica el proceso de envejecimiento es la de los radicales libres o estrés oxidativo, donde el envejecimiento es el resultado de la acumulación de daño oxidativo en células y tejidos del cuerpo que se incrementa como resultado del metabolismo aerobio (Harman, 1956; 1994). Esta hipótesis surgió en 1956 propuesta por Denham Harman, quien considera a los radicales libres y los daños que ocasionan, un componente integral del envejecimiento y de enfermedades neurodegenerativas (Harman, 1956; Reiter, 1998).

El desequilibrio de antioxidantes y oxidantes conduce a la acumulación de daño oxidativo en macromoléculas aumentando durante el envejecimiento y contribuyendo a la disminución progresiva de la función celular (González *et al.*, 1999; Benítez, 2008; Salomon, 2010).

Un radical libre es una molécula (orgánica o inorgánica) altamente reactiva que contiene un electrón no apareado en su último orbital, involucrado en mecanismos de toxicidad al reaccionar con las uniones insaturadas de los ácidos grasos de la membrana, desencadenando una serie de reacciones que causan peroxidación y mayor producción de radicales libres afectando células y tejidos vecinos (Freeman y Crapo, 1982). Los radicales libres se forman en el SNC como parte de los procesos metabólicos (Cardozo-Pelaez *et al.*, 2000) como en la respiración (Pierrefiche y Laborit, 1995; Ceballos y Martínez, 2001).

Las reducciones del oxígeno producen el radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) y peróxido, en gran medida en los complejos I y III de la cadena de transporte de electrones mitocondrial (Brand *et al.*, 2004; Kell, 2009). Los radicales libres se caracterizan por realizar reacciones en cadena (Benítez, 2008), reacciones autopropagadoras en las cuales un radical origina un producto que es también un radical y que a su vez reacciona y origina otro radical. Esta fase se conoce como propagación, y una última fase llamada terminación, donde reaccionan dos radicales dando un compuesto no radical. Por tanto las reacciones originadas por los radicales libres en las reacciones en cadena se dividen en: iniciación, propagación y terminación (Cascales, 1999).

Más tarde, Harman modificó su hipótesis, prestando especial atención al papel de la mitocondria en el proceso de envejecimiento debido a que estos organelos son un sitio importante en la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) por su intensa actividad (Harman, 1972; Sohal y Weindruch, 1996).

### 1.2.2 Disfunción Mitocondrial

Poco después del descubrimiento del genoma mitocondrial (ADNmt), la hipótesis de los radicales libres fue modificada para incorporar el papel de la mitocondria en el estrés oxidativo y se propuso la hipótesis mitocondrial del envejecimiento (Harman, 1972).

En los años siguientes, fue perfeccionada, sugiriendo que la acumulación de mutaciones somáticas en el ADNmt inducida por el estrés oxidativo es el principal contribuyente del envejecimiento y de las enfermedades degenerativas relacionadas con la edad (Miquel *et al.*, 1980), como la EA, la EP, la Enfermedad de Huntington (EH) y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) (Bowling y Beal, 1995). El daño mitocondrial producido por el estrés oxidativo se caracteriza por la transición de la permeabilidad de la membrana celular, causada por lipoperoxidación membranal y acumulación masiva de calcio ( $\text{Ca}^2$ ). El estrés oxidativo es el resultado de la acumulación de radicales libres derivados del oxígeno, tales como  $\text{O}_2^{\bullet-}$  y el  $\text{OH}^{\bullet}$ , los cuales son producidos en cantidades mayores de las que pueden ser removidas por la superóxido dismutasa (SOD) y la glutatión peroxidasa (GPx) (Herrero y Barja, 1997; Chávez, 2002).

Las mitocondrias son organelos citoplásmicos que tienen funciones importantes en el metabolismo de los lípidos, en el ciclo del ácido cítrico, en la cadena respiratoria y en la fosforilación oxidativa por lo que provee de energía (ATP) al organismo (Peñaloza, 2002). Se caracterizan por tener una autonomía metabólica y genética, están formadas por una membrana externa y una interna (Chávez, 2002). La membrana externa presenta una permeabilidad poco selectiva y contiene los receptores de las proteínas de importación; por otra parte la membrana interna es altamente selectiva e impermeable a la mayoría de las moléculas y más negativa que la externa (-170 a -200 mV), presenta un gran número de invaginaciones que forman las crestas mitocondriales, en donde se encuentran alojados los complejos protéicos que participan en la fosforilación oxidativa y en los procesos de transporte. La matriz mitocondrial localizada dentro de la membrana interna contiene: a) el almacenamiento de cationes principalmente  $\text{Ca}^2$ , b) enzimas solubles que participan en el metabolismo y la oxidación de ácidos grasos, c) ADN y la maquinaria necesaria para la replicación, la transcripción y la síntesis de proteínas (ribosomas y RNA de transferencia) (González, 2002; Cárabez, 2002).

Estos organelos acumulan grandes concentraciones de  $\text{Ca}^2$  mediante un mecanismo de oxidación de sustratos por la cadena respiratoria o la hidrólisis del ATP (Chávez, 2002). Alojados en la membrana interna se encuentran los cinco complejos multiprotéicos que participan en la respiración mitocondrial: el complejo I (NADH: ubiquinona

oxidoreductasa), el complejo II (succinato: ubiquinona oxidoreductasa), el complejo III (ubiquinol: citocromo c oxidoreductasa), el complejo IV (citocromo c oxidasa) y el complejo V (ATP sintetasa) (González, 2002). Algunos de los complejos mitocondriales intervienen en el envejecimiento (Tuena de Gómez, 2002; Youngmok y Holly, 2009).

El principio básico de la hipótesis mitocondrial del envejecimiento se basa en el hecho de que la cadena respiratoria mitocondrial a través de los complejos I (NADH: ubiquinona oxidoreductasa) y el complejo III (ubiquinol-cit<sub>c</sub> oxidoreductasa), son la principal fuente del O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> (Boveris y Chance, 1973; Chávez, 2002; Muller *et al.*, 2004; Andreyev y Kushnareva, 2005). El complejo I cataliza la transferencia de electrones desde el NADH hasta la ubiquinona, el complejo III cataliza la oxidación del ubiquinol y la reducción del citocromo-C soluble (González, 2002). Este fallo en la cadena de respiración mitocondrial puede ser provocado por los inhibidores de la vía respiratoria, la mutación del ADNmt (Dillin *et al.*, 2002), entre otros.

A pesar de que las mitocondrias contienen un complejo sistema de defensa antioxidante que inactiva las ERO de una forma no tóxica, el equilibrio entre la generación de ERO y la defensa antioxidante está afectado en el envejecimiento y con la presencia de enfermedades degenerativas relacionadas con la edad (Muller *et al.*, 2007). Algunas de las enzimas antioxidantes de la mitocondria son: la Catalasa (CAT), la GPx, la Glutación Reductasa (GRD), la NADH/NADP Transhidrogenasa, la SOD entre otras (Staniek y Nohl, 2000). El fallo en la función respiratoria también es capaz de alterar el sistema de enzimas antioxidantes (Tian *et al.*, 1998). Los principales blancos de la mitocondria susceptibles al daño oxidativo incluyen membranas, proteínas y el ADNmt (Mecocci *et al.*, 1993).

Los radicales libres que se forman como resultado colateral del transporte de electrones, constituyen una de las principales fuentes del daño molecular asociado al envejecimiento. Teniendo en cuenta que durante el envejecimiento aumenta el contenido de ácidos grasos poli-insaturados, lo que incrementa el riesgo de la lipoperoxidación (Zentella, 2002).

Este efecto dominó es lo que hace que los radicales libres sean tan dañinos en algunos casos. Aunque un radical libre obtenga el electrón que le hace falta de otra molécula, no puede regresar a su estado y función originales (Wolff *et al.*, 1986).

### 1.2.3 Homeostasis del Calcio

La concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en la célula juega un papel clave en el envejecimiento y en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas. La hipótesis del  $\text{Ca}^{2+}$  fue formulada en 1892, dirigida al estudio de los mecanismos celulares del cerebro envejecido y de la EA (Khachaturian, 1994).

Las fluctuaciones intracelulares de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  modulan distintos procesos de señalización incluyendo la excitabilidad neuronal, la integración de la señal eléctrica, la liberación de neurotransmisores, la plasticidad sináptica, la expresión de genes, el metabolismo y la muerte neuronal programada (Disterhoft *et al.*, 1994; Nikolettou y Tavernarakis, 2012). El  $\text{Ca}^{2+}$  en compartimentos celulares regula la arborización dendrítica, la retracción dendrítica, la preservación o pérdida de espinas dendríticas (Khachaturian, 1994), un pequeño cambio en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  que se mantiene durante un periodo prolongado producirá daño celular, así como un gran cambio de  $\text{Ca}^{2+}$  por un periodo corto (Khachaturian, 1994).

La hipótesis del  $\text{Ca}^{2+}$  postula que durante el envejecimiento normal las neuronas se vuelven más vulnerables al desequilibrio del  $\text{Ca}^{2+}$ , habiendo un posible aumento del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y contingentemente daño a la célula por excitotoxicidad (Disterhoft *et al.*, 1994). Lo cual podría estar relacionado con mayor tiempo de apertura de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje (Landfield *et al.*, 1992). Evidentemente los cambios durante el envejecimiento en los canales de  $\text{Ca}^{2+}$ , en las proteínas reguladoras del  $\text{Ca}^{2+}$  entre otras estructuras, parecen ser un mecanismo potencial en la vulnerabilidad de las neuronas (Landfield *et al.*, 1992).

La elevada concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en la célula es capaz de desencadenar cascadas destructivas: la generación de fosfolipasa  $\text{A}_2$  y del radical  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , activación de la fosfolipasa C que activa la proteína quinasa C aumentando la actividad del canal de  $\text{Ca}^{2+}$ , generación de quinasa  $\text{Ca}^{2+}$  calmodulina, que fosforila la presinapsis permitiendo mayor liberación de glutamato, activación de endonucleasas que causan la fragmentación del ADN y la producción de óxido nítrico sintasa inhibiendo la respiración mitocondrial (Disterhoft *et al.*, 1994).

Inicialmente Khachaturian (Khachaturian, 1994) centró la teoría de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  en el daño a las neuronas piramidales de CA1, por el incremento del  $\text{Ca}^{2+}$  debido al aumento



de la actividad de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  observado en el envejecimiento, y por el decremento de la extrusión de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de la bomba. Esta mayor vulnerabilidad de las neuronas de CA1 al aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  inherente al proceso de envejecimiento podría estar relacionada con la EA (Toescu y Vreugdenhil, 2010).

Estudios recientes sobre la misma línea de investigación se han enfocado en los organelos íntimamente relacionados con la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$ : el retículo endoplásmico (RE) y la mitocondria (Toescu y Vreugdenhil, 2010). El RE de las neuronas envejecidas libera mayor  $\text{Ca}^{2+}$ , por otra parte las mitocondrias presentan mayor despolarización afectando el equilibrio de energía mitocondrial (Toescu y Vreugdenhil, 2010).

La sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  celular tal como la causada por la hiperestimulación de los receptores de glutamato NMDA, conduce al colapso del gradiente electroquímico de protones y catástrofe bioenergética, llevando a la muerte neuronal por necrosis (Celsi *et al.*, 2009). Por otra parte, una alta conductividad no selectiva del poro de permeabilidad transitoria de la mitocondria producida por la alta concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  y por la liberación de cofactores de caspasas es capaz de desencadenar factores involucrados en la muerte celular por apoptosis (Mattson, 2007).

El RE es un complejo sistema de endomenbranas particularmente relevante en las funciones neuronales por su capacidad para almacenar el  $\text{Ca}^{2+}$  y liberarlo en respuesta a la estimulación fisiológica. Debido a esta característica, el RE contiene una variedad de canales que participan en la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$ . La perturbación de la homeostasis beneficia las alteraciones encontradas en la EA y por ello se piensa que también participa en el proceso de envejecimiento (Nikoletopoulou y Tavernarakis, 2012).

Básicamente, las investigaciones recientes se han centrado en la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  de los almacenes intracelulares (mitocondria y RE), produciendo la muerte celular por excitotoxicidad.

Hemos mencionado tres hipótesis que explican el proceso de envejecimiento, con lo cual concluimos el primer apartado del presente estudio. El tema expuesto a continuación está centrado en las neuronas involucradas en el movimiento y los procesos cognitivos, el ser procesos susceptibles al deterioro durante el envejecimiento.

## **2. ESTRUCTURAS CEREBRALES IMPLICADAS EN LA ACTIVIDAD MOTORA Y LOS PROCESOS COGNITIVOS**

Durante el envejecimiento, sin presencia de alteraciones neurológicas, el desempeño de la actividad motora y la capacidad de modificar el comportamiento debido a las demandas ambientales se encuentran disminuidas. Los circuitos corteza-Ganglios Basales están relacionados con la planeación y ejecución del movimiento (Paxinos, 2004), involucrados en el deterioro motor en el envejecimiento (Marchand *et al.*, 2011), así como el hipocampo y el cuerpo estriado (Seidler *et al.*, 2010; Nieves-Marinez, 2011) están involucrados en la memoria motora.

Funcionalmente, el sistema motor se encuentra separado en dos subsistemas: el sistema motor piramidal (SMP) y el sistema motor extrapiramidal (SME), el primero se relaciona con el movimiento voluntario y el segundo con la iniciación motora (Kandel, 2001). El SMP se compone de neuronas piramidales gigantes de la capa V de la corteza motora primaria en la corteza frontal, y de neuronas localizadas en el tallo cerebral (Talos *et al.*, 2008), sus axones envían colaterales al estriado (Paxinos, 2004). El SME es un conjunto de circuitos paralelos de estructuras subcorticales, sus principales componentes son el cuerpo estriado, el globo pálido (GP), el núcleo subtalámico (NST), el núcleo ventral anterior del tálamo y la sustancia nigra (SN) todos pertenecientes a los Ganglios Basales (GB) (Talos *et al.*, 2008).

Los movimientos voluntarios tales como peinarse conducir un coche o tocar el piano son los más complejos, se caracterizan por dos aspectos: son propositivos (dirigidos a metas) y en gran medida aprendidos (su ejecución mejora con la práctica) (Kandel, 2001).

### 2.1 Corteza cerebral

La mayor entrada en el sistema de los GB proviene de las neuronas piramidales profundas de la corteza (Paxinos 2004); la corteza cerebral es una estructura formada por sustancia gris que procesa información motora, sensorial y cognitiva (Biswas, 1991). Al recibir los estímulos de los órganos sensoriales, la corteza los transforma en impulsos que se dirigen a

las glándulas o a los músculos. Además almacena la información que no produce actividad motora para utilizarla posteriormente. Gracias a esto el individuo puede modificar su conducta según experiencias pasadas y elaborar conceptos integrando percepciones nuevas con la información almacenada (Guyton, 1997). En humanos, la corteza está dividida en áreas según su función (Valverde, 2002):

- Área motora. Se encuentra por delante del surco central en el lóbulo frontal, controla los músculos de todo el cuerpo. La corteza premotora, por delante de la anterior, se encarga de los movimientos coordinados y secuencias de movimientos aprendidos. En la corteza premotora se encuentra el área de Broca la cual controla los movimientos coordinados de la laringe y la boca (habla).
- Área somatosensorial. Localizada en el lóbulo parietal, recibe distintas sensaciones como tacto, presión, dolor y temperatura.
- Área visual. Se encuentra en el lóbulo occipital e interpreta la información proveniente de los conos y los bastones.
- Área auditiva. Se encuentra en el lóbulo temporal e interpreta la información proveniente del sistema auditivo.
- Área de Wernicke. Procesa señales sensitivas del lóbulo parietal, occipital y temporal, e interpreta la información sensorial.

### 2.1.1 Elementos Neuronales

En humanos la corteza está formada por seis capas: capa I o plexiforme, capa II o granular externa, capa III o de células piramidales pequeñas y medianas, capa IV o granular interna, capa V o de las grandes células piramidales y capa VI o de células fusiformes (Jones, 1986; Douglas y Martin, 1990; Valverde, 2002) (Figura 1).

La Capa V o de neuronas piramidales internas del área motora primaria en el lóbulo frontal, contiene células piramidales más grandes entremezcladas con interneuronas y células de Betz. Las neuronas piramidales de esta capa son neuronas de proyección las cuales envían axones a los GB, el tallo cerebral y la médula espinal (Braak, 1980; Shepherd, 1998).

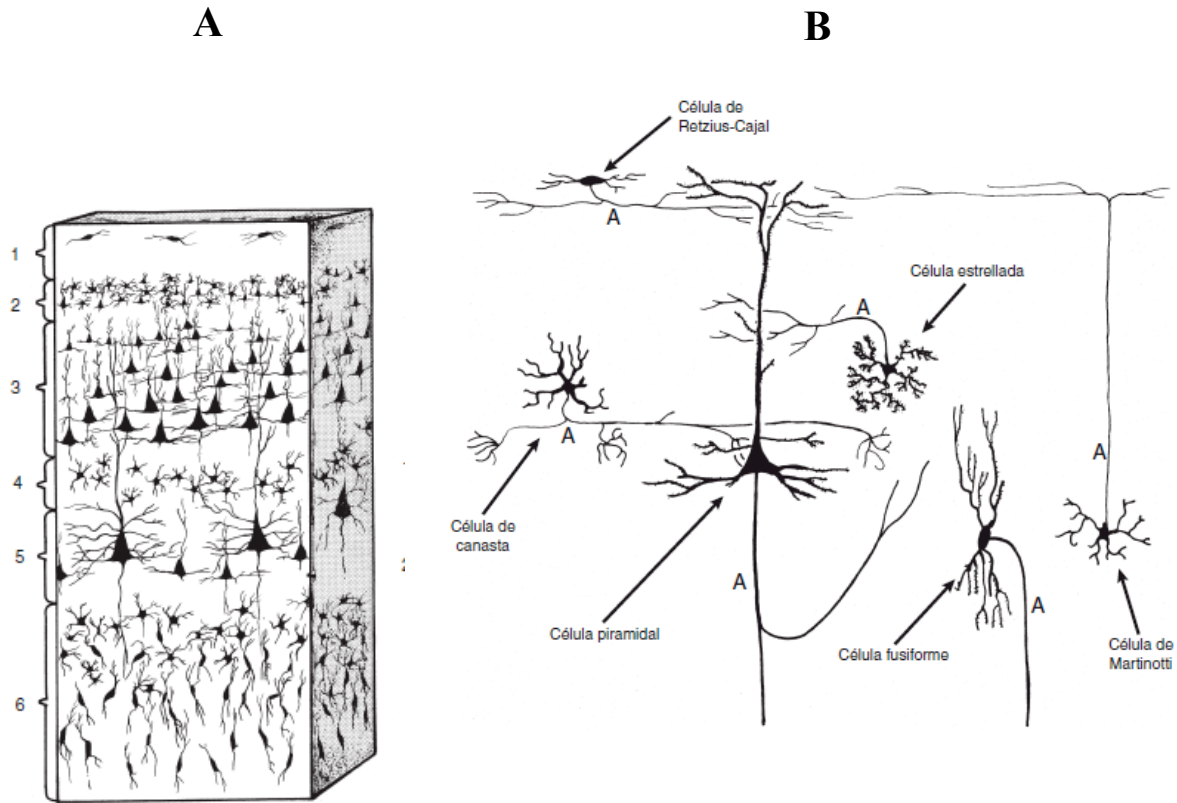


Figura 1. Histología de la corteza cerebral. A. Método de Golgi: muestran las capas de la corteza cerebral: capa molecular (1), capa granular externa (2), capa piramidal externa (3), capa granular interna (4), capa piramidal interna (5) y capa fusiforme (6). B. Dibujo: muestra el nombre de las diferentes células corticales señalando con la letra (A) el axón de cada célula. Tomado de Carpenter, 1991.

Las neuronas piramidales que proyectan a otras zonas del mismo hemisferio cerebral o al hemisferio contralateral a través del cuerpo calloso, se localizan preferentemente en la capa III (White, 1989; Olavarría y Van Sluyters, 1985; White y DeAmicis, 1977), y aquellas que proyectan a centros subcorticales, fundamentalmente corticotalámicas, residen en la capa V (Jacobson y Trojanowki, 1975).

Las neuronas piramidales representan aproximadamente el 70% de toda la población neuronal de la corteza cerebral, y son más abundantes en las capas III y V, concentradas principalmente en las áreas motoras del lóbulo frontal. Sintetizan glutamato por lo que sus axones establecen sinapsis excitatorias principalmente en las espinas dendríticas (Valverde, 2002) a través de los receptores AMPA/Kainato, NMDA y los receptores metabotrópicos. Las sinapsis son zonas específicas de contacto entre neuronas o entre una neurona y otra célula (De Robertis, 2001).

Una característica fundamental de las neuronas piramidales es que están cubiertas de espinas dendríticas, las cuales son estructuras postsinápticas plásticas implicadas en procesos de aprendizaje y memoria (Ramón y Cajal, 1893; Rausch y Scheich, 1982; Patel *et al.*, 1988; Geinisman, 2000; Geinisman *et al.*, 2001). Las espinas dendríticas son pequeños procesos colaterales, que aumentan considerablemente la superficie receptora de las dendritas. La ‘cabeza’ de la espina dendrítica es la que recibe la mayoría de las terminaciones axónicas formando sinapsis (Valverde, 2002). Por su importancia el tema de las espinas dendríticas se abordará en un apartado posterior.

Un neurotransmisor que tiene efecto inhibitorio sobre las neuronas piramidales es el ácido gamma aminobutírico (GABA) de las interneuronas de la corteza, el cual ejerce su efecto a través de los receptores GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>B</sub> (Alger y Nicoll, 1982). La corteza también recibe DA del área ventral tegmental (AVT), especialmente en la corteza prefrontal (Douglas y Martin, 1998).

En el presente trabajo nos interesa estudiar la corteza frontal y parietal por su participación en procesos cognitivos y motores entre otros, y porque se considera que su deterioro está relacionado con la disfunción de los procesos mencionados en el envejecimiento.

### 2.1.2 Corteza frontal

La corteza frontal junto con otras áreas corticales de asociación procesa información de diversas funciones cognitivas, atención, reconocimiento de las características de los estímulos, identificación de las características de los estímulos y la planificación de tareas cognitivas y respuestas motoras (Monte, 2004). En humanos, la corteza frontal se divide en tres regiones: región motora, premotora y prefrontal. La corteza frontal izquierda está especializada en la función del lenguaje, y en la región frontal derecha predomina la cognición social y la emoción. También se ha dividido la corteza prefrontal en región orbital, dorsolateral y cingulada (Miller, 2007).

La corteza frontal funciona en estrecha colaboración con otras regiones cerebrales que conforman sistemas para los procesos cognitivos (aprendizaje, atención, motivación y lenguaje) (área de Broca) (Monte, 2004), interacción social (Amodio y Christ, 2006; Klucharev, 2011), toma de decisiones y recompensa (Rushworth, 2011), percepción,

control de ejecución, memoria de trabajo, memoria episódica y solución de problemas (Duncan, 2000; Egan *et al.*, 2001).

La corteza de la rata no presenta surcos ni giros, por lo que las áreas corticales no se encuentran delimitadas como en los humanos. Sin embargo estudios de mapeo han diferenciado regiones funcional y estructuralmente permitiendo identificar las diferentes áreas; en cuanto a la disposición citológica, la corteza de la rata también contiene VI capas (Paxinos, 2004). En ratas viejas hay mayor pérdida de dendritas en la capa V en comparación con la capa II y III de la corteza frontal (deBrabander *et al.*, 1998; Nakamura *et al.*, 1985).

#### 2.1.2.1 Corteza motora

En humano, la corteza motora se compone de tres diferentes áreas: la corteza motora primaria (M1), la corteza premotora y el área motora suplementaria (M2). M1 se encuentra en la circunvolución precentral y en el lóbulo anterior paracentral en la superficie medial del cerebro humano. Existe una representación somatotópica en la corteza motora, donde la superficie encargada de controlar los movimientos de cada parte del cuerpo varía en proporción directa a la precisión de los movimientos que realiza cada miembro del cuerpo (Knierim, 2007). M1 se encarga de ejecutar los movimientos individuales de diferentes partes del cuerpo. Recibe aferencias del área premotora, la corteza sensitiva, el tálamo, el cerebelo y los GB, contiene terminales dopaminérgicas involucradas en los procesos de aprendizaje, por tanto el aprendizaje de una habilidad motora es inducido por los procesos celulares de plasticidad en M1 (Hosp, 2011). M2 se ubica en la circunvolución frontal medial. El área motora de Broca está ubicada en la circunvolución frontal inferior, en la mayoría de los individuos en el hemisferio izquierdo (Knierim, 2007).

En la rata, el área motora también se localizada en la corteza frontal, dividida en regiones: Fr1, Fr2 y Fr3. Fr1 representa la corteza motora primaria y junto a Fr3 conforman la superficie somatotópica, y Fr3 es equivalente a la corteza motora (Figura 2). Las tres zonas contienen los siguientes receptores de neurotransmisor a distintas concentraciones: glutamato, gaba, acetilcolina, noradrenalina y serotonina (Paxinos, 2004). Citoarquitectónicamente, el área motora se caracteriza por el tamaño reducido de la capa IV

y la presencia de grandes neuronas piramidales en la capa V, aspecto que ha permitido diferenciar el área motora (corteza frontal) de la corteza parietal (Paxinos, 2004).

### 2.1.3 Corteza parietal

La capacidad humana para atender estímulos visuales sobre la base de su ubicación espacial requiere de la corteza parietal, implicada en la atención para localizar objetos en el espacio, desempeña un papel crítico en el reconocimiento espacial (Giménez, 2000).

En la región anterior del lóbulo parietal se encuentra la corteza somatosensorial primaria (S1), en la región más posterior se localizan las áreas sensoriales de nivel superior y el área de asociación parietal posterior (Kandel, 2001). La corteza parietal junto con las áreas prefrontales, integran la información del movimiento, es aquí donde se toman las decisiones (Giménez, 2000). El tacto y la propiocepción están localizados en S1, el tacto percibe la textura de los objetos y su movimiento a través de la piel; la propiocepción es el sentido de la posición estática y del movimiento de nuestros dedos y miembros. S1 también se ocupa de la nociocepción (percepción del dolor) la termocepción (calor y frío) y la estereognosis (percepción táctil de la forma tridimensional) (Kandel, 2001). S1 proyecta a las áreas somatosensoriales secundarias (S2), donde la información somatosensorial es utilizada para el aprendizaje de nuevas discriminaciones sensoriales, y a la corteza parietal posterior, donde la información somática se utiliza para configurar la imagen corporal y para planificar los movimientos en el espacio extrapersonal (Colby, 1977).

En la rata, la corteza parietal se encuentra dividida en Par1 y Par2. Par1 contiene el área somatosensorial primaria (S1) anteriormente, y posteriormente se encuentra la corteza motora; Par2 contiene el área somatosensorial suplementaria o secundaria (S2) (Swanson, 1998; Paxinos, 2004) (Figura 2). La región parietal está caracterizada por el mayor desarrollo de la capa IV a diferencia de la corteza frontal. Contiene receptores para glutamato, GABA, serotonina y noradrenalina (Paxinos, 2004).

Otra clasificación de la corteza parietal de rata muestra que las áreas parietales posteriores (PtA y MPtA) coinciden con la porción posterior de Fr1 y Fr2 de la corteza motora (Paxinos *et al.*, 1999). En S1 se encuentra la representación del cuerpo, dominando el área de la cara y las vibrisas, S2 contiene el complemento de la representación de la cara y el

cuerpo. Par1 esta involucrado en la generación de relaciones espaciales, en el desarrollo del movimiento guiado, basado en la información somatosensorial de las vibrisas. La conexión en S1 y el área motora primaria (Fr1) es recíproca; la conexión en el área motora suplementaria (Fr2) se origina en las neuronas piramidales de la capa III y V del lado contralateral. En la capa V y VI de S1 se localizan las neuronas nociocéptivas y las mecanoreceptoras en la capa II y V (Paxinos, 2004). En ratas envejecidas se observa modificada la estructura sináptica en la corteza parietal, como decremento de mitocondrias, decremento de vesículas sinápticas y menor cantidad de espinas dendríticas (Adams y Jones, 1982).

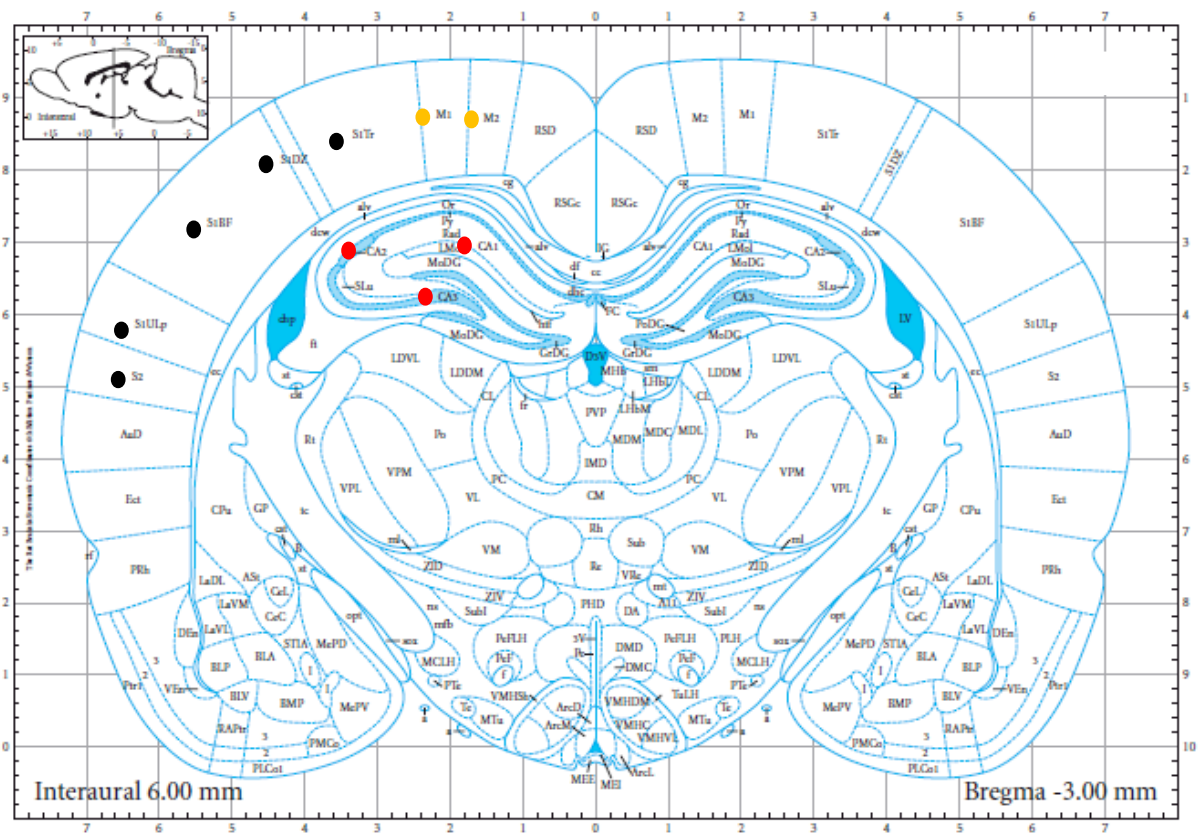


Figura 2. Mapa de un corte coronal del cerebro de rata en donde se observan las distintas áreas de la corteza sensorial (círculos negros), la corteza motora (círculos amarillos) y las áreas del hipocampo (círculos rojos). Tomado de Paxinos (2004).

La corteza cerebral trabaja en conjunto con otras áreas del cerebro para llevar a cabo las actividades de la vida cotidiana y en general los procesos cognitivos. El hipocampo es una estructura esencial en la consolidación de la memoria, estructura descrita a continuación.



## 2.2 Hipocampo

El hipocampo, el giro dentado, el subículo y la corteza entorrinal son estructuras citológicamente distintas pertenecientes a la formación hipocampal (Paxinos, 2004). El hipocampo es una estructura primitiva, compuesta de tres subregiones o Cornu Ammonis (CA1, CA2 y CA3) (Duvernoy, 1998), las cuales contienen neuronas piramidales principalmente, e interneuronas (parvalbumina, calbindina, calretinina) (Paxinos, 2004). El hipocampo es una región de la corteza límbica localizada en el lóbulo temporal, se extiende a lo largo del piso del asta inferior del ventrículo lateral y se continúa con el fornix por debajo del rodete del cuerpo calloso, fundamental para la consolidación de la memoria, por ejemplo la declarativa, necesaria para recordar acontecimiento de la vida actual (memoria episódica) (Tulving y Markowitsch, 1998; Moser y Moser, 1998). El hipocampo también es fundamental para la memoria de largo plazo, particularmente en el establecimiento de asociaciones entre los componentes de un episodio en la memoria (Moser y Moser, 1998; Kerchner *et al.*, 2012). En la rata, la formación hipocampal se localiza en el cerebro anterior rostródorsalmente, y por encima y detrás del diencefalo; en el lóbulo temporal caudoventral (Paxinos, 2004) (Figura 2).

El envejecimiento sin daño neurológico está asociado con la disfunción cognitiva (Barnes, 1979; Eichenbaum, 2001), y dificultad en la consolidación de nuevos recuerdos episódicos (Milner, 2005). Éstos aspectos han sido relacionados con alteraciones funcionales del hipocampo (Braak *et al.*, 2006), las cuales probablemente podrían ser los primeros síntomas de la EA (Kerchner *et al.*, 2012).

El hipocampo es la región del cerebro más vulnerable a los procesos de envejecimiento (Miller y O' Callaghan, 2005), y de daño oxidativo en modelos animales (Avila-Costa, 2000) encontrando mayor peroxidación citoplasmática de la SOD Cu/Zn y de los lípidos en la mitocondria del área CA1 durante el procesos de envejecimiento sin presencia de alteraciones neurológicas (Hayakawa *et al.*, 2008).

Las principales aferencias y eferencias neocorticales del hipocampo se conducen a través de la corteza entorrinal. Las neuronas de la corteza entorrinal transmiten la información aferente a las células granulosas de la circunvolución dentada mediante un haz de axones

llamado vía perforante. Las terminales de las fibras procedentes de la circunvolución dentada establecen sinapsis con espinas dendríticas de las células piramidales del campo CA3 (Carlson, 2006) (Figura 2). La subregión CA1 está involucrada en la codificación de la memoria episódica (Fouquet *et al.*, 2012). Esta hipótesis se apoyó en el caso de una paciente con amnesia anterógrada persistente (Zola-Morgan *et al.*, 1986). Estudios recientes de imagen por resonancia magnética (IRM) en pacientes con deterioro cognitivo leve de tipo amnésico (DCLa) (Mueller *et al.*, 2010; Yassa *et al.*, 2010; Fouquet *et al.*, 2012), amnesia global transitoria (AGT) (Quinette *et al.*, 2006) y EA (Mueller *et al.*, 2007, 2010; Sarazin *et al.*, 2012) apoyan la idea de la participación de CA1 en la codificación de la memoria episódica (Fouquet *et al.*, 2012) y espacial (Morgan *et al.*, 1986; Colombo y Gallambo, 2002; Bartsch *et al.*, 2010), al encontrarse deterioradas las neuronas piramidales del área CA1 (Bartsch *et al.*, 2010).

También se ha observado pérdida del volumen general en CA1 durante el envejecimiento (La Joie *et al.*, 2010). La atrofia en esta área predice el deterioro cognitivo futuro en personas sanas (Apostolova *et al.*, 2010) o en pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) (Apostolova *et al.*, 2006). Otros trabajos sugieren un papel específico de CA1 en el recuerdo de las señales recientemente adquiridas o memoria de corto plazo (Eldridge *et al.*, 2005).

### 2.2.1 Elementos Neuronales

Tanto el hipocampo como el giro dentado poseen cortezas en tres capas. Las tres capas del hipocampo son *estrato oriens* (capa polimórfica), *estrato piramidal* (capa piramidal) y el *estrato lacunoso* molecular (área molecular). El principal tipo de neuronas del giro dentado es la célula granular y piramidal del hipocampo (Mainen *et al.*, 1996). Los somas de las neuronas piramidales se encuentran en grupos de 3 a 6 células en lo profundo de la capa piramidal, las dendritas de las neuronas piramidales están cubiertas por espinas en donde terminan las sinapsis excitatorias (Johnston y Amaral, 1998). Las neuronas intrínsecas o interneuronas han sido definidas como neuronas sin espinas y con axones restringidos al área donde se encuentran sus somas y liberan GABA. En el giro dentado el tipo de interneuronas más común son las llamadas células en canasta, las cuales establecen contacto sináptico con los somas de las neuronas piramidales (Freund y Buzsaki, 1996).

Otra estructura involucrada en los procesos cognitivos y motores son los GB, núcleos que se explican a continuación.

### 2.3 Ganglios Basales

Son un conjunto de núcleos: el cuerpo estriado, el GP, la SN y el NST, se localizan en el telencéfalo, diencefalo y mesencéfalo. Estos núcleos constituyen la parte dorsal de los ganglios basales; el área ventral está formada por el núcleo acumbens (Nacc), el AVT la zona interna del NST y la SN. La parte dorsal de los GB está encargada de las funciones motoras entre otras funciones, y la parte ventral está relacionada con funciones límbicas (Tepper, 2007). Los GB son un sitio de convergencia e integración de múltiples áreas sensoriales, motoras y de asociación (Wilson, 1998; Bolam *et al.*, 2000). Sin embargo, estos núcleos no sólo influyen en el procesamiento cortical de la información motora y sensorial, también en los procesos cognitivos (Tepper, 2007).

#### 2.3.1 Anatomía funcional

En los vertebrados superiores, el cuerpo estriado está dividido en núcleo caudado y putamen divididos por la capsula interna, en los roedores el estriado es un sólo núcleo. El GP consta de dos partes, el segmento externo (GPe) y el segmento interno (GPi). La sustancia nigra se compone de dos núcleos, *pars compacta* (SNc) y *pars reticulada* (SNr) (Tepper, 2007) (Figura 3).

El estriado, el GP y la SNr se componen principalmente de neuronas GABAérgicas de proyección, el NST contiene neuronas glutamatérgicas de proyección y la SNc contiene neuronas dopaminérgicas de proyección. Las aferencias principales de los GB surgen de la corteza cerebral y del tálamo, y su principal destino es el cuerpo estriado (sobre todo los núcleos intralaminares) (Wilson, 2004). La SNr y el GPi constituyen la salida de los ganglios basales (Tepper, 2007) (Figura 4).

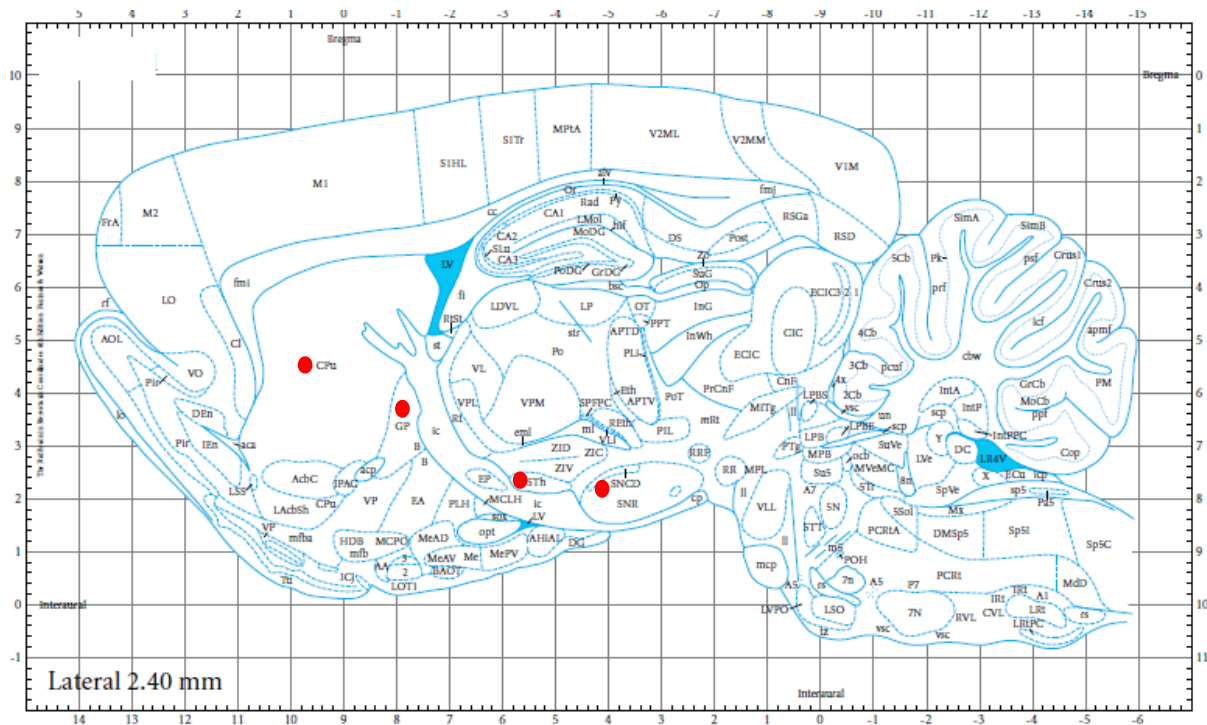


Figura 3. Mapa de un corte sagital del cerebro de rata, en donde se observan los Ganglios basales señalados con un círculo rojo: estriado (CPu), globo pálido (GP), núcleo subtalámico (NST), sustancia negra compacta (SNCD) y sustancia negra reticulada (SNR). Tomado de Paxinos (2004).

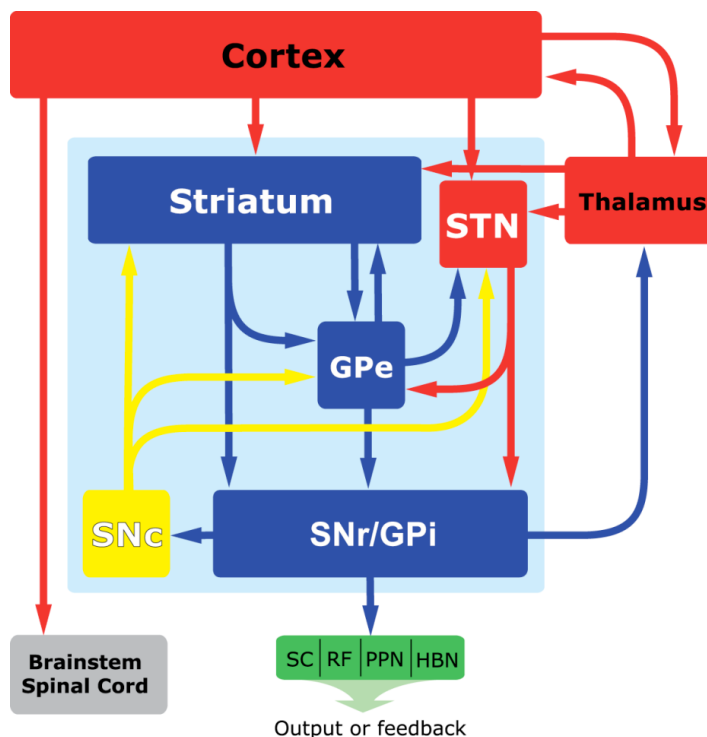


Figura 4. Diagrama que muestra el funcionamiento y los neurotransmisores en los ganglios basales: estriado (Striatum), Segmento externo del globo pálido (GPe), núcleo subtalámico (NST), sustancia negra reticulada y segmento interno del globo pálido (SNr/GPi). Las estructuras en color azul marino son GABAérgicas, en rojo las estructuras glutamatérgicas y en amarillo las estructuras dopaminérgicas. Tomado de Tepper (2007).

Las neuronas estriatales dan lugar a la vía directa e indirecta, se distinguen por sus características neuroquímicas (Surmeier, 2006) las cuales describiremos posteriormente. A través de estos circuitos los GB ejercen un poderoso control sobre los movimientos voluntarios, las alteraciones de estos núcleos producen trastornos del movimiento. Los GB son esenciales para algunas formas de aprendizaje y funciones cognitivas (Ann, 2005), también están relacionados con aspectos de planeación de movimientos, selección y memoria motora (Parent y Hazrati, 1995).

Las complejas conexiones de los GB se pueden simplificar con base a circuitos intrínsecos los cuales están organizados funcional y estructuralmente, relacionando corteza-GB-tálamo-corteza. Se conocen 5 circuitos principales (Alexander y Crutcher, 1990; Smith *et al.*, 1998): circuito motor, oculomotor, prefrontal, orbitofrontal lateral y límbico.

El circuito motor se basa en la vía directa y la vía indirecta para procesar, integrar y transmitir la información proveniente de la corteza cerebral. La vía directa se inicia en el estriado y proyecta hacia los núcleos de salida (GPi-SNr); así mismo el estriado parte otra vía (indirecta), en esta se hacen relevos en el GPe y NST, para finalmente dirigirla hacia los núcleos de salida (GPi) (Alexander y Crutcher, 1990; Smith *et al.*, 1998). Dos estructuras de interés en el presente trabajo son la SNc y el cuerpo estriado, implicados directamente en la generación y el control del movimiento, y por su vulnerabilidad durante el envejecimiento.

### 2.3.2 Sustancia Nigra Compacta

La DA del cerebro anterior se origina en las neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo en la SNc y el AVT (Dahlström y Fuxe, 1964). Los axones de estas áreas, inervan al estriado, que comprende el estriado dorsal (caudado-putamen, CPU) y el Nacc o caudado ventral (Haber *et al.*, 2000; Voorn *et al.*, 2004). La transmisión de DA es crítica para el movimiento, la motivación, y la cognición (Carta y Bezard, 2011; Palmiter, 2011; Redgrave *et al.*, 2011). La SN está compuesta por dos partes, una parte conocida como *pars compacta* (SNc) (Figura 5), y otra llamada reticulada (SNr). La SNc contiene grandes células que sintetizan DA y proyectan al cuerpo estriado (Figura 6), conocido como sistema dopaminérgico nigro-estriatal. La SNr utiliza GABA como neurotransmisor (González y

Rodríguez, 2000), y junto con el GPi, son los núcleos de salida de los GB (Utter, 2008). En los primates la SN presenta coloración oscura que le da la neuromelanina (Noback y Demarest, 1975). Las dendritas de algunas células de DA localizadas en la SNc establecen contacto con neuronas de la parte reticulada, y su función más probable es modular la liberación GABAérgica de estas células (Dray *et al.*, 1978; Scheel-Kruger, 1986; Aceves *et al.*, 1992). Aparte de las aferencias de la SNc hacia el estriado (Fallon y Loughlin, 1995), también se ha señalado la presencia de axones dopaminérgicos en el subtálamo (Romansky *et al.*, 1979; Meibach y Katzman, 1979), se ha reportado que axones nigroestriatales que parten de la zona dorsoventral de la SNc, inervan el GP (Prensa y Parent, 2001). La SNr tiene una baja población celular GABAérgica, su forma es ovoide y en su porción ventromedial contiene neuronas pequeñas y la dorsolateral está poblada por neuronas medianas y grandes agrupadas en racimos (Fallon y Loughlin, 1995).

Considerando la inervación mesoestriatal constituida por las neuronas de la SNc que inervan al cuerpo estriado, proyecta terminales que se internan en el GPe (Lindvall y Björklund, 1979), el NST (Meibach y Katzman, 1979; Carpenter, 1981; Campbell *et al.*, 1985), y a la SNr (Cheramy *et al.*, 1981). También se han identificado proyecciones de la SNc en la corteza cerebral (Debeir *et al.*, 2005) y en el tálamo (Freeman *et al.*, 2001). Las fibras rostrales de las neuronas dopaminérgicas de la SNc proyectan a la cabeza del núcleo caudado, mientras que las fibras del segmento caudal de las neuronas dopaminérgicas proyectan al putamen y posteriormente al núcleo caudado (Carpenter y Peter, 1972; Szabo, 1980). Las fibras nerviosas del putamen controlan principalmente la función motora (DeLong, 1973, DeLong *et al.*, 1986), mientras que las fibras de núcleo caudado controlan principalmente la función cognitiva (Grahn *et al.*, 2008a; 2008b).

En el envejecimiento del cerebro humano, las neuronas dopaminérgicas se degeneran a una tasa estimada del 4-5% por década (Fearnley y Lees, 1991; Stark y Pakkenberg, 2004). La pérdida de células en la SNc a lo largo de la vida asciende al 30-40% y se asocia con disminución de la función motora en las personas adultas (Rudow *et al.*, 2008; Rollo, 2009). El envejecimiento está acompañado de la pérdida parcial de neuronas dopaminérgicas de la SNc, este fenómeno sugiere que el envejecimiento podría incrementar la vulnerabilidad de éstas neuronas en la SNc (Gao *et al.*, 2011). El número de neuronas

dopaminérgicas en ratas disminuye en el segmento rostral de la SNc así como los niveles de Tirosina Hidroxilasa (TH) (Szabo, 1980; Gao *et al.*, 2011). La pérdida de neuronas dopaminérgicas en el segmento rostral de la SNc podría conducir a la disminución de las fibras del segmento rostral del núcleo caudado, que podrían dar lugar a la disminución de las funciones cognitivas en animales de edad avanzada (Gao *et al.*, 2011). Por otra parte el deterioro de las neuronas dopaminérgicas del área dorsal de la SNc puede estar involucrado con el deterioro motor, en personas adultas mayores neurológicamente intactas. En la EP se ha reportado degeneración progresiva de las neuronas dopaminérgicas de la SNc (Villar-Ched *et al.*, 2012). No se sabe la etiología específica de esta alteración, sin embargo los pacientes presentan pérdida de neuronas dopaminérgicas como característica principal, precedida de los síntomas motores y cognitivos. Algunas terapias farmacológicas en este tipo de enfermedades neurodegenerativas se han acompañado de antioxidantes (Cardinali *et al.*, 2008).

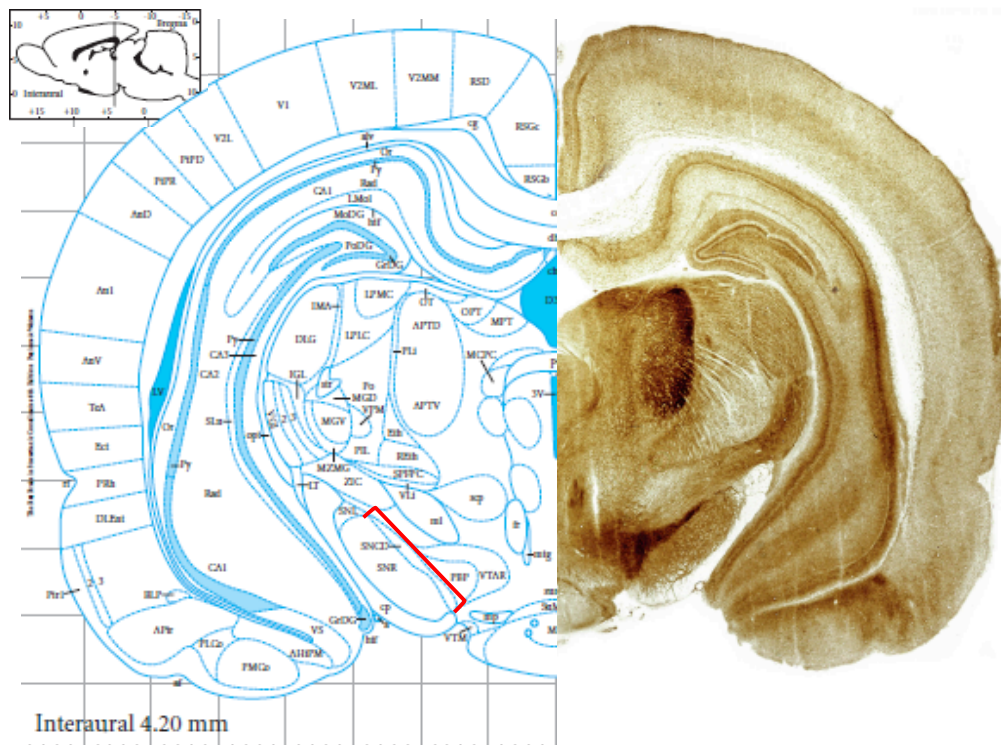


Figura 5. Del lado izquierdo se muestra un mapa del cerebro de rata donde se localiza la sustancia nigra compacta (SNCD) (barra roja). Del lado derecho se muestra un corte coronal sometido a inmunotinción anti-acetilcolinesterasa, donde se observa la sustancia nigra compacta dando una apariencia como de “bigote”. Tomado de Paxinos, 2004.

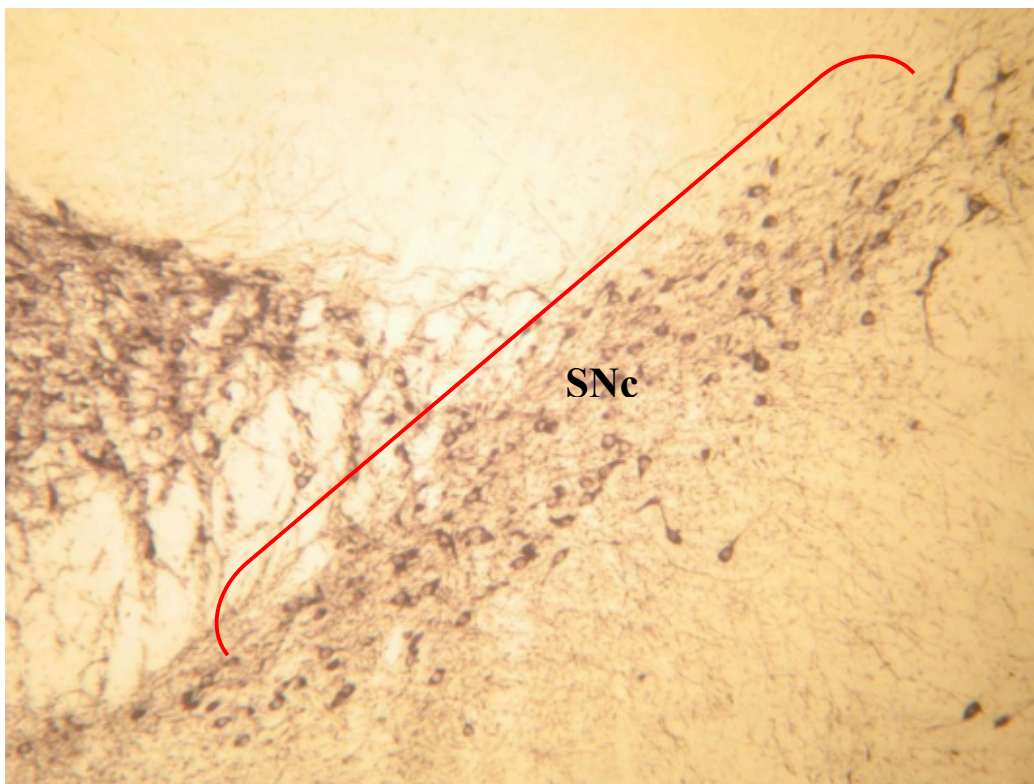


Figura 6. Corte coronal del cerebro de rata a nivel del mesencéfalo procesado por el método de Inmunnocitoquímica anti-TH, señala el área ocupada por las neuronas dopaminérgicas de la SNc. Tomado de <http://www.avila-costa.com>

### 2.3.3 Cuerpo Estriado

El estriado es la principal entrada a los GB (Durieux *et al.*, 2011) (Figura 7), es fundamental en varios tipos de comportamiento motor, de motivación y de aprendizaje. El Nacc o estriado ventral está involucrado en la regulación de la actividad motora, conducta agresiva, el aprendizaje relacionado con recompensa/aversión así como el efecto reforzante de las drogas (Ferrari *et al.*, 2003; Ikemoto y Wise, 2004; Pych *et al.*, 2005; Nestler, 2005; Graybiel, 2008). El caudado-putamen o estriado dorsal está implicado en la regulación de la coordinación motora y el aprendizaje de procedimientos (White y Salinas, 2003; Dang *et al.*, 2006). Estos comportamientos se reducen significativamente en ratones viejos (24 meses) (Vukhac *et al.*, 2001; Groenewegen, 2003; Fetsko *et al.*, 2005).

La plasticidad sináptica subyace a la actividad motora y al aprendizaje (Abraham *et al.*, 2006; Dang *et al.*, 2006). Estudios con registros electrofisiológicos sugieren que el envejecimiento está acompañado de disminución significativa de la función presináptica,



tanto en el estriado ventral como en el dorsal. Por lo que la plasticidad sináptica del cuerpo estriado puede ser un mecanismo celular que subyace a los trastornos motores y cognitivos relacionados con la edad (Wang, 2008).

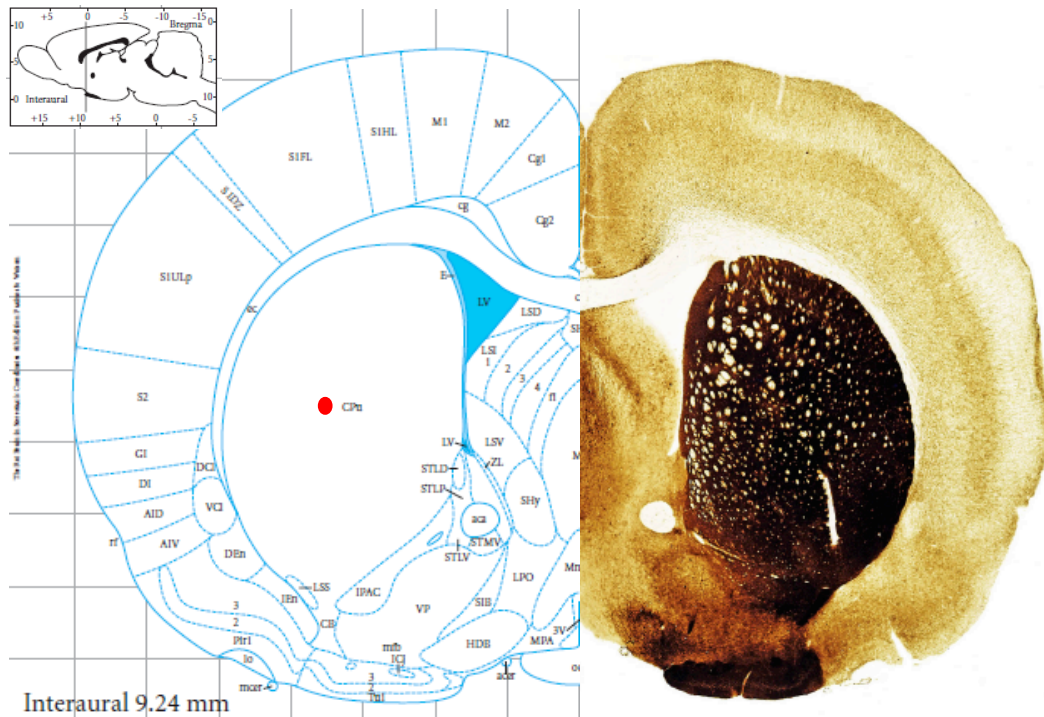


Figura 7. Del lado izquierdo se muestra un mapa del cerebro de rata donde se señala la localización del cuerpo estriado (CPu) (círculo rojo). Del lado derecho se muestra un corte coronal sometido a inmunotinción anti-acetilcolinesterasa, donde se observa el cuerpo estriado. Tomado de Paxinos, 2004.

### 2.3.3.1 Elementos Neuronales

El 95% de las neuronas estriatales son espinosas medianas de proyección (NEM) (Figura8), las cuales utilizan GABA como neurotransmisor (ácido  $\gamma$ -aminobutírico) (Tepper *et al.*, 2007). Contiene distintas interneuronas (GABAérgicas) y neuronas sin espinas (acetilcolinérgicas) (Paxinos, 2004). Las NEM se encuentran densamente cubiertas de espinas dendríticas, tienen una arborización dendrítica esférica (diámetro 200-300 mm) y su axón da lugar a una densa arborización de colaterales locales mediante las cuales establece otros contactos sinápticos (Yelnik, 2002).

Las NEM forman dos principales rutas eferentes. Una es la vía directa formada por las NEM que proyectan principalmente al GPi y a la SNr y expresan el receptor dopaminérgico D<sub>1</sub>, el receptor acetilcolinérgico muscarínico M<sub>4</sub> y neuropéptido sustancia P (SP); por otra parte las NEM de la vía indirecta proyectan al GPe y al NST, expresan el receptor dopaminérgico D<sub>2</sub>, el receptor de adenosina A<sub>SA</sub> y encefalina (Gerfen, 1990; Graybiel, 1990; Schiffmann y Vanderhaegen, 1993; Utter, 2008).

Otras aferencias excitatorias del estriado provienen del tálamo, las aferencias de neuronas dopaminérgicas están localizadas en el mesencéfalo ventral, de la SNc y del AVT (Gerfen, *et al.*, 1987; Keyser, 2004). La DA actúa principalmente como un neuromodulador en las NEM e interneuronas colinérgicas (Surmeier, 2006). También actúa para modular la liberación de GABA en la SN presinápticamente (Tepper, 2007).

Los receptores D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub> están acoplados a proteína G. Cuando la DA se une al receptor D<sub>1</sub>, la proteína G inicia una cascada de señalización produciendo la despolarización de la neurona. Cuando la DA se une a los receptores D<sub>2</sub>, en contraste, la proteína G inicia una cascada que produce una hiperpolarización neuronal. Así, la acción de los receptores D<sub>1</sub> es excitar el circuito corticoestriatal, mientras que la acción de los receptores D<sub>2</sub> es inhibirlo (Utter, 2008). Esta dicotomía llevó a la noción clásica de la inhibición del movimiento por la vía indirecta y la facilitación del movimiento por la vía directa (Gerfen y Wilson, 1996).

Aparte de las NEM en el estriado, hay interneuronas, colinérgicas y GABAérgicas (Bolam *et al.*, 1984; Apicella, 1991; Aosaki, 1995; Wilson, 1998; Das *et al.*, 2001; Threlfell y Cragg, 2011).

El cuerpo estriado tiene una estructura heterogénea, con islotes de células, el compartimiento estriosomal, teñido débilmente por la acetilcolinesterasa, y un compartimiento de matriz con fuerte tinción (Graybiel *et al.*, 1986). Las neuronas piramidales más profundas de la capa V envían colaterales al compartimiento de los parches, y las piramidales de la capa V más superficiales al compartimiento de la matriz (Paxinos, 2004). El compartimiento de la matriz en la parte ventral y dorsal del estriado, envía NEM a la SNr (Gerfen, 1985).

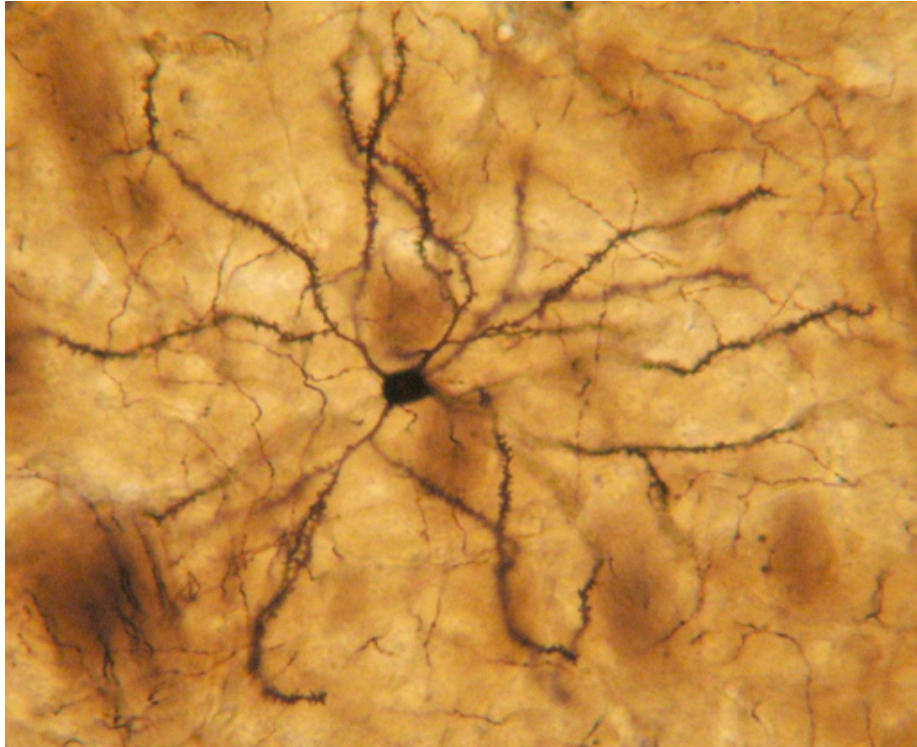


Figura 8. Neurona espinosa mediana del estriado de rata impregnado mediante el método de Golgi. Se observan las espinas en las dendritas. Tomado de <http://www.avila-costa.com>

### 2.3.3.2 Aferencias del cuerpo estriado

La mayoría de las áreas corticales proyectan al cuerpo estriado: corteza motora primaria, S1, corteza motora, y área motora suplementaria (Alexander y DeLong, 1985), aferencias provenientes principalmente de las neuronas piramidales de la capa V, algunas de las neuronas piramidales de la capa III y en menor cantidad de la capa VI, proporcionando al estriado la mayor entrada excitatoria. El área frontal de la corteza envía proyecciones a la región rostral del estriado, la corteza sensorial y motora a la región dorsal, y las aferencias provenientes de la corteza parietal a la región caudal del estriado (Paxinos, 2004). El cuerpo estriado está dividido en tres áreas: sensomotora, asociativa y límbica. El área asociativa recibe colaterales de la corteza frontal y temporal, parietal inferior, precipital, y del hipocampo. El área asociativa principalmente el núcleo caudado y la porción rostral del putamen. El área límbica recibe proyecciones de la corteza límbica, la corteza paralímbica, la amígdala y del hipocampo (Percheron y Filion, 1991; Yeterian y Pandya, 1991).

Las entradas de DA que recibe el estriado provienen de la SNc y del AVT, su entrada glutamatérgica proviene de la corteza prefrontal, el hipocampo, el núcleo subtalámico y la amígdala. El Locus Coeruleus envía proyecciones noradrenérgicas al cuerpo estriado (Parent *et al.*, 1983).

La DA es un factor importante en la regulación de la función del cuerpo estriado, algunas proyecciones se dirigen a las NEM. Los axones dopaminérgicos en el cuerpo estriado se ramifican, envían colaterales al GP, al NST y a la corteza prefrontal. Las neuronas dopaminérgicas también proyectan a interneuronas colinérgicas y GABAérgicas y ejercen efectos moduladores. El glutamato de las fibras aferentes corticales también puede modular la liberación de DA (Tish, 2004). El núcleo del rafe envía proyecciones serotoninérgicas al cuerpo estriado, que hacen sinapsis con las NEM con efectos excitatorios o inhibitorios, dependiendo del tipo de receptor (Lavoie y Parent, 1990). Las proyecciones estriatales hacia el GPe y GPi provienen en su mayoría del compartimiento de la matriz (Flaherty y Graybiel, 1993; Giménez y Graybiel, 1990), forman bandas paralelas en el GPe y GPi (Hedreen y DeLong, 1991; Hazrati y Parent, 1992).

El tema expuesto a continuación está referido a las espinas dendríticas al ser pilar fundamental de la presente investigación, por su participación en la transmisión sináptica y su vulnerabilidad durante el envejecimiento.

#### 2.4 Espinas dendríticas

El término espinas fue introducido por Cajal en 1888 en su primer descripción de los pequeños apéndices que salen de las ramificaciones de las células de Purkinje (Shepherd, 1996). Las espinas dendríticas son protrusiones membranosas de la superficie neuronal, especializadas en la transmisión sináptica, se distribuyen a lo largo del árbol dendrítico y se ha considerado que los cambios en su forma posiblemente están involucrados con la memoria y el aprendizaje (Yuste y Bonhoeffer, 2001), y en la potenciación de largo plazo (PLP) (Bliss y Collingridge, 1993).

Contienen receptores, organelos y sistemas de señalización esenciales para la función sináptica y la plasticidad (Nimchinsky *et al.*, 2002). Cerca del 50% de las espinas de las neuronas del hipocampo contienen retículo endoplásmico liso, el cual está especializado en formar el aparato espinoso en la mayoría de las espinas grandes (Spacek y Harris, 1997).

Estudios de la plasticidad de las espinas han revelado que su crecimiento está asociado con la estimulación sináptica *in vitro* (Yuste y Bonhoeffer, 2001) y el aprendizaje de tareas motoras *in vivo* (Jones y Smith, 2000).

Los receptores limitan la superficie de la espina concentrándose en la densidad postsináptica (DPS) (Nusser, 1998; Nimchinsky *et al.*, 2002).

Las espinas dendríticas clásicas constan de una cabeza bulbosa conectada al asta de la dendrita por un cuello estrecho. Morfológicamente, las espinas se dividen en categorías, basadas esencialmente en el tamaño de la cabeza y del cuello: la espina en forma de hongo es de cabeza larga y cuello reducido, la espina delgada tiene la cabeza pequeña y el cuello reducido, y las espinas cortas no tienen diferencia muy clara entre la cabeza y la unión al asta (Nimchinsky *et al.*, 2002), la espina filopodio presenta morfología similar a la de un cabello (Skoff y Hamburger, 1974).

Mediante la técnica de microscopía electrónica se ha estimado que el rango de espinas dendríticas en las células piramidales del área CA1 hipocampal de un adulto, es de 2 a 4 espinas por micrómetro (Harris y Stevens, 1989; Harris *et al.*, 1992; Sorra y Harris 1998). Sin embargo, las espinas dendríticas se pierden durante el envejecimiento y en presencia de algunas enfermedades neurodegenerativas.

Existen diversas teorías acerca de la función de las espinas dendríticas, las cuales se resumen en los siguientes puntos:

- Existen canales de  $\text{Ca}^2$  en las cabezas de las espinas.
- Las espinas son compartimentos individuales de  $\text{Ca}^2$ .
- Las espinas se pierden ante procesos patológicos y aumentan ante mecanismos de plasticidad cerebral como el aprendizaje y la memoria (Avila-Costa, 2000).

En la teoría de las espinas dendríticas como neuroprotectores, se postula que el papel de las espinas es prevenir a su dendrita de los incrementos del  $\text{Ca}^2$ , niveles que en ocasiones pueden ser tóxicos para la célula. El principal mecanismo de la espina al parecer es atrapar el  $\text{Ca}^2$  en el retículo endoplásmico, particularmente en el aparato espinoso (Segal, 1995a). Se ha considerado el importante papel del  $\text{Ca}^2$  en la plasticidad cerebral, pero también en la pérdida de espinas dendríticas y muerte neuronal al ser capaz de producir excitotoxicidad.

#### 2.4.1 Pérdida de espinas dendríticas

La regulación de la transmisión sináptica está mediada por los cambios intracelulares de la concentración de  $\text{Ca}^2$ , tanto en la terminal presináptica como en la postsináptica (Nicholls y Martin, 2001). La hipótesis de la PLP descrita en sinapsis glutamatérgicas de CA1 da fundamental importancia al incremento de las concentraciones de  $\text{Ca}^2$  en la terminal postsináptica (espinas dendríticas) a través de los receptores NMDA, produciendo una cascada de señalización de segundos mensajeros, como la activación de la calcio-calmodulina-dependiente de la kinasa II (CaMKII) y el AMPc-dependiente de Kinasa. Estos segundos mensajeros adhieren nuevos canales de NMDA a la membrana postsináptica, aumentando la sensibilidad y la superficie de la espinas dendríticas (Nicholls y Martin, 2001).

La hipótesis de la homeostasis del  $\text{Ca}^2$  postula que el equilibrio del  $\text{Ca}^2$  está alterada durante el envejecimiento, afectando el funcionamiento celular (Satrústegui *et al.*, 1993).

Se ha propuesto que el envejecimiento está asociado con el aumento de  $\text{Ca}^2$  dando lugar a la excitotoxicidad y a la pérdida neuronal, ocasionando la despolarización crónica de la membrana, como la mitocondrial, lo que favorece el aumento de las ERO inducidas por el daño de los complejos de la cadena respiratoria; el daño es inducido a nivel del ADNmt. Si bien tal despolarización mitocondrial crónica podría tener algunas desventajas metabólicas (Toescu, 2007). Se ha mencionado que la neurona y los compartimentos subcelulares como las mitocondrias, contienen sistemas antioxidantes especializados en impedir o disminuir el daño, como en la producción de estrés oxidativo inherente al metabolismo celular, sin embargo dichos antioxidantes disminuyen con el envejecimiento.

### 3. ANTIOXIDANTES

Las enzimas antioxidantes son una defensa que impide el daño oxidativo en macromoléculas (Rao *et al.*, 1990), juegan un papel crucial en la protección del organismo contra el estrés oxidativo (Chance *et al.*, 1979; Reiter *et al.*, 1998; Leon *et al.*, 2004).

El cerebro es muy susceptible a los daños de los radicales libres debido a sus altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados y los metales de transición tales como hierro (Cardozo-Pelaez *et al.*, 2000; Escames *et al.*, 2010). Más aún, el sistema antioxidante se ve afectado durante el envejecimiento (Vanella *et al.*, 1989; Erden-Inal *et al.*, 2002; Kregel y Zhang, 2007; Gemma *et al.*, 2007; Alabarse *et al.*, 2011), así como la síntesis de melatonina pineal (Gonca, 2008).

Se han descrito diversas sustancias con propiedades antioxidantes, para nuestros fines destacaremos la melatonina. Esta indolamina es sintetizada principalmente en la glándula pineal, se concentra en compartimentos subcelulares, incluyendo el núcleo y las mitocondrias (Escames *et al.*, 2010; Venegas *et al.*, 2012). Las propiedades antioxidantes de la melatonina incluyen: a) barredor directo de radicales libres, b) estimulación de las enzimas antioxidantes, c) aumento de la eficiencia de la fosforilación oxidativa mitocondrial y reducción de la fuga de electrones (lo que reduce la generación de radicales libres) (Reiter *et al.*, 2003; Öztürk *et al.*, 2012).

La hipótesis de los radicales libres postula que durante el envejecimiento aumenta la producción intracelular de ERO y disminuye la defensa antioxidante (Harman, 1956, 1983, 2003; Kumar *et al.*, 2011; Alabarse *et al.*, 2011), aspecto estrechamente asociado con la disfunción mitocondrial (Guevara *et al.*, 2011; Long *et al.*, 2009).

Las mitocondrias juegan un papel central en la vida y muerte celular. Estos organelos son esenciales para la producción de ATP y los principales generadores de ERO intracelulares (Beckman y Ames, 1998). Las ERO incluyen el  $O_2^{\bullet-}$ , el  $H_2O_2$  y  $OH^{\bullet}$  (Harman, 1956; Rodríguez *et al.*, 2008). Por lo tanto, el envejecimiento implica cambios en el equilibrio del estado redox de la mitocondria (Harman, 1972; Miquel *et al.*, 1980).

Las enzimas antioxidantes GPx, GRD y la SOD juegan un papel crucial contra el estrés oxidativo producido en el envejecimiento (Öztürk *et al.*, 2012).

La melatonina es un potente barredor de radicales libres, protege las células de daños inducidos por una diversidad de oxidantes incluyendo OH• y los productos de la peroxidación lipídica (Reiter *et al.*, 1994). El tratamiento con melatonina en ratas envejecidas (24 meses) impide la reducción de la SOD, GPx, GRD y GSH (Öztürk *et al.*, 2012). Se concentra por compartimentos celulares incluyendo al núcleo y la mitocondria (Escames *et al.*, 2010; Venegas *et al.*, 2012), y desempeña un papel importante en la homeostasis mitocondrial, especialmente en respuesta al daño mitocondrial (Acuña-Castroviejo *et al.*, 2007).

Antes de exponer la propiedad antioxidante de la melatonina, se precede a explicar algunos antioxidantes del SNC.

### 3.1 Antioxidantes Enzimáticos

Un antioxidante es una molécula o un ion relativamente estable, capaz de retardar o prevenir la oxidación incluso de otras moléculas (Halliwell y Gutteridge, 2007). Las células cuentan con sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para hacer frente a los daños producidos por los radicales libres (Dickinson y Forman, 2002). Las vitaminas y minerales antioxidantes y otros compuestos funcionan de distintas formas: determinadas vitaminas antioxidantes donan sus electrones o moléculas de hidrógeno a los radicales libres para estabilizarlos y reducir los daños producidos por la oxidación. El sistema de enzimas antioxidante promueve que haya más antioxidantes vitamínicos, incluye la SOD (Cu, Zn, Mn, Fe), CAT y GPx (Matés, 2000); el sistema no enzimático está formado por pequeñas moléculas tales como el  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C),  $\beta$ -caroteno y GSH (Dickinson y Forman, 2002).

La SOD catalizan la disminución del  $O_2^{\bullet-}$  para producir  $H_2O_2$  y  $O_2$ , se ha encontrado en mayores concentraciones en el citosol de las células, aunque también puede estar presente en el núcleo, en la mitocondria, protegiendo a este organelo de los  $O_2^{\bullet-}$  producidos durante el transporte electrónico mitocondrial (Halliwell y Gutteridge, 2007).



La CAT cataliza la reducción del  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$ . La mayoría de las células contienen catalasa en los peroxisomas, organelos que, por otra parte contienen muchas de las enzimas generadoras de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de las células (Dunlop *et al.*, 2003).

La GPx cataliza la reducción del  $\text{H}_2\text{O}_2$  y de hidroperóxidos orgánico, localizada fundamentalmente en el citosol de las células, aunque también puede localizarse en las mitocondrias (Jackson *et al.*, 2002). La GRD cataliza la reducción de glutatión oxidado utilizando equivalentes redox en forma de NADPH. Su localización es citosólica y mitocondrial (Jackson *et al.*, 2002; Dunlop *et al.*, 2003).

### 3.2 Antioxidantes no Enzimáticos

Además de las enzimas descritas anteriormente, existe otra línea de defensa antioxidante que funciona sin intervención enzimática, secuestrando a los radicales libres que escapan de las enzimas antioxidantes. Dentro de este grupo se encuentran diversas proteínas como el glutatión, la vitamina C, el ácido úrico y la taurina entre otros (Gil, 2010).

El glutatión (GSH) puede reaccionar con especies como el  $\text{H}_2\text{O}_2$  u otros peróxidos orgánicos, con radicales libres como  $\text{O}_2^{\bullet-}$  y  $\text{OH}^{\bullet}$  (Gil, 2010).

La vitamina C o ácido ascórbico reacciona con el  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , el  $\text{OH}^{\bullet}$  y diversos hidroperóxidos lipídicos, restauran las propiedades antioxidantes de la vitamina E (Thompson *et al.*, 2008; Gil, 2010). La vitamina E es un conjunto de compuestos denominados tocoferoles. De todos estos el que posee una mayor actividad antioxidante es el  $\alpha$ -tocoferol. La vitamina E se ha encontrado en la membranas de la mayoría de las células. La molécula de tocoferol es capaz de reaccionar con especies reactivas de oxígeno como los radicales peroxilo ( $\text{ROO}^{\bullet}$ ) (Thompson *et al.*, 2008).

El  $\beta$ -caroteno, que es un precursor de la vitamina A, se encuentra en elevadas concentraciones en las membranas de distintos tejidos. Este carotenoide además de secuestrar oxígenos, es capaz de reaccionar con los radicales peroxilo que se generan durante la peroxidación de lípidos. (Thompson *et al.*, 2008; Gil, 2010).

La melatonina posee propiedades antioxidantes, la cual no entra en la categoría de antioxidantes mencionada.

### 3.3 Melatonina

La melatonina es una neurohormona liposoluble sintetizada principalmente en la glándula pineal por los pinealocitos (Hardeland *et al.*, 2011), también es secretada a través de la glándula pineal al tercer ventrículo (Tricoire *et al.*, 2002; Tricoire *et al.*, 2003), se difunde en los capilares de la sangre y el líquido cerebrospinal. Como la melatonina pasa a través de todas las membranas biológicas con facilidad, el tejido cerebral puede tener mayores niveles de melatonina que otros tejidos del cuerpo (Tan *et al.*, 2010). Sin embargo, en la mayoría de las partes del sistema ventricular y en el canal espinal, las concentraciones de melatonina son menores en comparación con la glándula pineal (Hardeland, 2010b).

La melatonina está involucrada en múltiples procesos biológicos. Posee funciones adicionales como un factor tisular local y acciones parácrinas y autócrinas (Tan *et al.*, 2003).

Es una indolamina (N-acetil-5-meto-xitriptamina) (Figura 9), la cual regula los ritmos circadianos por el efecto que ejerce sobre el hipotálamo en el núcleo supraquiasmático (NSQ) durante la fase oscura del fotoperiodo. Sin embargo, sus funciones son mucho más amplias, en términos de los sitios de biosíntesis y acción (Tan *et al.*, 2003; Hardeland *et al.*, 2011).

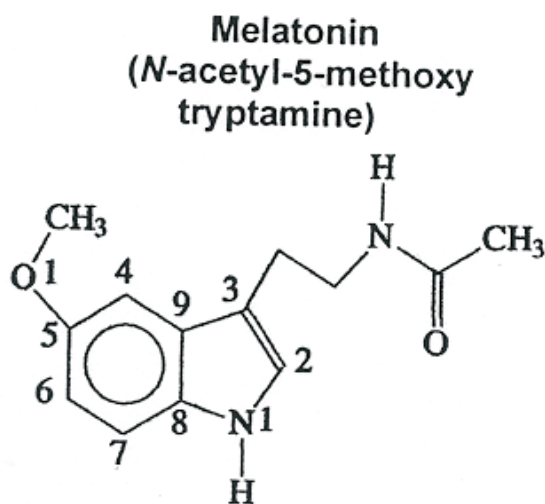


Figura 9. Dibujo de la molécula de la Melatonina. Tomado de Reiter *et al.* (2003).

La melatonina se sintetiza de la serotonina en dos pasos, *N*-acetilación a *N*-acetilserotonina seguido por O-metilación (Leu-Semenescu *et al.*, 2010).

Su principal vía de catabolismo es mediante 6-hidroxilación por monooxigenasas hepáticas, los tejidos pueden ser vías alternas de catabolismo, pero son de menor importancia cuantitativa (Pandi-Perumal *et al.*, 2006).

La melatonina está presente en numerosos órganos y células, tales como el tracto gastrointestinal, la médula ósea, varios leucocitos, la membrana de la cóclea, la piel, y otras regiones (Bubenik, 2002). Cantidades altas de melatonina entrar en la sangre desde el tracto gastrointestinal en respuesta a factores nutricionales (Bubenik, 2002).

Durante el envejecimiento, el pico de secreción nocturna de melatonina decrece, aunque con variabilidad individual (Cardinali *et al.*, 2008). La disminución del metabolito principal de la melatonina (6-sulfatoximelatonina), se ha detectado en las concentraciones de plasma, en la glándula pineal de humanos, en saliva, en líquido cerebroespinal, y en orina (Youngstedt *et al.*, 2001; Kripke *et al.*, 2005; Mahlberg *et al.*, 2006). Se excreta por la orina en forma de su principal metabolito 6-sulfato-hidroximelatonina en estrecha relación con las concentraciones séricas de melatonina (Rufo-Campos, 2002). En humanos la administración oral de 2 y 4 mg de melatonina tiene una vida media de aproximadamente 1 hora, y su biodisponibilidad es del 15% aproximadamente, pues el 85% es metabolizado en el hígado (DeMuro *et al.*, 2000).

Aparte de regular los ritmos circadianos, la homeostasis del sueño, la neuromodulación de la retina, y las respuestas vasomotoras. Las propiedades antioxidantes de la melatonina pueden ser directas e indirectas (Seithikurippu *et al.*, 2012). Directamente es un barredor de radicales libres, neutraliza carbonato hidroxilado y varios radicales orgánicos, así como especies reactivas de nitrógeno (ERN). Indirectamente mejora el potencial antioxidante mediante la estimulación del sistema enzimático antioxidante incluyendo la SOD, la GPx, y GRD, y mediante el aumento de los niveles de GSH. Preserva la homeostasis mitocondrial, reduce la generación de radicales libres y protege las mitocondrias (Galano *et al.*, 2011). Contiene efectos sedantes, antiexcitatorios y anticonvulsivos que comprenden diferentes acciones, tales como la modulación de receptores de glutamato entre otros (Hardeland y Poeggeler, 2008).

La melatonina actúa a través de dos receptores de membrana acoplados a proteína G: MT<sub>1</sub> y MT<sub>2</sub> (Dubocovich *et al.*, 2010).

### 3.4 Receptores de Melatonina

A través de sus receptores, la melatonina ejerce efectos sobre la secreción de varias hormonas, directamente o indirectamente influyendo en el SNC y SNP (Hardeland, 2012). Los receptores MT<sub>1</sub> y MT<sub>2</sub> están acoplados a proteínas G, presentes en numerosos tejidos del SNP (Dubocovich y Markowska, 2005; Hardeland *et al.*, 2011), en el SNC se encuentran en la SNc, amígdala, corteza cerebral, glándula pineal; específicamente el receptor MT<sub>2</sub> está presente en hipocampo y retina. MT<sub>1</sub> se encuentra en mayores concentraciones en las capas I a IV de la corteza cerebral, en el sistema cerebrovascular especialmente en la arteria intrahipocámpal (Savaskan *et al.*, 2001, 2002; Brunner, 2006; Savaskan *et al.*, 2007; Adi *et al.*, 2010). Ambos receptores están presentes en el NSQ de la mayoría de las especies (Hardeland *et al.*, 2011). La melatonina promueve el sueño mediante la acción del receptor MT<sub>1</sub> del NSQ (Saper *et al.*, 2005; Fuller *et al.*, 2006).

Los receptores MT<sub>1</sub> y MT<sub>2</sub> ejercen acciones opuestas en el sistema vascular, la activación de MT<sub>1</sub> causa vasoconstricción, y la de MT<sub>2</sub> vasodilatación (Dubocovich y Markowska, 2005).

Otros sitios de unión de la melatonina es la familia del receptor nuclear del ácido retinoico, el receptor ROR $\alpha$  y ROR $\beta$  (Carlberg, 2000). ROR $\alpha$  se expresa en altos niveles en los linfocitos T y B, en neutrófilos y monocitos (Lardone *et al.*, 2011), mientras que ROR $\beta$  se encuentra en la glándula pineal, la retina, el bazo, en sitios de unión relacionados con el metabolismo dependiente de Ca<sup>2</sup> y en las mitocondrias (Hardeland, 2009).

Además de la unión a receptores MT<sub>1</sub> y MT<sub>2</sub>, la melatonina muestra afinidad por otro sitio de unión (MT<sub>3</sub>), el cual es una enzima, quinonareductasa 2 (QR2 o NQO2) (Nosjean *et al.*, 2000). Protege contra el estrés oxidativo resultante de la transferencia de electrones de quinonas, pero hay poca información sobre él (Harada *et al.*, 2001). La melatonina también puede actuar directamente sobre las células a través de su unión a CaM (Benítez-King, 2006), tubulina (Cardinali y Freire 1975), calreticulina y, tal vez, otras proteínas de unión al Ca<sup>2</sup> (Macias *et al.*, 2003).

En ratones knockout MT<sub>2</sub>, se ve alterada la potenciación a largo plazo (Larson *et al.*, 2006), un hallazgo de interés en términos de plasticidad neuronal y aprendizaje. Ratones knockout MT<sub>1</sub> muestran déficit sensoriomotor gradual y mayores tiempos de inmovilidad en las pruebas de natación forzada, que suele interpretarse como una indicación del comportamiento depresivo (Weil *et al.*, 2006).

### 3.5 Propiedades Antioxidantes

La melatonina fue identificada como un potente barredor de radicales libres directo (Tan *et al.*, 2003) y antioxidante indirecto (Reiter *et al.*, 2000c; Rodríguez *et al.*, 2004). Ha sido utilizada en un gran número de modelos experimentales, como en la EP, EA y EH (Reiter, 1999; Antolin *et al.*, 2002; Gutiérrez, 2007; Mayoral, 2008; García, 2008; Torres, 2012).

Las razones por las cuales la melatonina tiene la mayoría de las características deseables de un buen antioxidante son: 1) se distribuye ampliamente en el organismo y está presente en concentraciones adecuadas, 2) es un antioxidante de amplio espectro, 3) se transporta fácilmente a través de las membranas celulares; 4) se puede regenerar después de inactivación de radicales y las propiedades antioxidantes de sus metabolitos permanecen; 5) tiene una toxicidad mínima (Galano *et al.*, 2011.).

Se ha reportado el efecto neuroprotector de la melatonina, el cual se puede explicar por su propiedad como barredor de radicales libres y estimulante del sistema antioxidante (Reiter, 2003), al disminuir los niveles de peroxidación de lípidos (Gutiérrez, 2007), como el malondialdehído (MDA) en la corteza frontal (Mogulkoc *et al.*, 2006; Gonca, 2008) y aumentando los niveles de enzimas antioxidantes (Öztürk *et al.*, 2012).

#### 3.5.1 Barredor de Radicales Libres

El estrés oxidativo producido por la disfunción mitocondrial durante el envejecimiento está involucrado con diversas enfermedades neurodegenerativas, como EP, EA y la EH, las cuales incrementan la apoptosis en diferentes áreas del SNC (Cardinali *et al.*, 2011). En el caso de la EA los agregados de  $\beta$ -amiloide generan ERO produciendo muerte neuronal por los daños a los lípidos de las membranas, proteínas y ácidos nucleicos. Se ha observado que la melatonina protege la toxicidad producida por la  $\beta$ -amiloide a nivel mitocondrial (Olcese

*et al.*, 2009; Dragicevic *et al.*, 2011). Siendo ésta la base para el uso de un antioxidante como la melatonina en pacientes con la EA (Cardinali *et al.*, 2008).

En el modelo de la EP con MPTP (Castroviejo, 1997; Jin, 1998; Terzioglu y Galter, 2008), la administración de melatonina (20 mg/kg) reduce significativamente la actividad de las ERN estimuladas por el MPP<sup>+</sup> (1-metil-4-fenilpiridinium, metabolito glial activo del MPTP). La administración de melatonina (10 mg/kg) en el modelo de la EP con 6-OHDA, mejora el desempeño motor en viga de equilibrio e impide la peroxidación de lípidos en el cuerpo estriado, preservando mayor número de neuronas dopaminérgicas de la SNC (Gutiérrez, 2007; Mayoral, 2008; García, 2008; Torres, 2012). Por lo cual se ha considerado a la melatonina como un candidato para complementar la medicación a los pacientes con EP (Cardinali *et al.*, 2011). En un modelo de EA con ratones, los cuales fueron tratados un mes con melatonina, se encontró que los niveles de la  $\beta$ -amiloide decrecieron de un 25 a un 50 en las mitocondrias del cerebro. Esto fue acompañado por una restauración casi completa de las tasas respiratorias mitocondriales, potencial de membrana, y los niveles de ATP de las mitocondrias aisladas del hipocampo, la corteza y el estriado (Dragicevic *et al.*, 2011). La melatonina disminuye el daño mitocondrial inducido por la  $\beta$ -amiloide en las neuronas del hipocampo de ratas envejecidas (Dong *et al.*, 2010). Puede ser útil para tratar el deterioro cognitivo leve y para prevenir la progresión de EA (Cardinali *et al.*, 2011).

Numerosos estudios han demostrado que desempeña un papel eficaz en la regulación de la homeostasis mitocondrial, además de eliminar los radicales libres, reduce el ON generado dentro de las mitocondrial (Acuña-Castroviejo *et al.*, 2011; Srinivasan *et al.*, 2011c). Reacciona con radicales como OH $\cdot$  y O<sub>2</sub> $\cdot^-$ . Es un eficaz inhibidor de la peroxidación lipídica por barrido de especies altamente reactivas, tales como OH $\cdot$ , que inician el proceso de degradación (Galano *et al.*, 2011). Protege la cadena de transporte de electrones mitocondrial y el ADNmt, de las ERO y las ERN (Acuña-Castroviejo *et al.*, 2011).

### 3.5.2 Estimula el sistema antioxidante

Además de ser un antioxidante, la melatonina promueve la síntesis de GSH mediante la estimulación de la actividad de la enzima  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetasa (Urata *et al.*, 1999) y

también a través de sus efectos sobre la expresión del gen de la GPx, GRD, SOD y CAT (Rodríguez *et al.*, 2004).

La melatonina desempeña un papel importante en la defensa antioxidante a través de la regulación de las enzimas implicadas en la ruta redox y directamente a través de los antioxidantes no enzimáticos, efecto eliminador de radicales que la melatonina y algunos de sus metabolitos (especialmente AFMK y AMK) tienen para secuestrar ERO, ERN y los radicales orgánicos (Reiter *et al.*, 2009).

Con los diversos estudios realizados sobre el efecto antioxidante de la melatonina, se espera que ésta sea un neuroprotector eficaz, especialmente en personas de edad avanzada (Cardinali *et al.*, 2011).

Ya sea por sus efectos directos o indirectos, la melatonina protege a las neuronas, disminuyendo significativamente la pérdida de espinas dendríticas de las NEM del estriado (García, 2008) e incrementando significativamente los contactos con espinas dendríticas de las NEM en un modelo de la EP en ratas (Gutiérrez, 2007). Por otra parte, el tratamiento con melatonina en un modelo de isquemia cerebral aumenta la densidad de espinas dendríticas y reduce la muerte de neuronas piramidales del hipocampo (González *et al.*, 2007). En animales pinealectomizados los cuales muestran pérdida de neuronas piramidales en CA1 y CA3, y el tratamiento con melatonina preserva mayor número de neuronas (Butte y Pappas, 2007).

#### **4. JUSTIFICACIÓN**

Durante el envejecimiento se presenta deterioro motor y pérdida neuronal en estructuras cerebrales relacionadas con actividades motoras y cognitivas, además de las alteraciones fisiológicas que conllevan la disminución de los sistemas antioxidantes, estas alteraciones son probablemente una condición farmacológicamente tratable con melatonina debido a sus propiedades como barredor de radicales libres y su efecto neuroprotector. Es importante investigar el efecto de la melatonina sobre la preservación de las estructuras cerebrales involucradas en el desempeño motor y los procesos cognitivos en el envejecimiento, ya que estas funciones se ven deterioradas en los adultos mayores y aumentan la probabilidad de la aparición de enfermedades neurodegenerativas.

Cabe mencionar que el promedio de vida de una rata es de 3 años, por lo cual una rata de 2 años es una rata de edad avanzada o vieja, equivalente a 65-70 años de una persona.

#### **5. HIPÓTESIS EXPERIMENTAL**

Si el envejecimiento produce cambios citológicos en la corteza cerebral, el estriado, el hipocampo y la SNc y estos cambios se relacionan con la actividad motora, es probable que la administración de melatonina ejerza un efecto neuroprotector debido a sus propiedades antioxidantes, conservando mayor número de neuronas dopaminérgicas, así como de espinas dendríticas en las neuronas piramidales y en las NEM de las ratas viejas.

Al verse beneficiadas las neuronas mencionadas tras la administración de melatonina, es probable que haya un mejor desempeño en la actividad motora fina, evaluada mediante la prueba de viga, de las ratas viejas.

##### **Hipótesis Nula**

El tratamiento con melatonina no ejercerá un efecto neuroprotector en las neuronas dopaminérgicas, ni en las espinas dendríticas de las neuronas piramidales y las NEM de las ratas viejas.

El tratamiento con melatonina no beneficiará el desempeño de la actividad motora fina evaluada mediante la prueba de viga en las ratas viejas.



## **6. OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto protector de la administración oral de Melatonina en la actividad motora y en la citología de neuronas piramidales de hipocampo del área CA1, capa V de las cortezas frontal y parietal, neuronas espinosas medianas de proyección del estriado y neuronas dopaminérgicas de la SNc en ratas hembras de 24 meses de edad.

### **6.1 OBJETIVOS PARTICULARES**

- Evaluar la efectividad de la melatonina sobre el desempeño de la actividad motora fina mediante la prueba de viga de equilibrio de los grupos con y sin tratamiento.
- Evaluar la efectividad de la melatonina en la preservación del número de neuronas dopaminérgicas de la SNc, de los grupos con y sin tratamiento mediante el conteo de neuronas marcadas con inmunocitoquímica antitirosina hidroxilasa (TH enzima limitante de la síntesis de catecolaminas).
- Evaluar la efectividad de la melatonina sobre la preservación de las espinas dendríticas en el área CA1 de neuronas piramidales de hipocampo, de la capa V de las cortezas frontal y parietal, y de las neuronas espinosas de proyección del estriado, en los grupos con y sin tratamiento marcando las neuronas mediante el método de impregnación argéntica de Golgi.

## **7. MATERIAL Y MÉTODO**

Se utilizaron 7 ratas hembras de la cepa Wistar de 24 meses de edad, mantenidas en condiciones de laboratorio con foto periodo de 12/12h, con libre acceso al alimento y agua. También se utilizaron datos citológicos de ratas hembras de la misma cepa de 6 meses de edad.

*Tratamiento.* El grupo de ratas de 24 meses se dividió al azar en dos grupos, el grupo de viejas-control y el de viejas-experimental. Se administraron 10 mg/kg de Melatonina mezclada con Cerelac de Nestlé®, diariamente por vía oral en las mañanas (10:00am)

durante 56 días, a las ratas pertenecientes al grupo de viejas-experimental ( $n=4$ ), el grupo viejas-control ( $n=3$ ) permaneció por el mismo tiempo sin tratamiento.

*Prueba de viga.* En esta prueba el desplazamiento ascendente exige mantenerse sobre la viga y avanzar sin caer. En esta actividad es evaluada la función motora fina (Phillips *et al.*, 1997) permitiendo observar la coordinación (Jinnah y Hess, 2004), disfunción motora, sensorial y cognitiva (Allbutt y Henderson, 2007). Se utilizó una viga de 24 mm de ancho con 2 m de longitud colocada a 180° con respecto al suelo, la cual los animales recorrían de un extremo a otro hasta llegar a su caja hogar (Anexo 1). Se entrenó una semana a los dos grupos antes del tratamiento y posteriormente se administró la melatonina al grupo experimental y se evaluó una vez por semana el desempeño en la viga a los dos grupos, registrando el tiempo que cada animal tardaba en recorrer la viga.

Después de 56 días de tratamiento y evaluaciones una vez por semana, se realizó la perfusión intracardiaca por vía aórtica, inicialmente con solución salina isotónica (0.9% NaCl) seguida de fijador (glutaraldehído al 2% y paraformaldehído al 2% en buffer de fosfato salino (PBS) 0.1 M) (Avila-Costa *et al.*, 2007a). Una vez perfundidas las ratas se extrajeron los cerebros y se colocaron en fijador.

*Análisis mediante el método de Golgi.* Se realizaron cortes coronales de 100  $\mu\text{m}$  de espesor en un microtomo mecánico, se tomaron muestras del hipocampo, las cortezas frontal y parietal, y del estriado para procesar el tejido con la técnica de Golgi (Anexo 2). Se contaron las espinas dendríticas de cuatro dendritas secundarias de 5 neuronas piramidales del área CA1 del hipocampo, capa V de las cortezas frontal y parietal, neuronas espinosas medianas del estriado, en un segmento de 10  $\mu\text{m}$  posterior a los diez primeros micrómetros de la dendrita secundaria a partir de la primera bifurcación de la dendrita primaria (Figura 10). Se realizó el mismo procedimiento en tejido de ratas hembras jóvenes (6 meses) las cuales no recibieron medicamento (grupo jóvenes-control) con el fin de comparar las ratas viejas con y sin tratamiento y el grupo de jóvenes.

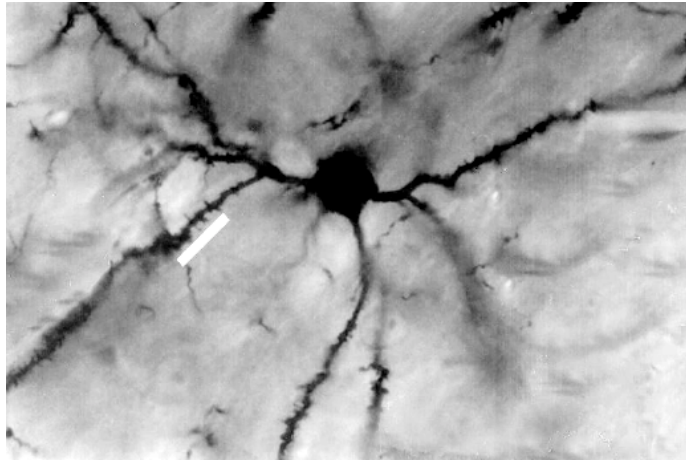


Figura 10. NEM procesada por el método de Golgi. La barra blanca muestra el segmento de 10  $\mu\text{m}$  posterior a los diez primeros micrómetros de la dendrita secundaria. Tomado de García (2008) (40X).

*Análisis inmunocitoquímico.* Para la tinción inmunocitoquímica anti-tirosina hidroxilasa (TH) se realizaron cortes coronales de 50 $\mu\text{m}$  de espesor en un vibratomo (Pelco 101 Ted Pella Ine 1000) para obtener muestras del mesencéfalo. Estas muestras se procesaron para la tinción selectiva con el anticuerpo anti-TH (TH 1:1000 AB 152, Chemicon International; Anti-Mouse IgG 1:200 (H+L) hecho en caballo; Elite Vectastain ABC Kit, Biotinylated) (Anexo 3). Se contó el número de neuronas inmunoreactivas a TH en 1500  $\mu\text{m}^2$  de la SNc en 5 cortes de cerebro de cada animal (Figura 11) (Avila-Costa et al., 2007a). Se realizó el mismo procedimiento en tejido de animales jóvenes con el fin de compararlo con las ratas viejas con y sin tratamiento.

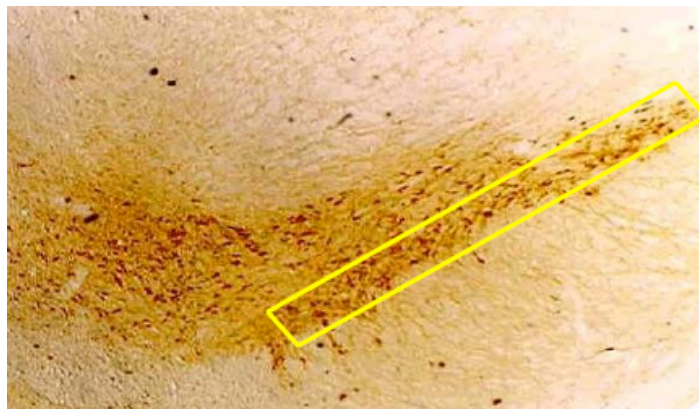


Figura 11. Corte coronal de una sección del mesencéfalo procesado por el método de anti-TH. El rectángulo amarillo muestra el área de 1500  $\mu\text{m}^2$  de la SNc. Tomado de Gutiérrez (2007) (10X).

*Análisis estadístico.* Para el análisis de los cambios morfológicos y el tiempo en la prueba de viga, se aplicó la prueba t de Student para muestras no pareadas.

## 8. RESULTADOS

Al analizar el desempeño motor mediante la prueba de viga en los grupos de ratas viejas-melatonina y viejas-control, se observan diferencias significativas, ya que el grupo melatonina redujo los tiempos para recorrer la viga en comparación con el grupo viejas-control (Gráfica 1). En cuanto al análisis citológico en general se observaron diferencias significativas entre los tres grupos; el grupo de ratas viejas tratadas con melatonina conservó mayor número de espinas dendríticas y neuronas dopaminérgicas en comparación con el grupo de viejas-control. Evidentemente el grupo de ratas jóvenes-control preserva mayor número de espinas y de neuronas dopaminérgicas que los dos grupos de viejas (Tabla 1) (Gráfica 2 y 3) (Figuras 12-17).

Al comparar el grupo jóvenes-control y viejas-control se observó que las estructuras más vulnerables a la pérdida de espinas dendríticas en el envejecimiento son: el hipocampo ( $X= 10.60 \pm 0.46$  jóvenes-control y  $4.31 \pm 0.15$  viejas-control) (Gráfica 2C) (Figuras 13 y 16), la corteza frontal ( $X= 9.80 \pm 0.54$  jóvenes-control y  $5.07 \pm 0.15$  viejas-control) (Gráfica 2A) y la corteza parietal ( $X= 9.30 \pm 0.36$  jóvenes-control y  $4.55 \pm 0.12$  viejas-control) (Gráfica 2B) (Figuras 12 y 15). En cuanto a las neuronas dopaminérgicas de los grupos controles, observamos que también son muy vulnerables al proceso de envejecimiento ( $X= 72.77 \pm 1.91$  jóvenes-control y  $34.83 \pm 1.61$  viejas-control) (Gráfica 3) (Figura 17). Por otra parte, el estriado es vulnerable y pierde espinas en el envejecimiento pero en menor medida (Gráfica 2D) (Figura 14).

Encontramos que el tratamiento con melatonina en el envejecimiento disminuye la pérdida de espinas dendríticas principalmente en el hipocampo ( $X= 7.15 \pm 0.18$  viejas-melatonina y  $4.31 \pm 0.15$  viejas-control) (Gráfica 2 B y C) (Figura 13 B y C y 16 B y C), y conservación mayor número de neuronas dopaminérgicas ( $X= 56.95 \pm 1.21$  viejas-melatonina y  $34.83 \pm 1.61$  viejas-control) (Gráfica 3) (Figura 17). En las otras estructuras también conserva mayor número de espinas dendríticas pero no tan marcado como en las ya mencionadas. A continuación presentamos los resultados correspondientes a cada grupo (Tabla 1).

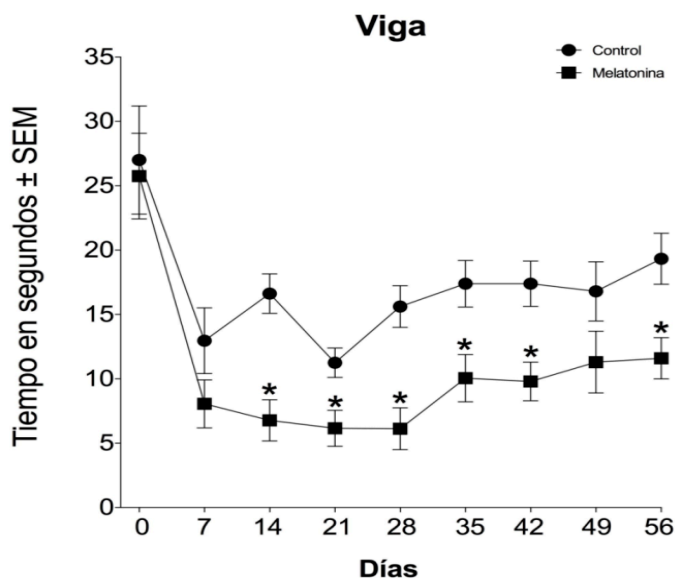
<b>Espinas Dendríticas</b>			
<b>Estructura</b>	<b>J-C</b>	<b>V-C</b>	<b>V-M</b>
Hipocampo	10.6	4.31	7.15
Cx Frontal	9.8	5.07	5.66
Cx Parietal	9.3	4.55	5.6
Estriado	7.94	5.1	6.75
<b>Neuronas Dopaminérgicas</b>			
SNc	72.77	34.83	56.95

Tabla1. Media del número de espinas dendríticas y de neuronas dopaminérgicas de los grupos: Jóvenes-Control (J-C), Viejas-Control (V-C) y Viejas-Melatonina (V-M).

### *Prueba de Viga de Equilibrio*

Aún cuando el desempeño de los animales en la viga durante la evaluación control (día 0) fue similar, el grupo de ratas viejas que recibió tratamiento disminuyó el tiempo para recorrer la viga, en comparación con el grupo sin tratamiento (Gráfica 1).

En la segunda evaluación (día 7) los grupos con y sin tratamiento redujeron el tiempo en recorrer la viga. A partir de la tercera evaluación (día 14) y segunda semana de tratamiento en el grupo experimental, se observan diferencias significativas en el tiempo para recorrer la viga en comparación con el grupo control. Sin embargo a partir de la quinta evaluación (día 28) comienza a aumentar el tiempo paulatinamente hasta la novena evaluación (día 56). Se observa en ambos grupos aumento progresivo en el tiempo para recorrer la viga a partir de la cuarta evaluación, en el grupo control (día 21) y en la sexta evaluación del grupo con tratamiento (día 35), aspecto constante hasta la novena y última evaluación (día 56).



Gráfica 1. Resultados obtenidos del tiempo para recorrer la viga de 24 mm de espesor del grupo con y sin tratamiento.

\*=  $P < 0.05$  ratas viejas-control vs viejas-melatonina.

### *Citología: Método de Golgi*

La Gráfica 2 muestra las medias de la conservación de espinas dendríticas en las diferentes áreas analizadas de los tres grupos.

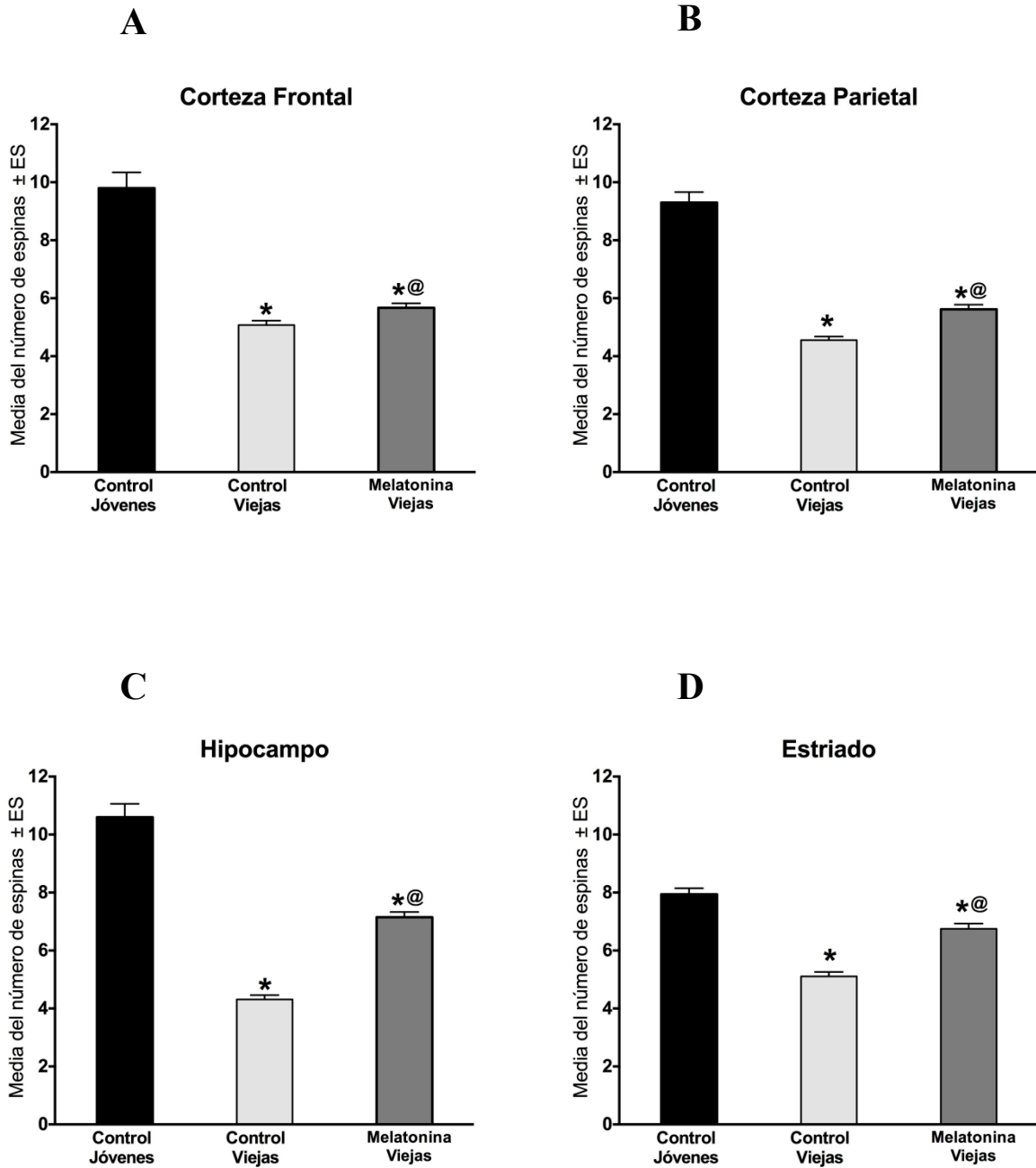
La Gráfica 2A muestra los resultados encontrados en las neuronas piramidales de la corteza frontal. Al comparar los grupos control de viejas y jóvenes, encontramos que la pérdida de espinas dendríticas en el envejecimiento es amplia ( $X= 9.80 \pm 0.54$  jóvenes-control y  $5.07 \pm 0.15$  viejas-control) (Figuras 12-17, en las secciones A y B); el grupo experimental muestra que la administración de melatonina en el envejecimiento favorece la preservación de las espinas dendríticas ( $X= 5.66 \pm 0.15$  viejas-melatonina y  $5.07 \pm 0.15$  viejas-control) (Gráfica 2) (Figuras 12-17, en la foto C). En la corteza parietal sucede algo similar, la Gráfica 2B ilustra la pérdida de espinas en el envejecimiento al comparar los grupos control jóvenes y viejas ( $X= 9.30 \pm 0.36$  jóvenes control y  $4.55 \pm 0.12$  viejas-control). La administración de melatonina beneficia la conservación de espinas dendríticas en la corteza frontal y parietal (Gráfica 2A y 2B), la conservación es estadísticamente significativa ( $X= 5.61 \pm 0.16$  viejas-melatonina y  $4.55 \pm 0.12$  viejas-control).

La Gráfica 2C muestra los resultados encontrados en las neuronas piramidales del hipocampo (CA1), las cuales contienen mayor densidad de espinas en el grupo de jóvenes en comparación con las otras estructuras analizadas, pero es muy evidente la pérdida de las dendritas en el hipocampo durante el envejecimiento al comparar los grupos controles de jóvenes y viejas ( $X= 10.60 \pm 0.46$  jóvenes-control y  $4.31 \pm 0.15$  viejas-control) (Gráfica 2) (Figuras 13 A y B, y 16 A y B), posicionando al hipocampo como la estructura más vulnerable en el envejecimiento. La administración de melatonina en el grupo de viejas impide esta pérdida de espinas que asciende alrededor del 50% en el grupo de ratas viejas-control ( $X= 7.15 \pm 0.18$  viejas-melatonina y  $4.31 \pm 0.15$  viejas-control) demostrando que su efecto neuroprotector beneficia en mayor grado a las espinas dendríticas del hipocampo en comparación con las otras estructuras estudiadas (Gráfica 2) (Figuras 13C y 16C).

La Gráfica 2D muestra los resultados de las espinas dendríticas de las NEM del estriado, observando en los grupos control que las espinas se pierden levemente en el envejecimiento ( $X= 7.94 \pm 0.21$  jóvenes-control y  $5.10 \pm 0.15$  viejas-control) (Figura 14 A y B). Al comparar el grupo de viejas-melatonina y viejas-control, encontramos que el tratamiento con

melatonina revierte parte de la pérdida dendrítica ( $X= 6.75 \pm 0.18$  viejas-melatonina y  $5.10 \pm 0.15$  viejas-control) (Figura 14 B y C).

Las estructuras más vulnerables a la pérdida de espinas dendríticas durante el envejecimiento son la corteza y el hipocampo, la administración de melatonina beneficia la conservación de espinas en la corteza, el hipocampo y el estriado; principalmente en el hipocampo (gráfica 2) (Figuras 12-17).



Gráfica 2. Media del número de espinas dendríticas encontradas en dendritas secundarias de las neuronas piramidales del área motora de la corteza frontal (A), del área sensorial de la corteza parietal (B), del área CA1 del hipocampo (C) y de las NEM del estriado (D); de los grupos: Jóvenes-Control, Viejas-Contro y Viejas Melatonina. \*= P< 0.05 grupo de ratas viejas-control y viejas-melatonina con respecto al grupo jóvenes control. @= P< 0.05 del grupo viejas-melatonina con respecto al viejas-control.



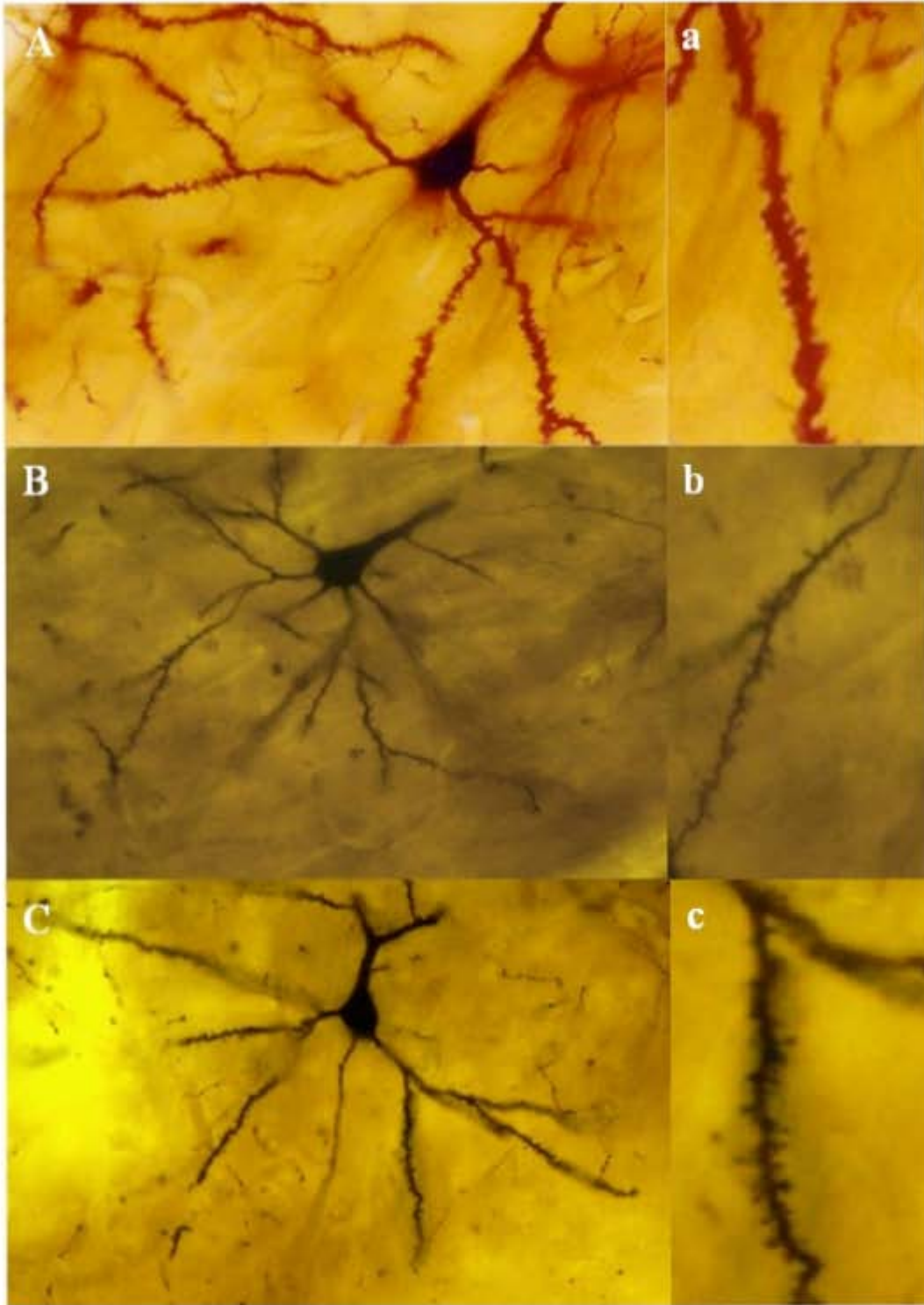


Figura 12. Corte coronal del cerebro de una rata procesado por el método de Golgi, donde se observan neuronas piramidales de la capa V de la corteza parietal (área sensorial). (A) corresponde al grupo de ratas jóvenes-control, (a) es la dendrita secundaria de la misma neurona. (B) corresponde al grupo de ratas viejas-control, (b) es dendrita secundaria de la misma neurona. (C) corresponde al grupo de ratas viejas tratadas con melatonina y (c) es la dendrita secundaria de la misma neurona (A,B y C 40X; a, b, y c 100X).

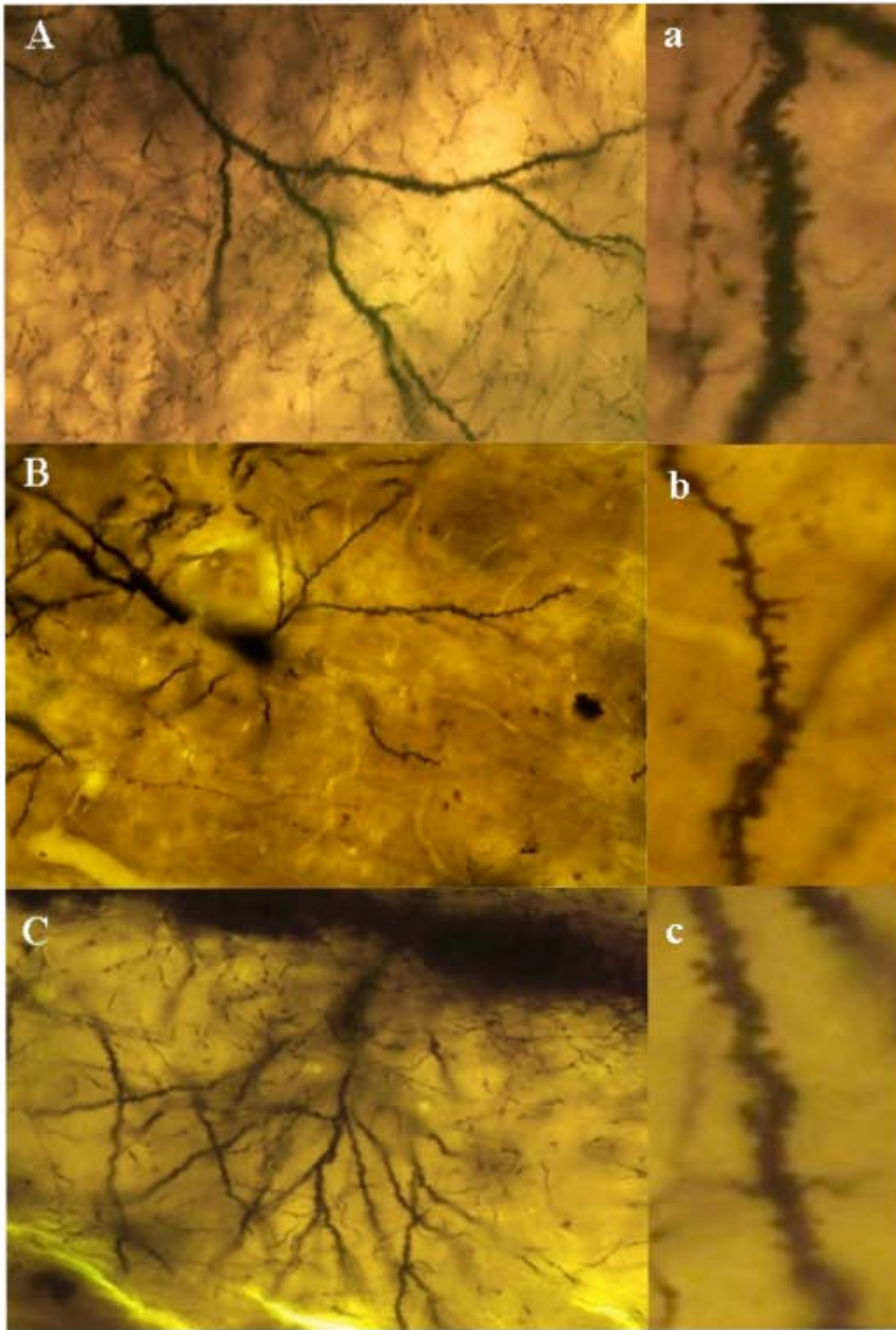


Figura 13. Corte coronal del cerebro de una rata procesado por el método de Golgi, donde se observan neuronas piramidales del área CA1 del hipocampo. (A) corresponde al grupo de ratas jóvenes-control, (a) es la dendrita secundaria de la misma neurona. (B) corresponde al grupo de ratas viejas-control, (b) es dendrita secundaria de la misma neurona. (C) corresponde al grupo de ratas viejas tratadas con melatonina y (c) es la dendrita secundaria de la misma neurona (A,B y C 40X; a, b, y c 100X).

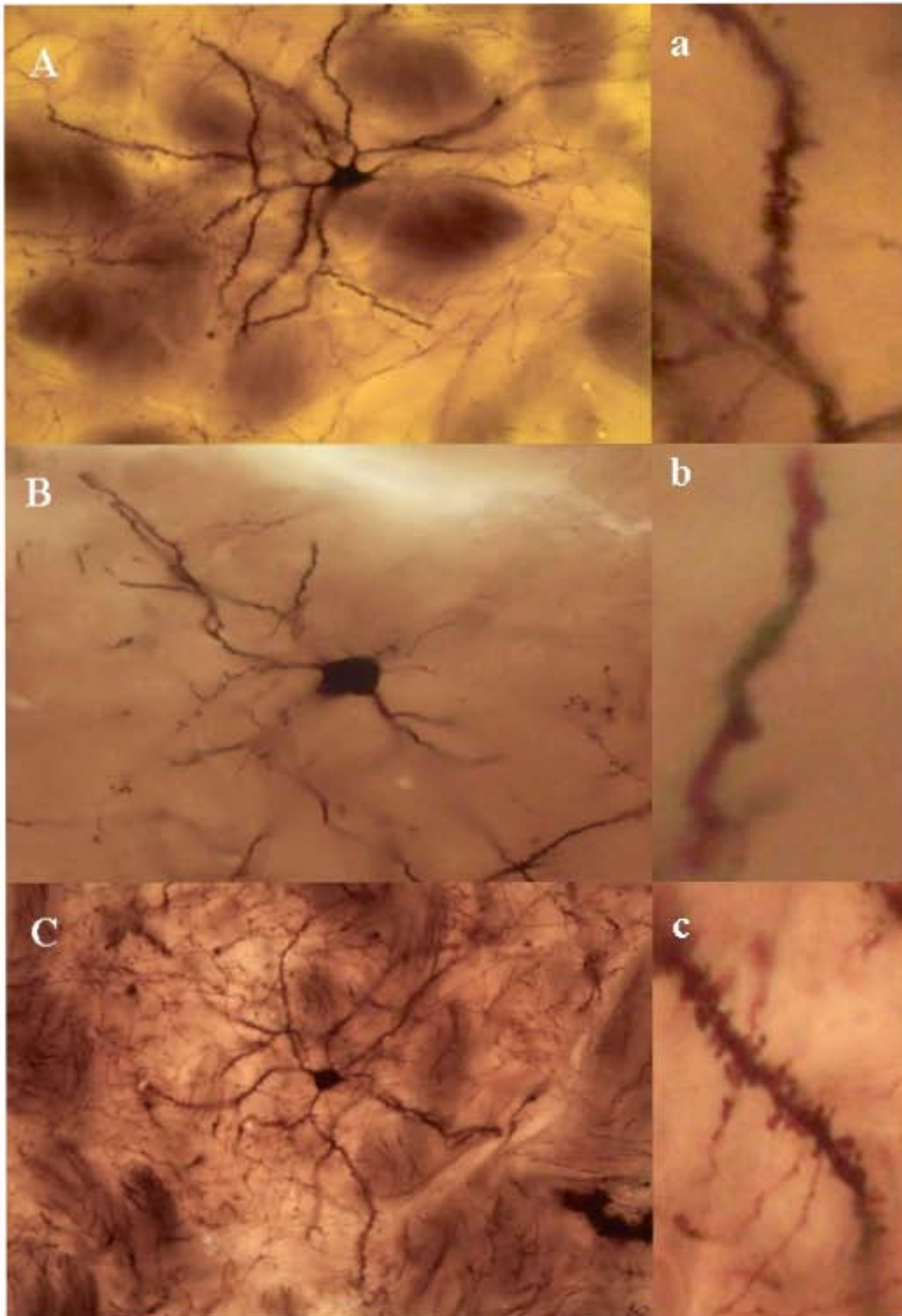


Figura 14. Corte coronal del cerebro de una rata procesado por el método de Golgi, donde se observan neuronas espinosas medianas del estriado. (A) corresponde al grupo de ratas jóvenes-control, (a) es la dendrita secundaria de la misma neurona. (B) corresponde al grupo de ratas viejas-control, (b) es dendrita secundaria de la misma neurona. (C) corresponde al grupo de ratas viejas tratadas con melatonina y (c) es la dendrita secundaria de la misma neurona (A,B y C 40X; a, b, y c 100X).

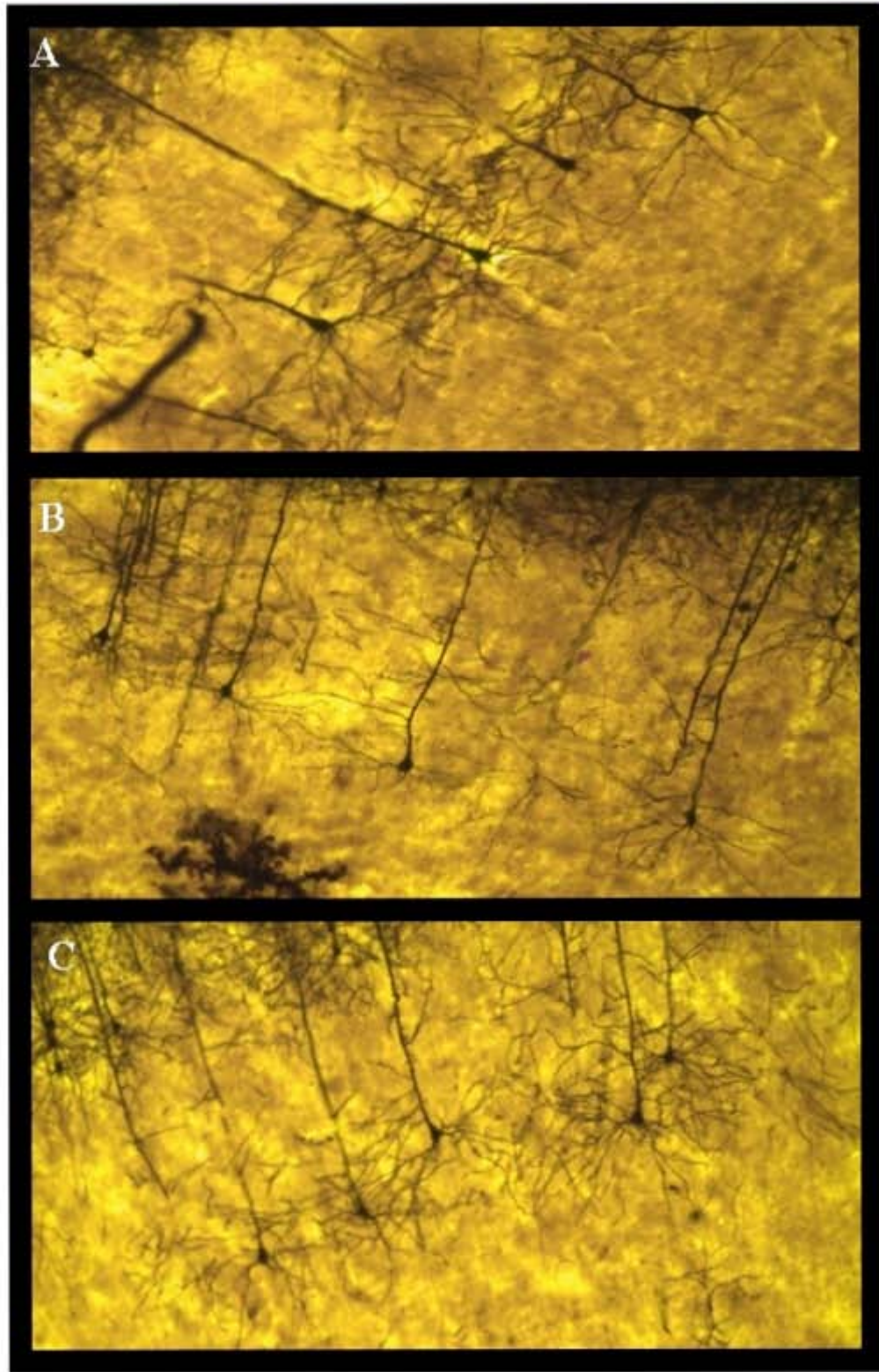


Figura 15. Vista panorámica de un corte coronal del cerebro de una rata procesado por el método de Golgi, donde se observan neuronas piramidales de la capa V de la corteza parietal (área sensorial). A corresponde al grupo de ratas jóvenes-control, B al de viejas-control y C al de viejas-melatonina (10X).

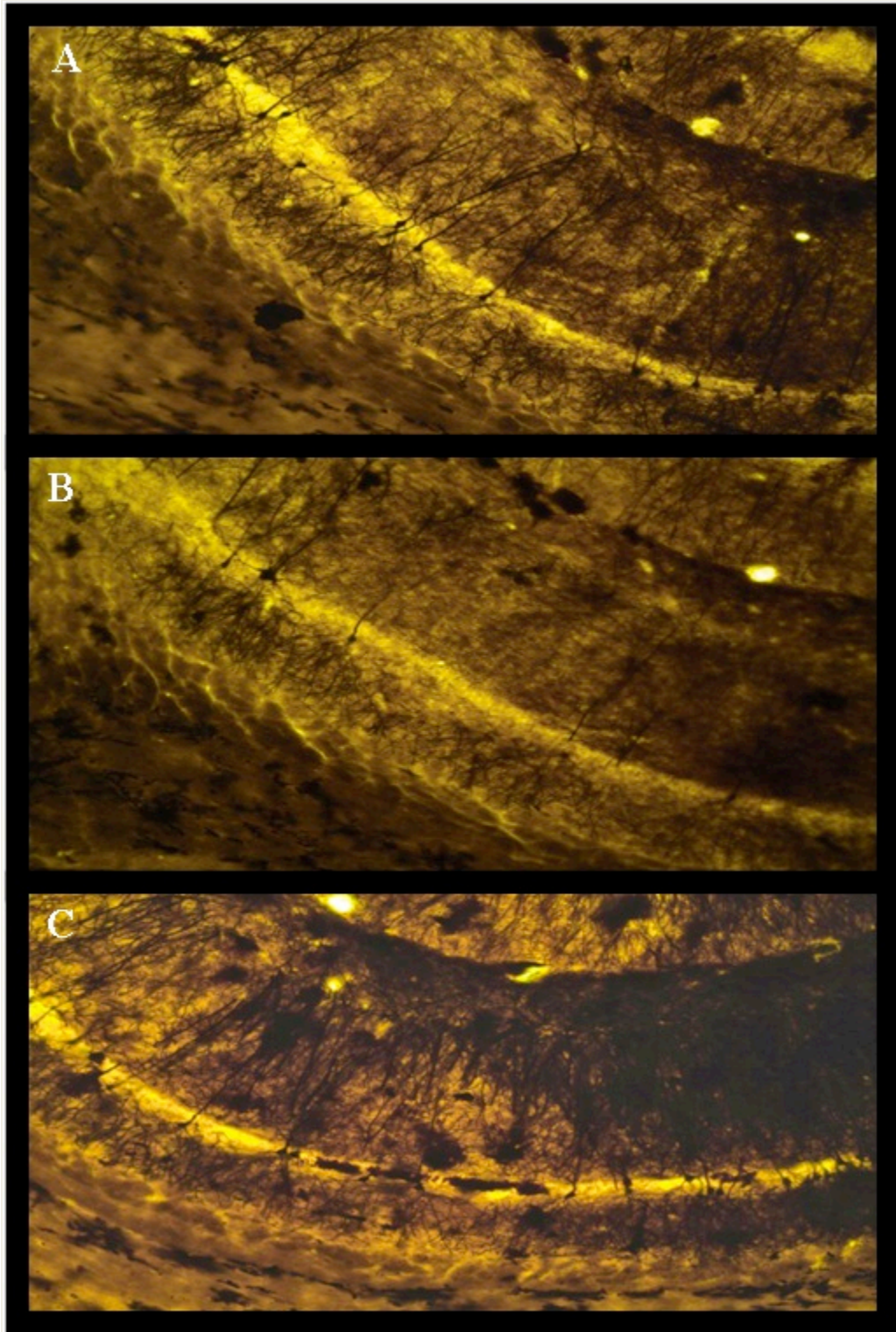
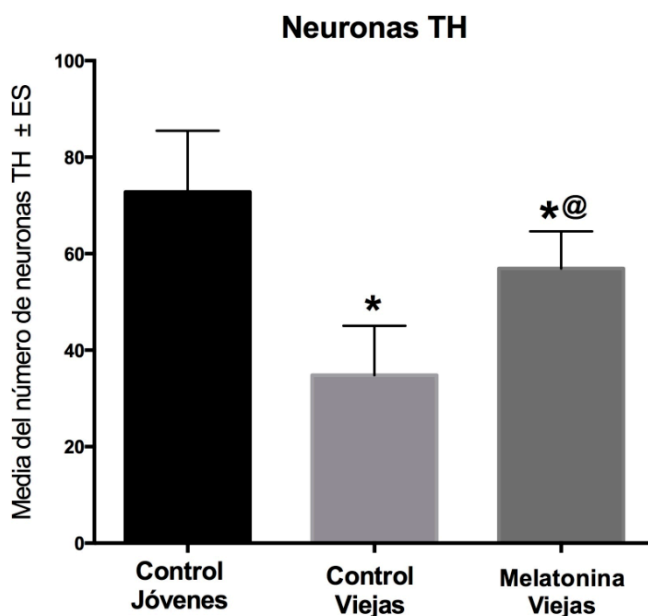


Figura 16. Vista panorámica de un corte coronal del cerebro de una rata procesado por el método de Golgi, donde se observan neuronas piramidales del área CA1 del hipocampo. A corresponde al grupo de ratas jóvenes-control, B al de viejas-control y C al de viejas-melatonina (10X).

*Citología: Inmunocitoquímica anti-TH*

La Gráfica 3 muestra el número promedio de neuronas inmunopositivas para TH en la SNc de los tres grupos, mostrando diferencias significativas en el número de neuronas dopaminérgicas conservadas del grupo de ratas viejas-melatonina en comparación con el viejas-control. Esta estructura es sumamente vulnerable al envejecimiento ya que se pierde casi el 50% de la población total de neuronas dopaminérgicas, resultado observado en la comparación del grupo jóvenes-controles y viejas-control ( $X= 72.77 \pm 1.91$  jóvenes-control y  $34.83 \pm 1.61$  viejas-control), la administración de melatonina en el envejecimiento previene la muerte tan pronunciada de estas neuronas, mostrando resultados no muy alejados a los del grupo jóvenes-control ( $X= 56.95 \pm 1.21$  viejas-melatonina y  $72.77 \pm 1.91$  jóvenes-control) pero significativamente diferentes (Figura 17).



Gráfica 3. Media del número de Neuronas inmunoreactivas a TH en la SNc, de los grupos de viejas-control, viejas-melatonina y jóvenes-control. \*=  $P < 0.05$  grupo de ratas viejas-control y viejas-melatonina con respecto al grupo jóvenes-control. @ =  $P < 0.05$  del grupo viejas-melatonina con respecto al viejas-control.



Figura 17. Corte coronal del cerebro de rata a nivel del mesencéfalo procesado por el método de Inmunnocitoquímica anti-TH, donde se marcan las neuronas dopaminérgicas de la SNc. La imagen A corresponde al grupo de jóvenes-control, B al de viejas-control y C al de viejas-melatoninal (4X).

## 9. DISCUSIÓN

*Prueba de Viga de Equilibrio.* Con la experiencia se reduce el tiempo de desplazamiento (Allbutt y Henderson, 2007), lo cual puede explicar la disminución del tiempo en el que las ratas recorrieron la viga de la evaluación 0 a la 7, ya que este aspecto se observó en los grupos de ratas viejas con y sin tratamiento.

Es posible comparar los presentes resultados con modelos experimentales, por ejemplo de la EP. Avila-Costa (1996) ha reportado que las alteraciones inducidas por la neurotoxina selectiva 6-OHDA en animales jóvenes son muy similares a los cambios neurodegenerativos causados por la degeneración natural del SNC durante el envejecimiento. Por ello en este apartado compararemos nuestros resultados con los obtenidos en animales viejos, pero también compararemos con modelos de enfermedades neurodegenerativas.

Una de las principales características del envejecimiento es el deterioro de la actividad motora en cuanto a rapidez y precisión (Mortimer, 1988; Strong, 1988), los modelos y pacientes con la EP presentan síntomas motores aunque en mayor medida que en el envejecimiento.

Los resultados que encontramos en el grupo de ratas viejas-control son similares a los reportados por Gutiérrez (2007) y García (2008) en un modelo de la EP, donde las ratas lesionadas aumentan el tiempo en recorrer la viga conforme pasan los días después de la lesión. Esto puede deberse a la pérdida progresiva de las neuronas involucradas en el movimiento como las dopaminérgicas de la SNc, pérdida observada durante el envejecimiento en humanos (Cruz-Sanchez *et.al.*, 1995) y ratas (Crocker, 1997) y confirmada en nuestro estudio (Gráfica 3) (figura 17). Por otra parte el decremento de la síntesis de DA durante el envejecimiento en la vía nigro-estriada está implicada con los disturbios motores (Keyser, 2004; Mora, 2008; Collier, 2011), animales lesionados unilateralmente en la vía nigro-estriada, presentan dificultad al ejecutar movimientos finos, mostrando un desempeño con lentitud (Whishaw *et al.*, 1997). Lo cual podría estar afectando el tiempo en que el grupo de ratas viejas-control recorrían la viga, siendo la DA fundamental para la generación y control del movimiento, entre otras funciones.

Posterior a los siete días de tratamiento, el grupo de ratas tratadas con melatonina comenzó a disminuir el tiempo de recorrido de la viga (Gráfica 1), concordando con los resultados



encontrados en nuestro laboratorio, donde en un modelo de la EP las ratas lesionadas con 6-OHDA y tratadas con melatonina disminuyen el tiempo de recorrido de la viga mostrando diferencias significativas en comparación con el grupo lesionado (Gutiérrez, 2007; Mayoral, 2008; García, 2008; Torres, 2012).

El tratamiento con melatonina pudo haber beneficiado la rapidez con la cual la rata recorrió la viga al conservar las neuronas involucradas con el movimiento, por ejemplo las neuronas dopaminérgicas de la SNc (Avila-Costa *et al.*, 2007a) (Gráfica 3) (Figura 17). La dopamina modula la liberación de glutamato en el circuito corticoestriatal (Mora, 2008), de esta manera la conservación de las neuronas dopaminérgicas en la SNc pudo haber mantenido el funcionamiento de las neuronas piramidales de la corteza motora (Donzati, 1993), modulando la entrada excitatoria al estriado y por ende la salida inhibitoria de este núcleo a la vía directa e indirecta para producir el movimiento (Donzati, 1993; Emerich *et al.*, 1993; Rogers, 1988). Así, la conservación de las neuronas dopaminérgicas pudo beneficiar la interacción recíproca del glutamato y del GABA (Mora, 2008).

Se ha mencionado que los circuitos corteza-GB están relacionados con la planeación y ejecución del movimiento, entre otras funciones. Para llevar a cabo un acto motor efectivo es necesaria la integridad morfológica y neuroquímica de este circuito (Paxinos, 2004).

*Citología: Inmunocitoquímica anti-TH y Método de Golgi.* Para discutir de una manera más eficaz los resultados encontrados en la citología, es importante observar las estructuras como un circuito integrado, en donde el beneficio o daño a cualquiera de éstas, también afecta a la estructura que proyecta. Las estructuras analizadas fueron: las espinas dendríticas de neuronas piramidales de la capa V de la corteza cerebral (motora y sensorial del lóbulo frontal y parietal), neuronas piramidales del área CA1 del hipocampo, NEM del cuerpo estriado y neuronas dopaminérgicas de la SNc.

*Corteza Cerebral.* La mayor entrada en el sistema de los GB proviene de las neuronas piramidales de la capa V de la corteza, principalmente del área motora, sin embargo también hay eferencias de la corteza sensorial, las cuales proyectan al estriado (Jacobson y Trojanowki, 1975; Braak, 1980; Alexander y DeLong, 1985; Shepherd, 1998; Paxinos 2004).

Anteriormente ya se ha reportado que las neuronas piramidales profundas de la corteza son muy vulnerables al proceso de envejecimiento (Moore *et al.*, 2005, 2006; entre muchos otros), lo cual puede ser otro factor asociado al déficit motor (Moore *et al.*, 2006).

La pérdida de espinas dendríticas que encontramos en el grupo de ratas viejas-control (Gráficas 2A y 2B) (Figuras 12B y 15B) puede estar asociada a diversos aspectos, entre ellos la modificación de la estructura presináptica y postsináptica, la disminución de la cantidad de mitocondrias y de vesículas sinápticas (Adams y Jones, 1982), la desregulación de la homeostasis del  $Ca^{2+}$  (Khachaturian, 1994; Mattson, 2007; Celsi *et al.*, 2009; Toescu y Vreugdenhil, 2010; Nikolettou y Tavernarakis, 2012), entre otros aspectos inherentes al proceso de envejecimiento.

Se ha considerado que la pérdida de espinas en las neuronas piramidales durante el envejecimiento se encuentra asociada con el decremento de la respuesta sináptica excitatoria (Morrison y Baxter, 2012). Estudios de microscopía electrónica en primates no humanos han reportado que el número de sinapsis excitatorias se reduce en el área 46 (Peters, 1998; Peters *et al.*, 1998b; Peters *et al.*, 2008), la cantidad de receptores glutamatérgicos (Luebke *et al.*, 2004) y la síntesis de glutamato disminuyen (Dickstein, 2012). Los cambios morfológicos de las espinas implican alteraciones en la transmisión sináptica glutamatérgica y en la plasticidad cerebral (Dumitriu *et al.*, 2010; Hara *et al.*, 2012). Por ello se considera que las espinas dendríticas de las neuronas piramidales profundas se pierden, debido al decremento de la síntesis de glutamato en el envejecimiento (Peters, 2008).

Otro aspecto que puede estar relacionado con la pérdida de las espinas dendríticas en el envejecimiento es la homeostasis del  $Ca^{2+}$ , pues al ser la corteza una estructura excitatoria depende de éste para su despolarización.

La medicación con melatonina, al remover el estrés oxidativo producido en la respiración mitocondrial principalmente, impedir la peroxidación de lípidos, regular la entrada de  $Ca^{2+}$  y estimular el sistema de enzimas antioxidantes, puede estar influyendo en la conservación de las espinas dendríticas (Gráficas 2A y 2B) (Figuras 12C y 15C). Se ha considerado que las espinas son compuertas que regulan la entrada de  $Ca^{2+}$  a la célula, aspecto que les da mayor

vulnerabilidad al daño por excitotoxicidad y podría ser prevenido o retardado con la medicación de melatonina u otro antioxidante. Por ejemplo Avila-Costa (2000) en un modelo de estrés oxidativo inducido con ozono encontró que la administración de un antioxidante (taurina) previene la pérdida de espinas dendríticas en la corteza frontal.

*Hipocampo.* Esta estructura es fundamental en la consolidación de la memoria, muestra pérdida de neuronas en CA1 durante el envejecimiento (Bartsch *et al.*, 2010; La Joie *et al.*, 2010) (Gráficas 2C) (Figuras 13 A y B, y 16 A y B) y se ha relacionado con la adquisición de la memoria espacial (Morgan *et al.*, 1986; Deupree *et al.*, 1993; West *et al.*, 1994; Colombo y Gallambo, 2002; Bartsch *et al.*, 2010) y episódica (Fouquet *et al.*, 2012).

El daño en CA1 predice el deterioro cognitivo futuro en personas sanas y en pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) (Apostolova *et al.*, 2010). Se ha sugerido la relación de CA1 con la memoria de corto plazo (Eldridge *et al.*, 2005). En el presente trabajo no fue posible evaluar la memoria, sin embargo la conducta motora fina evaluada mediante la prueba de viga, también puede estar influenciada por la preservación de espinas dendríticas en CA1, porque como ya se ha mencionado, el hipocampo proyecta al estriado y recibe inervación dopaminérgica de la SNc, de esta manera la melatonina pudo probablemente modular el nivel de excitación en el estriado al preservar las espinas del hipocampo, ya que establecen colaterales. Por otro lado, la prueba de viga aunque evalúa el movimiento fino, requiere del aprendizaje o memoria de largo plazo, pues la rata aprendió a recorrer la viga para llegar a su casa habitación. Se ha encontrado que la melatonina está implicada en la memoria, por ejemplo, en ratones que carecen del receptor MT<sub>2</sub> (Larson *et al.*, 2006) y MT<sub>1</sub> (Weil *et al.*, 2006), se ve afectada la memoria de largo plazo y muestran déficit sensoriomotor así como comportamiento depresivo evaluado mediante la prueba de nado forzado. En este último estudio, la deficiencia de melatonina se encuentra relacionada con mayores tiempos de inmovilidad. Ratones pinealectomizados muestran pérdida de neuronas piramidales en CA1 y CA3, y el tratamiento con melatonina conserva mayor número de neuronas piramidales (Butte y Pappas, 2007). En ratas envejecidas se ha encontrado daño inducido por la  $\beta$ -amiloide en las neuronas del hipocampo y este efecto es disminuido con la administración de melatonina, disminuyendo el daño mitocondrial (Dong *et al.*, 2010). En un modelo de isquemia cerebral el tratamiento con melatonina aumenta la densidad de

espinas dendríticas y reduce la muerte de neuronas piramidales del hipocampo (González *et al.*, 2007).

En nuestros resultados también mostramos que el tratamiento con melatonina conservan las espinas dendríticas en el área CA1 (Gráfica 2C) (Figuras 13C y 16C). Las referencias citadas y nuestros resultados nos permiten pensar que, el hipocampo al ser una estructura excitatoria y en constante trabajo durante la vida del organismo, requiere de mayores concentraciones de antioxidantes para reparar los posibles daños producidos por su intensa actividad. Por ello la administración de melatonina conserva más espinas dendríticas en el hipocampo en comparación con otras estructuras, resultados que concuerdan con los documentados por Avila-Costa (2000), quien también encuentra mayor conservación de espinas dendríticas en el hipocampo en comparación con otras estructuras como la corteza, en el grupo de ratas tratadas con un antioxidante.

Distintos estudios ya han considerado la posibilidad de utilizar la melatonina como un neuroprotector eficaz que puede complementar la terapia farmacológica en los pacientes con EA (Cardinali *et al.*, 2011), EP (Cardinali *et al.*, 2008) y en personas de edad avanzada (Cardinali *et al.*, 2011).

*Estriado.* Es la principal entrada a los GB (Wilson, 2004; Durieux *et al.*, 2011), parten varios circuitos como el motor (vía directa e indirecta) (Alexander y Crutcher, 1990; Smith *et al.*, 1998), y la vía nigro-estriatal fundamental en el presente trabajo (González y Rodríguez, 2000). El envejecimiento está acompañado de disminución significativa en la función presináptica en el estriado; característica asociada con trastornos motores y cognitivos (Wang, 2008). En nuestro estudio, la preservación de espinas dendríticas en las NEM se pudo deber a distintas razones (Gráfica 2D) (Figura 14). Por un lado el beneficio que pudo haber ejercido el efecto neuroprotector y antioxidante de la melatonina en la corteza y el hipocampo, probablemente moduló la entrada de glutamato al estriado, y por ende la salida inhibitoria del estriado al circuito motor, lo cual no sólo se vió reflejado en la preservación de espinas dendríticas de las NEM, también en el tiempo en que las ratas tardaron en el recorrido de la viga.

Otra situación que pudo haber preservado las espinas dendríticas en este núcleo fue la conservación de las neuronas dopaminérgicas de la SNc, las cuales proyectan DA al estriado funcionando principalmente como neuromodulador (Haber *et al.*, 2000; Voorn *et al.*, 2004). Mora (2008) ha reportado que la dopamina de la SNc modula los niveles de glutamato en la vía corticoestriatal, influyendo directamente en la respuesta inhibitoria de las NEM y en la actividad motora.

Nuestros resultados concuerdan con los encontrados por Gutiérrez (2007), donde la administración de melatonina previene la pérdida de espinas dendríticas en las NEM en un modelo de la EP, y mejora el desempeño motor en la viga de equilibrio aunado a la preservación de mayor número de neuronas dopaminérgicas en la SNc (Gutiérrez, 2007; Mayoral, 2008; García, 2008; Torres, 2012) (Figura 14C). Por ello al principio de la discusión se pidió al lector comprender la interpretación de los resultados en base a circuitos, en donde el beneficio o daño a uno, repercute globalmente y se refleja en la conducta.

*Sustancia Nigra Compacta.* Se ha encontrado que los axones de la SNc envían DA a distintos sitios de los GB (Dray *et al.*, 1978; Romansky *et al.*, 1979; Lindvall y Björklund, 1979; Meibach y Katzman, 1979; Meibach y Katzman, 1979; Carpenter, 1981; Campbell *et al.*, 1985; Scheel-Kruger, 1986; Aceves *et al.*, 1992; Prensa y Parent, 2001; Freeman *et al.*, 2001; entre otros), en el presente estudio fue de nuestro interés la inervación al estriado (Fallon y Loughlin, 1995) y a la corteza cerebral (Debeir *et al.*, 2005).

Se ha reportado que la pérdida de neuronas dopaminérgicas de la SNc a lo largo de la vida asciende al 30-40% y se asocia con la disminución de la función motora en las personas adultas (Rudow *et al.*, 2008; Rollo, 2009). También se ha encontrado decremento de neuronas dopaminérgicas en ratas (Szabo, 1980) lo cual ha sido asociado al deterioro de las funciones cognitivas en animales de edad avanzada (Gao *et al.*, 2011). Los pacientes con EP presentan degeneración progresiva de las neuronas dopaminérgicas de la SNc (Villar-Ched *et al.*, 2012). En nuestro laboratorio, se ha documentado que la pérdida de las neuronas dopaminérgicas está relacionada con el tiempo en el cual las ratas realizan el recorrido de la viga (Gutiérrez, 2007; Mayoral, 2008; García, 2008; Torres, 2012).

Posiblemente por ello el grupo de ratas viejas-control tardó más tiempo en el recorrido de la viga que el tratado con melatonina, pues las neuronas de la SNc son muy vulnerables al proceso de envejecimiento; aspecto comprobado en nuestros resultados al comparar los grupos de ratas control jóvenes y viejas (Gráfica 1) (Figura 17).

En nuestros resultados, la conservación de las neuronas dopaminérgicas se puede asociar al efecto neuroprotector de la melatonina y a su capacidad como barredor de radicales libres (Figura 17C). Esta preservación, permitió que las neuronas de la SNc continuaran enviando DA al estriado y a la corteza, entre otras estructuras del cerebro, fungiendo como un neuromodulador en las NEM e interneuronas colinérgicas (Surmeier, 2006) y en las neuronas piramidales de la corteza (Mora, 2008), beneficiando en conjunto con las otras estructuras la vía motora y por ende el desempeño en la viga de equilibrio.

Una característica durante el envejecimiento es el decremento en la síntesis de DA, lo cual hace más vulnerables a las neuronas dopaminérgicas (Peters *et al.*, 2008). En nuestros resultados la pérdida de estas neuronas ascendió a más del 50% (Figura 17 A y B) y el tratamiento con melatonina disminuye la pérdida de estas neuronas, o probablemente la retarda, esto puede deberse a que su efecto neuroprotector preserva su morfología, funcionamiento y por ende su sobrevivencia, beneficiando las estructuras a las cuales proyecta.

Por otra parte, también se ha reportado que la homeostasis del  $Ca^{2+}$  es un proceso implicado en los daños producidos durante el envejecimiento. La entrada masiva de  $Ca^{2+}$  a la mitocondria produce su despolarización crónica y la muerte celular por excitotoxicidad (Satrústegui *et al.*, 1993; Toescu, 2007). La melatonina tiene un efecto antiexcitatorio al modular los receptores de glutamato (Hardeland, 2008), si regula la entrada de  $Ca^{2+}$  a través de los receptores de NMDA puede estar previniendo la despolarización de la membrana mitocondrial y por ende la acumulación de daño oxidativo que se produce en el proceso de envejecimiento.

Teniendo en cuenta que las espinas dendríticas son sensibles a una gran variedad de condiciones patológicas causadas por estrés oxidativo (Ingham *et al.*, 1997, Avila-Costa, 2000), la medicación con melatonina puede estar preservando las espinas al modular el

nivel de  $\text{Ca}^2$  que entra, ya que las espinas son compartimentos independientes de  $\text{Ca}^2$  y contienen gran cantidad de mitocondrias.

Otra manera en la cual el tratamiento con melatonina puede estar preservando las espinas dendríticas y las neuronas dopaminérgicas es mediante su propiedad como barredor de radicales libres (Tan *et al.*, 2003), disminuyendo los niveles de peroxidación de lípidos en el estriado y la corteza (Mogulkoc *et al.*, 2006; Gutiérrez, 2007; Gonca, 2008) al neutralizar los radicales libres como el  $\text{OH}\cdot$  y el  $\text{O}_2\cdot^-$  (Chávez, 2002; Galano *et al.*, 2011). Se ha considerado que los complejo I y III de la cadena respiratoria mitocondrial, son una fuente importante en la generación de estrés oxidativo durante el envejecimiento (Tuena de Gómez, 2002; Chávez, 2002; Muller *et al.*, 2004; Andreyev y Kushnareva, 2005; Youngmok y Holly, 2009). El tratamiento con melatonina, al reducir la producción de radicales libres, no sólo impide la peroxidación de lípidos, también puede estar beneficiando la respiración mitocondrial y por ende los procesos metabólicos de la célula.

Otra ruta por la cual la administración de melatonina puede conservar las estructuras celulares es por su propiedad como antioxidante indirecto (Reiter *et al.*, 2000c; Rodriguez *et al.*, 2004), al estimular la síntesis de la SOD, GPx, GRD y GSH (Urata *et al.*, 1999, Rodriguez *et al.*, 2004; Galano *et al.*, 2011; entre otros). La administración de melatonina en ratas envejecidas aumenta las concentraciones cerebrales de estas enzimas (Öztürk *et al.*, 2012) lo cual podría impedir la formación de radicales libres en los complejos I y III de la cadena respiratoria, ya que estas enzimas se encuentran en la mitocondria (Acuña-Castroviejo *et al.*, 2007) entre otros compartimentos subcelulares. Así la eliminación del  $\text{O}_2\cdot^-$  por la SOD (Halliwell y Gutteridge, 2007), del  $\text{H}_2\text{O}_2$  y el  $\text{OH}\cdot$  por la GPx (Chance *et al.*, 1979; Reiter, 1998; Jackson *et al.*, 2002; Leon *et al.*, 2004), podría proteger la cadena de transporte de electrones mitocondrial, el ADNmt, e impedir la acumulación de daño oxidativo (Acuña *et al.*, 2011) y la muerte celular.

Con la discusión básicamente intentamos poder dilucidar el efecto que probablemente tuvo la melatonina en el circuito cortico-GB, nigro-estriatal y el circuito límbico del estriado, cuyas proyecciones provienen del hipocampo entre otras áreas. La administración de melatonina pudo actuar como neuroprotector, barredor de radicales libres, estimulador del sistema antioxidante y modulador de la concentración de  $\text{Ca}^2$ , permitiendo la conservación de estructuras como las espinas dendríticas en la corteza, el estriado y el hipocampo, y las

neuronas dopaminérgicas de la SNc, facilitando el funcionamiento adecuado de los circuitos en las ratas envejecidas y beneficiando el desempeño motor. La melatonina tiene la mayoría de las características deseables de un buen antioxidante, porque: 1) se distribuye ampliamente en el organismo y está presente en concentraciones adecuadas, 2) es un antioxidante de amplio espectro, 3) se transporta fácilmente a través de las membranas celulares; 4) se puede regenerar después de inactivar radicales y las propiedades antioxidantes de sus metabolitos permanecen; 5) tiene una toxicidad mínima (Galano *et al.*, 2011).



## **10. CONCLUSIÓN**

El tratamiento con melatonina preserva las espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la capa V del área motora y sensorial de la corteza frontal y parietal, del área CA1 del hipocampo y de las NEM del estriado; previene la muerte de las neuronas dopaminérgicas de la SNc y beneficia el desempeño de la actividad motora fina evaluada mediante la prueba de viga en ratas viejas (24 meses). Estos resultados nos permiten aceptar nuestra hipótesis experimental y descartar la hipótesis nula.

La melatonina puede ser utilizada durante el envejecimiento, es capaz de preservar neuronas involucradas en funciones motoras y cognitivas, aspecto que estaría beneficiando la calidad de vida de los adultos mayores.

Es recomendable que en estudios posteriores se evalúe la función cognitiva, como la memoria, ya que la mayoría de las evidencias analizan la función cognitiva o la motora, pero no las dos conjuntas, y la corteza frontal por ejemplo, no sólo se encarga de funciones cognitivas como la solución de problemas, también del movimiento voluntario.

## BIBLIOGRAFÍA

Abraham W, Mason-Parker S, Irvine G, Logan B, Gill A (2006). Induction and activity-dependent reversal of persistent LTP and LTD in lateral perforant path synapses in vivo. *Neurobiol. of Learning and Memory*; 86: 82–90.

Aceves J, Floran B, Martínez-Fong G, Benítez J, Sierra A, Flores G (1992). Activation of D1 receptors stimulates accumulations of gamma-aminobutyric acid in slice of the part reticulata of 6-OHDA lesioned rats. *Neurosci. Lett*; 145: 40-42.

Acuña-Castroviejo D, Escames G, Rodriguez M, Lopez L (2007). Melatonin role in the mitochondrial function. *Front. Biosci*; 12: 947–963.

Acuña-Castroviejo D, López L, Escames G, López A, García J, Reiter R (2011). Melatonin-mitochondria interplay in health and disease. *Curr. Top. Med. Chem*; 11: 221-240.

Adams I y Jones D (1982). Quantitative ultrastructural changes in rat cortical synapses during early, mid and late adulthood. *Brain Research*.349-363.

Adi N, Mash D, Ali Y, Singer C, Shehadeh L, and Papapetropoulos S (2010). “Melatonin MT1 and MT2 receptor expression in Parkinson’s disease,” *Med. Sci*; 16: 61–67.

Alabarse P, Hackenhaar F, Medeiros T, Mendes M, Viacava P, Schüller A, Salomon T, Ehrenbrink G, Benfato M (2011). Oxidative stress in the brain of reproductive male rats during aging. *Exp. Gerontol*; 46: 241–248.

Alexander G y DeLong M (1985). Microstimulation of the primate neostriatum. I. Physiological properties of striatal microexcitable zones. *J. Neurophysiol*; 53: 1401–1416.

Alexander G y Crutcher M (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: neuronal substrates of parallel processing. *TINS*; 12: 366-375.

Allbutt N y Henderson M (2007). Use of the narrow-beam test in the rat, 6-hydroxydopamine model of the Parkinson’s disease. *J. of Neurosci. Methods*; 159: 195-202.

Alger B y Nicoll R (1982). Free-forward dendritic inhibition in rat hippocampal pyramidal cells studied in vitro. *J. Physiol*; 328: 105-123.

Amodio D y Christ D (2006). Meeting of minds: the medial frontal cortex and social cognition. *Nature Rev. Neurosci*; 7: 268-277.

Anaya M, Gutiérrez V y Avila-Costa (2012). Cambios citológicos inducidos por tratamientos dopaminérgicos. Editorial Académica Española. Academic Publishing GmbH & Co. KG, Germany. ISBN: 978-3-659-01774-2.

Anderson J, Hubbard B, Coghill G, Slidders W (1983). Neuropsychological changes and healthy adults across the age range. *Neurobiol. Aging*; 14: 623-625.

Andreyev A y Kushnareva Y (2005). Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry*; 70: 200–214.

Ángeles M, Becerril C, Cervantes G, Granados A, Salgado R, Escobar C (2011). Envejecimiento de un reloj (cronobiología de la vejez). *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*: 33-40.

- Ann G (2005). The basal ganglia: learning new tricks and loving it. *Curr Opin Neurobiol*; 15: 638-644.
- Antolin I, Mayo J, Sainz R, del Brillo M, Herrera F, Martin V, Rodríguez C (2002). Protective effect of melatonin in a chronic experimental model of Parkinson's disease. *Brain Res*; 943: 163-173.
- Aosaki T, Kimura M, Graybiel A (1995). Temporal and spatial characteristics of tonically active neurons of the primate's striatum. *J. Neurophysiol*; 73: 1234-52.
- Apicella P, Scarnati E, Schultz W (1991). Tonicly discharging neurons of monkey striatum respond to preparatory and rewarding stimuli. *Exp. Brain Res*; 84: 672-5.
- Apostolova L, Dutton R, Dinov I, Hayashi K, Toga A, Cummings J, Thompson P (2006). Conversion of mild cognitive impairment to Alzheimer disease predicted by hippocampal atrophy maps. *Arch. Neurol*; 63: 693-699.
- Apostolova L, Mosconi L, Thompson P, Green A, Hwang K, Ramirez A, Mistur R, Tsui W, de Leon M (2010). Subregional hippocampal atrophy predicts Alzheimer's dementia in the cognitively normal. *Neurobiol. Aging*; 31: 1077-1088.
- Avila-Costa M (1996). Evolución de las alteraciones ultraestructurales del neuropilo del núcleo caudado de ratas después de la lesión unilateral de la vía nigroestriatal con 6-hidroxidopamina. Tesis para obtener el grado de Maestría en Neurociencias. FESI-UNAM.
- Avila-Costa M (2000). Efecto de la taurina en el sistema nervioso de la rata expuesta a un modelo de estrés oxidativo producido por ozono: análisis morfológico-bioquímico y su relación con la conducta. Tesis para obtener el grado de doctor en ciencias. FESI-UNAM.
- Avila-Costa M, Anaya M, Ordoñez J, Gutiérrez A, Montiel F, Colín-Barenque L, Aley-Medina P, Espinosa-Villanueva J, Reynoso-Eraza L y Fortoul T (2007a). Synaptic Alteration of the Striatum: Two different Models of Dopamine deafferentation. *Neural Synapse Research Trends*. Nova Science Publishers: 310.
- Barnes C (1979). Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J. of Psychology*; 93: 74-104.
- Bartsch T, Schönfeld R, Müller F (2010). Focal Lesions of Human Hippocampal CA1 Neurons in Transient Global Amnesia Impair Place Memory. *Science*; 328: 1412-1415.
- Beckman K y Ames B (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiol. Review*; 78: 547-581.
- Beltrán V, Padilla G, Palma L, Aguilar V (2011). Bases neurobiológicas del envejecimiento neuronal. Instituto de neurobiología (INB) UNAM: 2-11.
- Benítez G (2008). La melatonina, un potente antioxidante, el recurso protector que todos llevamos dentro. *Melatonina: Un destello de vida en la oscuridad*. Fondo de Cultura económica; Cap. 3: 59-81.
- Benítez-King G (2006). Melatonin as a cytoskeletal modulator: implications for cell physiology and disease. *J. of Pineal Review*; 40: 1-9.
- Biswas S (1991). *Lo esencial en sistema musculoesquelético*. Madrid: Harcourt Brace.
- Bliss T y Collingridge G (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*; 361: 31-39.
- Bolam J, Somogyi P, Takagi H, Todor I, Smith A (1984). Localization of substance P-like immunoreactivity in neurons and nerve terminals in the neostriatum of the rat: correlated light and electron microscopic study. *J. of Neurocytology*; 12: 325-344.

- Bolam J, Hanley J, Booth P, Bevan M (2000). Synaptic organization of the basal ganglia. *J. of Anatomy*; 196: 527-542.
- Boveris A y Chance B (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochemical. Free Radical. Biol. and Medic*; 134: 707–716.
- Bowling A y Beal M (1995). Bioenergetic and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Life Science*; 56: 1151–1171.
- Brand M, Affourtit C, Esteves T, Green K, Lambert A, Miwa S, Pakay J, Parker N (2004). Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radical. Biol. and Medic*; 37: 755–767.
- Braak H (1980). *Architectonics of the Human Telencephalic Cortex*. Berlin: Springer-Verlag.
- Braak H, Alafuzoff I, Arzberger T, Kretschmar H, Del Tredici K (2006). Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol*; 112: 389–404.
- Brody H (1955). Organization of the cerebral cortex. III. A study of aging in the human cerebral cortex. *J. Comp. Neurol*; 1023: 511-556.
- Brody H (1970). Structural changes in the aging nervous system. *Interdisc Top Gerontol*; 7: 9-21.
- Brown M (1991). Effects of low intensity exercise program on selected physical performance characteristics of 60- to 71-years olds. *Aging*: 129–139.
- Brunner P, Sözer-Topcular N, Jockers R (2006). Pineal and cortical melatonin receptors MT1 and MT2 are decreased in Alzheimer's disease. *Europ. J. of Histochemistry*; 50: 311–316.
- Bubenik G (2002). Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance. *Dig Dis Sci*; 47: 2336-48.
- Butte M y Pappas B (2007). Pinealectomy causes hippocampal CA1 y CA3 cell loss: Reversal by melatonin supplementation. *Neurobiol. Og Aging*; 28: 306-313.
- Calabrese V, Betes T, Stella A (2000). NO synthase and NO-dependent signal pathways in brain aging and neurodegenerative disorders: the rol of oxidant/antioxidant balance. *Neurochem. Res*; 25: 1315-1341.
- Campbell G, Eckardt M, Weight F (1985). Dopaminergic mechanisms in subthalamic nucleus of rat: analysis using HP and microintophoresis. *Brain Res*; 333: 261-270.
- Cárabez T, Vázquez M (C) (2002). Ultraestructura mitocondrial. Centro de neurobiología UNAM. En: *Mitocondria una mirada a la evolución de los conceptos básicos y modernos*. Ed. Prado: 21-47.
- Cardinali D y Freire F (1975). Melatonin effects on brain. Interaction with microtubule protein, inhibition of fast axoplasmic flow and induction of crystalloid and tubular formations in the hypothalamus. *Mol Cell Endocrinol*; 2: 317–330.
- Cardinali D, Esquifino A, Srinivasan V, Pandi-Perumal S (2008). Melatonin and the immune system in aging. *Neuroimmunomodulation*; 15: 272-8.
- Cardinali D, Pagano S, Scacchi A, Bernasconi, Reynoso R, Scacchi P (2011). Melatonin and mitochondrial dysfunction in the central nervous system. *Hormones and Behavior*; 10: 1-9.

- Cardozo-Pelaez F, Brooks P, Stedeford T, Song S, Sanchez-Ramos J (2000). DNA damage, repair, and antioxidant systems in brain regions: a correlative study. *Free Radic. Biol. Med.* 28: 779–785.
- Carlberg C (2000). Gene regulation by melatonin. *Annals of the New York Academy of Sciences*; 917: 387–396.
- Carlson N (2006). Aprendizaje y memoria mecanismos básicos. En: *Fisiología de la conducta*. Cap. 13. Editorial: Pearson.
- Carpenter B y Peter P (1972). Nigrostriatal and nigrothalamic fibers in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol*; 144: 93-115.
- Carpenter B (1981). Anatomy of the corpus striatum and brain stem integrating system. En: Brooks, V. (eds). *Hand book of Physiology: the nervous system, motor control*. American Physiological society, Bethesda, M.D.
- Carpenter M (1991). *Core text of neuroanatomy* 4<sup>th</sup> edition Williams and Wilkins, Baltimore USA.
- Carta M y Bezar E (2011). Contribution of pre-synaptic mechanisms to L-dopa-induced dyskinesia. *Neuroscience*; 198: 245–251.
- Cascales A (1999). Capítulo 1: La toxicidad del oxígeno. Estrés oxidativo. En: *Estrés oxidativo. Envejecimiento y Enfermedad*. Instituto de España: 14-16.
- Ceballos M y Martínez C (2001). Estrés oxidativo: ¿Vía final común de muerte neuronal? *Envejecimiento cerebral y enfermedad*. Triacatela; Cap. 4: 79-93.
- Celsi F, Pizzo P, Brini M, Leo S, Fotino C, Pinton P, Rizzuto R (2009). Mitochondria, calcium and cell death: A deadly triad in neurodegeneration. *Biochimica et Biophysica Acta*; 1787: 335–344.
- Cham R, Perera S, Studenski S, Bohnen N (2007). Striatal dopamine denervation and sensory integration for balance in middle-aged and older adults. *Gait Posture*; 26: 516–525.
- Cham R, Studenski S, Perera S, Bohnen N (2008). Striatal dopaminergic denervation and gait in healthy adults. *Exp. Brain Res.* 185: 391–398.
- Chance B, Sies H, Boveris A (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev*; 59: 527–605.
- Chávez C, Vázquez M (C) (2002). Transporte de metabolitos en mitocondrial. Depto. De Bioquímica. Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. En: *Mitocondria una mirada a la evolución de los conceptos básicos y modernos*. Ed. Prado: 49-63.
- Cheramy A, Leviel V, Glowinski J (1981). Dendritic release of dopamine in the substantia nigra. *Nature*; 289: 537-542.
- Colby C (1977). Space and attention in parietal cortex. *Annual Review of Neurosc*; 22: 319-349.
- Coleman P, Flood D (1987). Neuron number and dendritic extent en normal aging and Alzheimer’s disease. *Neurobiol Aging*; 8: 521- 616.
- Collier T (2011). Ageing as a primary risk factor for Parkinson's disease: evidence from studies of non-human primates. *Nat Rev Neurosci*; 12:359-66.

Colombo P, Gallambo M (2002). Individual differences in spatial memory among aged rats are related to hippocampal PKC  $\gamma$ -immunoreactivity. *Hippocampus*; 12: 285–289.

Colon E (1972). A quantitative analysis of the cerebral cortex in two cases. *Psychiatr Neurol Neurochir*; 75: 261-279.

Crocker A (1997). The regulation of motor control: an evaluation of the role of dopamine receptors in the substantia nigra. *Rev Neurosci*; 8: 55-76.

Cruz-Sanchez F, Cardozo A, Tolosa E (1995). Neuronal changes in the substantia nigra with aging: a Golgi study. *J Neuropathol Exp Neurol*; 54:74–81.

Dahlström A y Fuxe K (1964). Evidence of the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. I: demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. *Acta Physiol Scand*; 62: 1–55.

Dang M, Yokoi F, Yin H, Lovinger D, Wang Y, Li Y (2006). Disrupted motor learning and long-term synaptic plasticity in mice lacking NMDAR1 in the striatum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*; 103: 15254–15259.

Das A, Dikshit M, Nath C (2001). Profile of acetylcholinesterase in brain areas of male and female rats of adult and old age. *Life Sci*; 68: 1545–55.

Dax E, Sugden D (1988). Age-associated changes in pineal adrenergic receptors and melatonin synthesizing enzymes in the Wistar rat. *J. Neurochem*; 50: 468-472.

deBrabander J, Kramers R, Uylings H (1998). Layer-specific dendritic regression of pyramidal cells with ageing in the human prefrontal cortex. *Europ. J. of Neurosci*: 1261-1269.

DeLong M (1973). Putamen: activity of single units during slow and rapid arm movements. *Science*; 179: 1240-42.

DeLong M, Alexander G, Mitchell S, Richardson R (1986). The contribution of basal ganglia to limb control. *Prog Brain Res*; 64: 161-74.

Debeir T, Ginesteta L, Francois C, Laurens S, Martel J, Chopin P, Mariem M, Colpaert F, Raisman-Vozari R (2005). Effect of intrastriatal 6-OHDA lesion on dopaminergic innervation of the rat cortex and globus pallidus. *Experimental Neurology*; 193: 444-454.

DeMuro L, Nafziger N, Blask E, Menhinick M, Bertino S (2000). The absolute Bioavailability of oral melatonin. *J. Clin. Pharmacol*; 40: 781-784.

De Robertis E (2001). *Biología 14° edición*. Buenos Aires: El Ateneo. Poirier, J. Cuadernos de Histología. Madrid: Marbán.

Deupree D, Bradley J, Turner D (1993). Age-related alterations in potentiation in the CA1 region in F344 rats. *Neurobiology of Aging*; 14: 249–258.

Devaney K y Johnson H (1980). Neuron loss in the aging visual cortex of man. *J. Gerontol*; 35: 836-841.

Dickinson D, Forman H (2002). Glutathione in defense and signaling: lessons from a small thiol, *Ann. New York Acad. Sci*; 973: 488–504.

- Dickstein D, Weaver J, Luebke J, Hof P (2012). Dendritic spine changes associated with normal Aging. *Neurosci*; 10: 1-12.
- Dillin A, Hsu A, Arantes-Oliveira N, Lehler-Graiwer J, Hsin H, Fraser A (2002). Rates of behavior and aging specified by mitochondrial function during development. *Science*; 298: 2398-2401.
- Disterhoft J, Moyer J, Thompson L (1994). The Calcium Rationale in Aging and Alzheimer's Disease Evidence from an Animal Model of Normal Aging. Department of Cell and Molecular Biology and the Institute for Neurosciences: 382-406.
- Dong W, Huang F, Fan W, Cheng S, Chen Y, Zhang W, Shi H, He H (2010). Differential effects of melatonin on amyloid-beta peptide 25–35 induced mitochondrial dysfunction in hippocampal neurons at different stages of culture. *J. Pineal Res*; 48: 117–125.
- Donzati D, Hite J y Yamamoto B (1993). Extracellular glutamate levels increase with age in the lateral striatum: potential involvement of presynaptic D-2 receptors. *Synapse*; 4:376-82.
- Douglas R y Martin K (1990). Neocortex. In Shepherd G (ed): *The Synaptic Organization of the Brain*, 3rd ed. New York: Oxford University Press: 389–438.
- Douglas R y Martin K (1998). Neocortex. En: Shepherd, GM (Ed). *The synaptic organization of the brain*. Oxford University Press, N. Y. 459-509.
- Dragicevic N, Copes N, O'Neal-Moffitt G, Jin J, Buzzeo R, Mamcarz M, Tan J, Cao C, Olcese J, Arendash G, Bradshaw P (2011). Melatonin treatment restores mitochondrial function in Alzheimer's mice: a mitochondrial protective role of melatonin membrane receptor signaling. *J. Pineal Res*; 51: 75–86.
- Dray A, Davies J, Oakley N, Vellucci S (1978). The dorsal and medial Raphe projections to the substantianigra in the rat: Electrophysiological, Biochemical and behavioral observation. *Brain Res*; 151: 431-442.
- Dubocovich M y Markowska M (2005). Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine*; 27: 101–110.
- Dubocovich M, Delagrange P, Krause D, Sugden D, Cardinali D, Olcese J (2010). Nomenclature, classification, and pharmacology of G protein-coupled melatonin receptors. *Pharmacol Rev*; 62: 343–380.
- Dumitriu D, Hao J, Hara Y, Kaufmann J, Janssen W, Lou W, Rapp P, Morrison J (2010). Selective changes in thin spine density and morphology in monkey prefrontal cortex correlate with aging related cognitive impairment. *J Neurosci*; 30:7507–7515.
- Duncan J (2000). Common regions of the human frontal lobe recruited by diverse cognitive demands. *Trends in neurosciences*; 23: 475–483.
- Dunlop R, Rodgers K, Dean R (2003). Recent developments in the intracellular degradations of oxidized proteins. *Free Radic Biol Med*; 33: 894-906.
- Durieux P, Schiffmann S, Kerchove d'Exaerde A (2011). Targeting Neuronal Populations of the Striatum. *J. List Front Neuroanat*; 5: 24-37.
- Duvernoy H (1998). *The Human Hippocampus, Functional Anatomy, Vascularization, and Serial Sections with MRI*, 2e ed. Springer, Berlin.

- Egan M, Terry E, Bhaskar S, Joseph H, Chiara M (2001). Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *PNAS*; 98: 6917–6922.
- Eichenbaum H (2001). The hippocampus and declarative memory: cognitive mechanisms and neural codes. *Behav. Brain Res*; 127: 199–207.
- Eldridge L, Engel S, Zeineh M, Bookheimer S, Knowlton B (2005). A dissociation of encoding and retrieval processes in the human hippocampus. *J. Neurosci*; 25, 3280–3286.
- Emerich D, Mcdermott P, Krueger P, Banks M, Zhao J, Marszalkowsky J, Frydel B, Winn S, Sanberg P (1993). Locomotion of aged rats: Relationship to neurochemical but not morphological changes in nigrostriatal dopaminergic neurons. *Brain Res Bull*; 32: 477-486.
- Erden-Inal M, Sunal E, Kanbak G (2002). Age-related changes in the glutathione redox system. *Cell Biochem. Funct*; 20: 61–66.
- Escames G, Lopez A, Garcia J, Garcia L, Acuna-Castroviejo D, Garcia J, Lopez L (2010). The role of mitochondria in brain aging and the effects of melatonin. *Curr. Neuropharmacol*; 8: 182–193.
- Fallon H y Loughlin E (1995). Substantia nigra. In: the rat nervous system. V-1, (ed) G. Paxinos, Academic, Press: 353-374.
- Fearnley J y Lees A (1991). Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain*; 114: 2283–2301.
- Feng Z, Qin C, Chang Y, Zhang J (2006). Early melatonin supplementation alleviates oxidative stress in transgenic mouse model Alzheimer's disease. *Free radic. Biol. Med*; 40: 101-109.
- Ferrari P, Erp A, Tornatzky W, Miczek K (2003). Accumbal dopamine and serotonin in anticipation of the next aggressive episode in rats. *Europ. J. of Neurosc*; 17: 371–378.
- Fetsko L, Xu R, Wang Y (2005). Effects of age and dopamine D2L receptor-deficiency on motor and learning functions. *Neurobiology of Aging*; 26: 521–530.
- Flaherty A y Graybiel A (1993). Output architecture of the primate putamen. *J. Neurosci*; 13: 22–37.
- Flood D (1985). Age-related dendritic growth in dentate gyrus of human brain is followed by regression in the “oldest old”. *Brain Research*; 32: 366-368.
- Fouquet M, Desgranges B, La Joie R, Rivière D, Mangin J, Landeau M, Mézange F, Pélerin A, De La Sayette V, Viader F, Baron J, Eustache F, Chételat G (2012). Role of hippocampal CA1 atrophy in memory encoding deficits in amnesic Mild Cognitive Impairment. *NeuroImage*; 59: 3309–3315.
- Freeman B y Crapo J (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Investigation*; 47: 412-426.
- Freeman A, Ciliax B, Bakay R, Daley J, Miller D, Keating G, Levey A, Rye D (2001). Nigrostriatal collaterals to thalamus degenerate in Parkinsonian animal models. *Ann Neurol*; 50: 321-329.
- Freund T y Buzsaki G (1996). Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus*; 6: 345-470.
- Fuller P, Gooley J, Saper C (2006). Neurobiology of the sleep-wake cycle: sleep architecture, circadian regulation, and regulatory feedback. *J. of Biological Rhythms*; 21: 482–493.



- Galano A, Tan D, Reiter R (2011). Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *J. Pineal Res*; 51: 1–16.
- Gao J, Miao H, Xiao H, Sun Y, Du Y, Yuan H, Yu H, Gao D (2011). Influence of Aging on the Dopaminergic Neurons in the Substantia Nigra Pars Compacta of Rat. *Current Aging Science*: 1-6.
- García R (2008). Efecto de la Melatonina y la L-Dopa en ratas lesionadas con 6-OHDA a diferentes tiempos. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM.
- Geinisman Y (2000). Structural synaptic modifications associated with hippocampal LTP and behavioral learning. *Cereb Cortex*; 10: 952-62.
- Geinisman Y, Berry R, Disterhoft J, Power J, van der Zee E (2001). Associative learning elicits the formation of multiple-synapse boutons. *J. Neurosci*; 21: 5568-5573.
- Gemma C, Vila J, Bachstetter A, Bickford P (2007). Oxidative stress and the aging brain: From theory to prevention. In: Riddle, D.R. (ed), *Brain Aging: Models, Methods, and Mechanisms*. CRC Press, Boca Raton (FL). Chapter 15.
- Gerfen C y Wilson C (1996). The Basal Ganglia. In: *Handbook of Chemical Neuroanatomy Integrated Systems of the CNS Part III*. Elsevier Science BV, Amsterdam; 12: 371-468.
- Gerfen C (1990). D1 and D2 dopamine receptor regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science*; 250: 1429-1432.
- Gerfen, C (1985). The neostriatal mosaic. I. Compartmental organization of projections from the striatum to the substantia nigra in the rat. *J. Comp. Neuron*; 236: 245-476.
- Gerfen, C (1987). The neostriatal mosaic: Striatal patch-matrix organization is related to cortical lamination. *Science*; 246: 385-388.
- Gil A (2010). Estrés oxidativo y mecanismos de defensa antioxidante. Capítulo 19. En: *Tratado de nutrición tomo I. Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición*. 2ª ed. México: Panamericana: 468-480.
- Gil del Valle L (2011). Oxidative stress in aging: Theoretical outcomes and clinical evidences in humans. *Biomedicine and Aging Pathology*; 1: 1-7.
- Giménez A y Graybiel A (1990). Compartmental origins of the Striatopallidal projection in the primate. *Neurosci*; 34: 111–126.
- Giménez A (2000). Anatomía funcional de la corteza cerebral implicada en los procesos visuales *Revista de neurología*; 30: 656-662.
- Gonca K (2008). Exogenous melatonin decreases age-induced lipid peroxidation in the brain. *Brain Reserch*: 31-35.
- González C, Ham-Chande R, en Demorg D (2007). Funcionalidad y salud: una tipología del envejecimiento en México. *Salud pública de México*; 49: 448-458.
- González F, Castellano B, González H (1999). Estrés oxidativo en las neurodegeneraciones. *Rev Neurol*: 505-511.
- González H, Rodríguez M (2000). Compartmental organization and chemical profile of dopaminergic and GABAergic neurons in the substantia nigra of the rat. *J. Neurol*; 421: 197-135.

- González H, Vázquez M (C) (2002). La cadena respiratoria mitocondrial: un enfoque estructural. Instituto de Fisiología Celular UNAM. En: Mitocondria una mirada a la evolución de los conceptos básicos y modernos. Ed. Prado: 65-87.
- Grahn J, Parkinson J, Owen A (2008a). The cognitive functions of the caudate nucleus. *Prog Neurobiol*; 86: 141-55.
- Grahn J, Parkinson J, Owen A (2008b). The role of the basal ganglia in learning and memory: Neuropsychological studies. *Behav Brain Res*; 199: 53-60.
- Graybiel A, Baughman R, Eckenstein F (1986). Cholinergic neuropil of the striatum observes striosomal boundaries. *Nature*; 323: 625–627.
- Graybiel A (1990). Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *Trends Neurosci*; 13: 244-254.
- Graybiel A (2008). Habits, rituals, and the evaluative brain. *Ann. Rev. Neurosci*; 31: 359-387.
- Groenewegen H (2003). The basal ganglia and motor control. *Neural Plast*; 10: 107-120.
- Guevara R, Gianotti M, Roca P, Oliver J (2011). Age and sex-related changes in rat brain mitochondrial function. *Cell. Physiol. Biochem*; 27: 201–206.
- Gutiérrez V (2007). Comparación de efecto de diferentes fármacos en un modelo animal de la enfermedad de Parkinson. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Experimental). Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM.
- Guyton A (1997). Anatomía y Fisiología del Sistema Nervioso. 2° ed. Madrid: Panamericana.
- Haber S, Fudge J, McFarland N (2000). Striatonigralstriatal pathways in primates form and ascending spiral from shell to the dorsolateral striatum. *J. Neurosci*; 20: 2369–2382.
- Halliwell B, Gutteridge J (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th ed. Oxford University Press, New York.
- Hara Y, Punsoni M, Yuk F, Park C, Janssen W, Rapp P, Morrison J (2012b). Synaptic distributions of GluA2 and PKMzeta in the monkey dentate gyrus and their relationships with aging and memory. *J. Neurosci*; 32:7336–7344.
- Harada S, Fujii C, Hayashi A, Ohkoshi N (2001). An association between idiopathic Parkinson's disease and polymorphisms of phase II detoxification enzymes: glutathione S-transferase M1 and quinone oxidoreductase 1 and 2. *Biochem. Biophys. Res Commun*; 288: 887–892.
- Hardeland R y Poeggeler B (2008). Melatonin beyond its classical functions. *The Open Physiology Journal*; 1: 1–23.
- Hardeland R (2009). Melatonin: signaling mechanisms of a pleiotropic agent. *BioFactors*; 35: 183–192.
- Hardeland R (2010b). Melatonin metabolism in the central nervous system. *Curr Neuropharmacol*; 8:168–181.
- Hardeland R, Cardinali D, Srinivasan V, Spence D, Brown G, Pandi-Perumal S (2011). Melatonin: A pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Prog Neurobiol*; 93:350-84.
- Hardeland R (2012). Melatonin in Aging and Disease Multiple Consequences of Reduced Secretion, Options and Limits of Treatment. *Aging and disease*; 3: 194-225.

- Harman D (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol*; 11: 298–300.
- Harman D (1972). ¿The biologic clock: the mitochondria? *J. Am. Geriatr. Soc*; 20: 145–147.
- Harman D (1983). Free radical theory of aging: consequences of mitochondrial aging. *Age*; 6: 86–94.
- Harman D (1994). Free-Radical Theory of Aging Increasing the Functional Life Span. University of Nebraska College of Medicine Omaha, Nebraska.
- Harman D (2003). The free radical theory of aging. *Antioxid. Redox Signal*; 5: 557–561.
- Harris K y Stevens J (1989). Dendritic spines of CA1 pyramidal cells in the rat hippocampus: serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics. *J. Neurosci*; 9: 2982-2997.
- Harris K, Jensen F, Tsao B (1992). Three-dimensional structure of dendritic spines and synapses in rat hippocampus (CA1) at postnatal day 15 and adult ages: implication for the maturation of synaptic physiology and long-term potentiation. *J. Neurosci*; 12: 2685-2705.
- Hayakawa N, Yokoyama H, Kato H, Araki T (2008). Age-related alterations of oxidative stress markers in the mouse hippocampal CA1 sector. *Experimental and Molecular Pathology*; 85: 135–140.
- Hazrati L y Parent A (1992). Differential patterns of arborization of striatal and subthalamic fibers in the two pallidal segments in primates. *Brain Res*; 598: 311–315.
- Hedreen J y DeLong M (1991). Organization of striatopallidal, striatonigral, and nigrostriatal projections in the macaque. *J. Comp Neurol*; 304: 569–95.
- Henderson G, Tomlinson B, Gibson P (1980). Cell counts in human cerebral cortex in normal adults throughout life using an image analysing computer. *Journal of the Neurological Sciences*; 46: 113-136.
- Herrero A y Barja G (1997). ADP-regulation of mitochondrial free radical production is different with complex I or complex II linked substrates: implications for the exercise paradox and brain hypermetabolism. *J Bioenerg Biomembr*; 29: 241-249.
- Hortobágy T (2003). Old adults perform activities of daily living near their maximal capabilities. *Journal of Gerontology: Medical Sciences*; 58: 453–460.
- Hosp J (2011). Dopaminergic Projections from Midbrain to Primary Motor Cortex Mediate Motor Skill Learning. *The J. of Neurosci*; 31: 2481–2487.
- Hughes K, Reynolds R (2005). Evolutionary and mechanistic theories of aging. *Ann Rev Entomol*; 50: 421–425.
- Ikemoto S y Wise R (2004). Mapping of chemical trigger zones for reward. *Neuropharmacology*; 47: 190–201.
- Ingham C, Hood S, Taggart P, Arbuthnott G (1997). Plasticity of synapses in the rat neostriatum after unilateral lesion of the nigrostriatal dopaminergic pathway. *J. Neurosci*; 18: 4732-4743.
- Instituto nacional de Estadística y Geografía (2011). Mujeres y Hombres en México. Disponible en: [www.inegi.org.mx/prod\\_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/sociodemografico/mujeresyhombres/2011/myh2011.pdf](http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/sociodemografico/mujeresyhombres/2011/myh2011.pdf)
- Jackson M, Popa S, Bolaños J (2002). Antioxidants, reactive oxygen and nitrogen species, gene induction and mitochondrial function. *Mol Aspects Med*; 23: 209-285.

Jacobson S, Trojanowski J (1975). Corticothalamic neurons and thalamocortical terminal fields: an investigation in rat using horseradish peroxidase and autoradiography. *Brain Res*; 85: 385-401.

Jinnah H y Hess E (2004). Assessment of movement disorders in rodents. En: *Animal model of movements disorders*. Academic Press.E.U.A. p824.

Johnston D y Amaral D (1998). Hippocampus. En: Shepherd, GM (ed). *The synaptic organization of the brain*. Oxford University Press: 417-458.

Jones E (1986). Neurotransmitters in the cerebral cortex. *J Neurosurg*; 65:135-153.

Jones J y Smith S (2000). Filopodia, spines, and the generation of synaptic diversity. *Neuron*; 27: 11-14.

Kandel E (2001). *Neurociencia Cognitiva*. Editorial McGreel.

Kell D (2009). Iron behaving badly: inappropriate iron chelation as a major con-tributor to the aetiology of vascular and other progressive inflammatory and degenerative diseases. *BMC Medical Genomics*, 2.

Kerchner G, Deutsch G, Zeineh M, Dougherty R, Saranathan M, Rutt B (2012). Hippocampal CA1 apical neuropil atrophy and memory performance in Alzheimer's disease. *NeuroImage*; 63: 194-202.

Keyser J (2004). Age-related changes in the human nigrostriatal dopaminergic system. *American Neurological Association. Annals of Neurology*; 27: 157-161.

Khachaturian Z (1994). Calcium Hypothesis of Alzheimer's disease and Brain Aging. *Neuroscience and Neuropsychology of Aging Program*: 1-11.

King T, Richardson B, Reiter R (1981). Age-associated changes in pineal serotonin N-acetyltransferase activity and melatonin content in the male gerbil. *Endocr Res Commun*; 8: 253-262.

Klucharev V (2011). Downregulation of the Posterior Medial Frontal Cortex Prevents Social Conformity. *The Journal of Neuroscience*; 31: 11934-11940.

Knierim J (2007). Cohesiveness of spatial and directional representation recorded from neural ensembles in the anterior thalamus, parasubiculum, medial entorhinal cortex and hippocampus. *PubMed*; 17: 826-841.

Krampe R (2002). Aging, expertise and fine motor movement. *Neurosci. and Biobehavioral Reviews*; 26: 769-776.

Kregel K y Zhang H (2007). Anintegrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*; 292: 18-36.

Kripke D, Youngstedt S, Elliott J, Tuunainen A, Rex K, Hauger R, Marler M (2005). Circadian phase in adults of contrasting ages. *Chronobiol Int*; 22: 695-709.

Kuhlenbeck O (1944). In the rat reported the greatest loss in cells to occur in the external pyramidal layer of the cerebral cortex.

Kumar P, Taha A, Kale R, Cowsik S, Baquer N (2011). Physiological and biochemical effects of 17 $\beta$  estradiol in aging female rat brain. *Exp. Gerontol*; 46: 597-605.

Laboratorio de Morfología Teórica y Aplicada. Sección de neurociencias UIICSE. Disponible en: <http://www.avila-costa.com>

- Lahiri D, Chen D, Lahiri P, Bondy S, Greig N (2005). Amyloid, cholinesterase, melatonin and metals and their roles in aging and neurodegenerative disease. *Ann N. Y. Acad, Sci*; 1056: 439-449.
- La Joie R, Fouquet M, Mézence F, Landeau B, Villain N, Mevel K, Pélerin A, Eustache F, Desgranges B, Chételat G (2010). Differential effect of age on hippocampal subfields assessed using a new high-resolution 3 T MR sequence. *NeuroImage*; 53: 506–514.
- Landfield P, Thibault O, Mazzanti M, Porter N, Kerr S (1992). Mechanisms of Neuronal Death in Brain Aging and Alzheimer's Disease: Role of Endocrine-Mediated Calcium Dyshomeostasis. *Journal of Neurobiology*; 23: 1247- 1260.
- Langenecker S, Briceno E, Hamid N, Nielson K (2007). An evaluation of distinct volumetric and functional MRI contributions toward understanding age and task performance: a study in the basal ganglia. *Brain Res*; 1135: 58–68.
- Lara A (2012). Multidimensional motor sequence learning is impaired in older but not younger or middle-aged adults. *J. of the American Physical Therapy Association*; 20: 351-362.
- Lardone P, Guerrero J, Fernandez-Santos J, Rubio A, Martin- Lacave I, Carrillo-Vico A (2011). Melatonin synthesized by T lymphocytes as a ligand of the retinoic acid-related orphan Halliwell receptor. *J. Pineal Res*; 51: 454–462.
- Larson J, Jessen R, Uz T (2006). Impaired hippocampal long-term potentiation in melatonin MT2 receptor-deficient mice. *Neuroscience Letters*; 393: 23–26.
- Laudon M, Nir I, Zisapel N (1988). Melatonin receptors in discrete brain areas of the male rat. Impact of aging on density and on circadian rhythmicity. *Neuroendocrinology*; 48: 577-583.
- Lavoie B y Parent A (1990). Immunohistochemical study of the serotonergic innervation of the basal ganglia in the squirrel monkey. *J Comp. Neurol*; 299: 1–16.
- Leon J, Acuña-Castroviejo D, Sainz R, Mayo J, Tan D, Reiter R (2004). Melatonin and mitochondrial function. *Life Sci*. 75: 765–790.
- Leu-Semenescu S, Arnulf I, Decaix C, Moussa F, Clot F, Boniol C, Touitou Y, Lévy R, Vidailhet M, Roze E (2010). Sleep and rhythm consequences of a genetically induced loss of serotonin. *Sleep*; 33: 307-14.
- Lindvall O y Bjorklund A (1979). Dopaminergic enervation of the globuspallidus by collaterals. *Brain Res*; 172: 169-173.
- Long J, Gao F, Tong L, Cotman C, Ames B, Liu J (2009). Mitochondrial decay in the brains of old rats: ameliorating effect of alpha-lipoic acid and acetyl-Lcarnitine. *Neurochem. Res*; 34: 755–763.
- Luebke J, Chang Y, Moore T, Rosene D (2004). Normal aging results in decreased synaptic excitation and increased synaptic inhibition of layer 2/3 pyramidal cells in the monkey prefrontal cortex. *Neurosci*; 125:277–288.
- Macias M, Escames G, León J, Coto A, Sbihi Y, Osuna A, Acuña-Castroviejo D (2003). Calreticulin–melatonin. An unexpected relationship. *Europ. J. Biochem*; 270: 832–840.
- Mahlberg R, Tilmann A, Salewski L, Kunz D (2006). Normative data on the daily profile of urinary 6-sulfatoxymelatonin in healthy subjects between the ages of 20 and 84. *Psychoneuroendocrinology*; 31: 634-41.

- Mainen F, Carnevale T, Zador A, Claiborne B y Brown T (1996). Electronic architecture of hippocampal CA1 pyramidal neurons based on three dimensional reconstructions. *J. Neurophysiol*; 76: 1904-1923.
- Marchand W, Lee J, Suchy Y, Garn C, Johnson S, Wood N, Marchand G (2011). Age-related changes of the functional architecture of the cortico-basal ganglia circuitry during motor task execution. *NeuroImage*; 55: 194–203.
- Matés J (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology, *Toxicology*; 153: 83– 104.
- Matsubara E, Bryant-Thomas T, Pacheco Quinto J, Henry T, Poeggeler B, Herbert D, Cruz-Sánchez F, Ahyar Y, Smith M, Perry G, Shoji M, Abe K, Leone A, Grundke-Ikbal I, Wilson G, Ghiso J, Williams C, Refolo L, Pappolla M, Chain D, Neria E (2003). Melatonin increases survival and inhibits oxidative and amyloid pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J. Neurochem*; 85: 1101-1108.
- Mattson M (2007). Calcium and neurodegeneration. *Aging Cell*; 6: 337-344.
- Mayoral J (2008). Efecto de la L-Dopa y de la Melatonina en la conducta motora de las ratas lesionadas con 6-OHDA: Modelo de la enfermedad de Parkinson. Tesis de Licenciatura en Psicología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM.
- Mecocci P, MacGarvey U, Kaufman A, Koontz D, Shoffner J, Wallace D, Beal M (1993). Oxidative damage to mitochondrial DNA shows marked age-dependent increases in human brain. *Ann. Neurol*; 34: 609–616.
- Meibach R y Katzman R (1979). Catecholamine innervation of the subthalamic nucleus: evidence for rostral continuation of the A9 (SN) dopaminergic cell group. *Brain res*; 173: 364-368.
- Miller D y O'Callaghan J (2005). Aging, stress and the hippocampus. *Ageing Res. Rev*; 4: 123–140.
- Miller L (2007). The human frontal lobes. Functions and disorders. The Guilford Press New York Chapter 1: The human frontal lobes. An introduction: 3-11.
- Miquel J, Economos A, et al. (1980). Mitochondrial role in cell aging. *Exp. Gerontol*; 15: 575–591.
- Mogulkoc R, Kasim B, Oztekin E, Aydin L, Sivrikaya A (2006). Melatonin prevents oxidant damage in various tissues of rats with hyperthyroidism. *Life Sciences*; 79: 311-315.
- Moore T, Schettler S, Killiany R, Herndon J, Luebke J, Moss M, Rosene D (2005). Cognitive impairment in aged rhesus monkeys associated with monoamine receptors in the prefrontal cortex. *Behav Brain Res*; 160: 208–221.
- Moore T, Killiany R, Herndon J, Rosene D, Moss M (2006). Executive system dysfunction occurs as early as middle-age in the rhesus monkey. *Neurobiol Aging*; 27:1484–1493.
- Monte B (2004). Frontal cortex function. *Am J. Psychiatry*; 161: 2178-2178.
- Mora F y Martínez C (2001). Neurotransmisores y envejecimiento. *Envejecimiento cerebral y enfermedad. Triacatela. Cap. 3: 73-78.*
- Mora F, Segovia G, del Arco A (2007). Glutamate-dopamine-GABA interactions in the aging basal ganglia. *Brain Research Reviews*; 58: 340-353.

Morgan S, Squire L, Amaral D (1986). Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *J. of Neurosci*; 6: 2950-2967.

Morrison J, Baxter M (2012). The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline. *Nat Rev Neurosci*; 13:240–250.

Mortimer J (1988). Human motor behavior and aging. En: Joseph JA (ed) Central determinants of age-related declines in motor function. *Ann. New York Acad. Sci*; 515: 161-175.

Moser M, Moser E (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*; 8: 608–619.

Muller F, Liu Y, et al. (2004). Complex III Releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. *J. Biol. Chem*; 279: 49064–49073.

Muller F, Lustgarten M, Jang Y, Richardson A, Van Remmen H (2007). Trends in oxidative aging theories. *Free Radic Biol. Med*; 43: 477–503.

Mueller S, Stables L, Du A, Schuff N, Truran D, Cashdollar N, Weiner M (2007). Measurement of hippocampal subfields and age-related changes with high resolution MRI at 4 T. *Neurobiol. Aging*; 28: 719–726.

Mueller S, Schuff N, Yaffe K, Madison C, Miller B, Weiner M (2010). Hippocampal atrophy patterns in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Hum. Brain Mapp*; 31: 1339–1347.

Murray C, Lopez A (1977). Mortality by cause for eight regions of the world: Global burden of disease study. *Lancet*; 349: 1269-1276.

Nakamura S, Akiguchi I, Kameyama M, Mizuno N (1985). Age-related changes of pyramidal cell basal dendrites in layers III and V of human motor cortex: a quantitative Golgi study. *Acta Neuropathologica*: 281-284.

Nestler E (2005). ¿Is there a common molecular pathway for addiction? *Nat. Neurosci*; 8: 1445-1449.

Nicholls J y Martin A (2001). Synaptic Plasticity. In: From neuron to Brain. 4° (ed) Massachusetts USA: 227-241.

Nieves-Martinez E, Haynes K, Childers S, Sonntag W, Nicollea M (2011). Muscarinic receptor/G-protein coupling is reduced in the dorsomedial striatum of cognitively impaired aged rats. *Behavioural Brain Research*; 22: 7 258– 264.

Nikoletopoulou V y Tavernarakis N (2012). Calcium homeostasis in aging neurons. *Frontiers in genetics*; 3:1-17.

Nimchinsky E, Sabatini B, Svoboda K (2002). Structure and function of dendritic spines. *Annu. Rev. Physiol*; 64: 313-353.

Noback C y Demarest R (1975). El cerebro: anatomía macroscópica e irrigación sanguínea. En: El sistema nervioso humano. Fundamentos de neurobiología, Mc Graw-Hill: 1-32.

Nosjean O, Ferro M, Coge F, Beauverger P, Henlin J, Lefoulon F, Fauchere J, Delagrangre P, Canet E, Boutin J (2000). Identification of the melatonin-binding site MT3 as the quinone reductase 2. *J Biol. Chem*; 275: 31311–31317.

- Nusser Z, Lujan R, Laube G, Roberts J, Molnar E, Somogyi P (1998). Cell type and pathway dependence of synaptic AMPA receptor number and variability in the hippocampus. *Neuron*; 21: 545-549.
- Olavarría J y Van Sluyters R (1985). Organization and postnatal development of callosal connections in the visual cortex of the rat. *J Comp. Neurol*: 239: 1-26.
- Olcese J, Cao C, Mori T, Mamcarz M, Maxwell A, Runfeldt M, Wang L, Zhang C, Lin X, Zhang G, Arendash G (2009). Protection against cognitive deficits and markers of neurodegeneration by long-term oral administration of melatonin in a transgenic model of Alzheimer disease. *J. Pineal Res*; 47: 82-96.
- Ota M, Obata T, Akine Y, Ito H, Ikehira H, Asada T, Suhara T (2006). Age-related degeneration of corpus callosum measured with diffusion tensor imaging. *Neuroimage*; 31: 1445-1452.
- Öztürk G, Gonca A, Güney S, Acuna-Castroviejo D (2012). Age-related changes in the rat brain mitochondrial antioxidative enzyme ratios: Modulation by melatonin. *Experimental Gerontology*; 47: 706-711.
- Palmiter R (2011). Dopamine signaling as a neural correlate of consciousness. *Neuroscience*; 198: 213-220.
- Pandi-Perumal S, Srinivasan V, Maestroni G, Cardinali D, Poeggeler B, Hardeland R (2006). ¿Melatonin Nature's most versatile biological signal? *FEBS J*; 273: 2813-38.
- Pang S y Tang P (1983). Decreased serum and pineal concentration of melatonin and N-acetylserotonin in aged male hamsters. *Horm Res*; 17: 228-234.
- Pang S, Tang F, Tang P (1984). Negative correlation of age and the levels of pineal melatonin, pineal N-acetylserotonin, and serum melatonin in male rats. *J Exp Zool*; 229: 41-47.
- Pang S (2005). Negative correlation of age and the levels of pineal melatonin, pineal N-acetylserotonin, and serum melatonin in male rats. *J. Experimental Zoology*: 41-47.
- Pappolla M, Chyan Y, Poeggeler B, Frangione B, Wilson G, Chiso J, Reiter R (2000). An assessment of the antioxidant and antiamyloidogenic properties of melatonin: Implications for Alzheimer's disease. *J. Neural Transm*; 107: 203-231.
- Parent A, Mackey A, De Bellefeuille L (1983). The subcortical afferents to caudate nucleus and putamen in primate: a fluorescence retrograde double labeling study. *Neurosci*; 10: 1137-50.
- Parent A y Hazrati L (1995). Functional of the basal ganglia I. The cortical-basal ganglia-thalamo-cortical loops. *Brain Res. Rev*; 20: 91-127.
- Patel S, Rose S, Stewart M (1988). Training induced dendritic spine density changes are specifically related to memory formation processing in chick, *Gallus domesticus*. *Brain Res*; 463: 168-73.
- Paxinos G, Kus L, Ashwell K, Watson C (1999). *Chemoarchitectonic Atlas of the Rat Forebrain*. Academic Press, San Diego.
- Paxinos G (2004). *The Rat Nervous System*. 3a (ed) Elsevier Academic Press. Amsterdam.
- Percheron G y Filion M (1991). Parallel processing in the basal ganglia: up to a point. *Trends Neurosci*; 14: 55-9.
- Peters A (1998). ¿Are neurons lost from the primate cerebral cortex during normal aging? *Cerebral Cortex*; 8: 295-300.



Peters A, Sethares C, Moss M (1998b). The effects of aging on layer 1 in area 46 of prefrontal cortex in the rhesus monkey. *Cereb Cortex*; 8:671–684.

Peters A, Sethares C, Luebke I (2008). Synapses are lost during aging in the primate prefrontal cortex. *Neurosci*; 152: 970-981.

Peñaloza E, Vázquez M (C) (2002). DNA mitocondrial, herencia, alteraciones y su empleo en el estudio de poblaciones. Unidad de Investigación Médica en Genética Humana, Centro Médico Nacional Siglo XXI. En: *Mitocondria una mirada a la evolución de los conceptos básicos y modernos*. Ed. Prado: 153-167.

Phillips L, Lyeth B, Hamm R, Jiang J, Povlishock y Revves T (1997). Effect of prior receptor antagonism of behavioural morbidity produced by combined fluid percussion injury and entorhinal cortical lesion. *J. of Neurosci. Research*; 49: 197-206.

Pierrefiche G y Laborit H (1995). Oxigen free radicals, melatonin and aging. *Gerontology*: 213-227.

Prensa L y Parent A (2001). The nigrostriatal pathway in the rat: a single-axon study of the relationship between dorsal and ventral tier nigral neurons and the striosome/matrix striatal compartments. *J. Neurosci*; 21: 7247-7260.

Programa de Acción Específico 2007-2012 Envejecimiento. Secretaría de Salud, Subsecretaría de prevención y promoción de la salud.

Pych J, Chang Q, Colon-Rivera C, Gold P (2005). Acetylcholine release in hippocampus and striatum during testing on a rewarded spontaneous alternation task. *Neurobiol. Learning Mem*; 84: 93-101.

Quinette P, Guillery-Girard B, Noël A, de la Sayette V, Viader F, Desgranges B, Eustache F (2006). The relationship between working memory and episodic memory disorders in transient global amnesia. *Neuropsychologia*; 44: 2508–2519.

Ramón y Cajal S (1893). *Neue Darstellung vom histologischen Bau des Centralnervensystem*. *Arch Anat Physiol*: 319-428.

Rao G, Xia E, Richardson A (1990). Effect of age on the expression of antioxidant enzymes in male Fischer F344 rats. *Mech. Ageing Dev*; 5: 49–60.

Rausch G y Scheich H (1982). Dendritic spine loss and enlargement during maturation of the speech control system in the mynah bird. *Neurosci. Lett*; 29: 129-33.

Redgrave P, Vautrelle N, Reynolds J (2011). Functional properties of the basal ganglia's re-entrant loop architecture: selection and reinforcement. *Neurosci*; 198: 138–151.

Reiter R (1983). Age-associated reduction in nocturnal pineal melatonin levels in female rats. *Endocrinology*: 1295-1297.

Reiter R (1986). Normal patterns of melatonin levels in the pineal gland and body fluids of humans and experimental animals. *J Neural Transm Suppl*; 21: 35-54.

Reiter R, Hurlbut E, Tannenbaum M, Troiani M (1987). Melatonin synthesis in the pineal gland of the Richardson's ground squirrel (*Spermophilus richardsonii*): Influence of age and insulin-induced hypoglycemia. *J Neural Transm*; 70: 125-136.

Reiter R, Tan D, Poeggeler B, Menendez-Pelaez A, Chen L, Saarela S (1994). Melatonin as a free radical scavenger: implications for aging and age-related diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci*; 719: 1–12.

- Reiter R (1994). Pineal function during aging: attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*; 54: 31-39.
- Reiter R, Guerrero J, Garcia J, Acuna-Castroviejo D (1998). Reactive Oxygen intermediates, molecular damage, and aging. Relation to melatonin. *Ann N Y Acad Sci*; 859: 410-424.
- Reiter R (1998). Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Progress in Neurobiology*; 56: 359-384.
- Reiter R, Cabrera J, Sainz R, Mayo J, Manchester L, and Tan DX (1999). Suppression of oxygen toxicity by melatonin. *Ann. NY Acad. Sci*; 890: 471– 485.
- Reiter R, Tan DX, Qi W, Manchester L, Karbownik M, Calvo J (2000). Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo. *Biol Signals Recept*; 9: 160-171.
- Reiter R (2000). The pineal gland and melatonin in relation to aging: A summary of the theories and of the data. *Proceedings of the Second International Symposium on the Neurobiology and Neuroendocrinology of Aging*: 199-212.
- Reiter R, Tan D, Osuna C, Gitto E (2000c). Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress: A review. *J. Biomed Res*; 7: 444–58.
- Reiter R, Tan D, Mayo J, Sainz R, Leon J, Czarnoki Z (2003). Melatonina as an antioxidant: biochemical and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochemical Polonica*; 50: 1129-1146.
- Resnick S, Pham D, Kraut M, Zonderman A, Davatzikos C (2003). Longitudinal magnetic resonance imaging studies of older adults: a shrinking brain. *J. Neurosci*; 23: 3295–3301.
- Reiter R, Paredes S, Manchester L, Tan D (2009). Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol*; 44: 175–200.
- Rodriguez C, Mayo J, Sainz R, Antolin I, Herrera F, Martin V, Reiter R (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J. Pineal Res*; 36: 1–9.
- Rodríguez M, Escames G, Lopez L, Lopez A, Garcia J, Ortiz F, Sanchez V, Romeu M, Acuna-Castroviejo D (2008). Improved mitochondrial function and increased life span after chronic melatonin treatment in senescent prone mice. *Exp. Gerontol*; 43: 749–756.
- Rogers J (1988). The neurobiology of cerebral senescence. En: Joseph JA (ed) *Central determinants of aged-related declines in motor function*. *Ann. New York Acad. Sci*; 515: 251-268.
- Romansky K, Usunoff K, Ivanov D, Galabov G (1979). Corticosubthalamic projections in the cat: an electron microscopic study. *Brain Res*; 163: 319-329.
- Rollo C (2009). Dopamine and aging: intersecting facets. *Neurochem Res*; 34: 601–629.
- Rudow G, O'Brien R, Savonenko A (2008). Morphometry of the human substantia nigra in ageing and Parkinson's disease. *Acta Neuropathol*; 115: 461–470.
- Rufo-Camos C (2002). Melatonina y epilepsia. *Rev. Neurol*; 35: S51-S58.
- Rushworth M (2011). Frontal Cortex and Reward-Guided Learning and Decision-Making. *Neuron*; 70: 1054-1069.

Salomon A, Richardson A, Pérez V (2010). Update on the oxidative stress theory of aging: ¿Does oxidative stress play a role in aging or healthy aging? *Free Radical Biol. and Med*; 48: 642-655.

Sánchez R (2003). Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. *FESZ*.

Saper C, Scammell T, Lu J (2005). Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature*; 437: 1257-1263.

Sarazin M, Chauviré V, Gerardin E, Colliot O, Kinkingnéhun S, de Souza L, Hugonot-Diener L, Garnero L, Lehericy S, Chupin M, Dubois B (2012). The amnesic syndrome of hippocampal type in Alzheimer's disease: an MRI study. *J. Alzheimers Dis*; 22: 285-294.

Satrústegui J, Martínez A, Blanco P, Villalba M, Gómez P, Bogones E, Maynard H (C) (1993). Altered Calcium Homeostasis During Aging of the Brain: Cellular mechanisms Involved and Possible Consequences. In: *Neuroregulatory mechanisms in Aging*. Pergamon Press Oxford: 79-88.

Savaskan E, Olivieri G, Brydon L (2001). Cerebrovascular melatonin MT1-receptor alterations in patients with Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*; 308: 9-12.

Savaskan E, Olivieri G, Meier F (2002). Increased melatonin 1a-receptor immunoreactivity in the hippocampus of Alzheimer's disease patients. *Journal of Pineal Research*; 32: 59-62.

Savaskan E, Jockers R, Ayoub M (2007). The MT2 melatonin receptor subtype is present in human retina and decreases in Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*; 4: 47-51.

Scheel-Kruger J (1986). Dopamine-GABA interactions: evidence that GABA transmits, modulates and mediates dopaminergic functions in the basal ganglia and limbic system. *Acta Neurol. Scand*; 73: 1-54.

Schiffmann S y Vanderhaegen J (1993). Adenosine A2 receptors regulate the gene expression of striatopallidal and striatonigral neurons. *J. Neurosci*; 13: 1080-1087.

Segal M (1995a). Dendritic spines for neuroprotection: a hypothesis. *TINS*; 18: 468-471.

Seidler R, Bernard J, Burutolu T, Fling B, Gordon M, Gwin J, Kwak Y, Lipps D (2010). Motor control and aging: links to age-related brain structural, functional, and biochemical effects. *Neurosci. Biobehav. Rev*; 34: 721-733.

Seithikurippu R, BaHamam A, Brown G, Kaur C, Hardeland R, Cardinali D (2012). Melatonin Antioxidative Defense: Therapeutical Implications for Aging and Neurodegenerative Processes. *Neurotox Res*; 12640: 337-344.

Sharma M, Palacios-Bois J, Schwartz G, Iskandar H, Thakur M, Quirion R, Nair N (1989). Circadian rhythms of melatonin and cortisol in aging. *Biol Psychiatry*; 25: 305-319.

Shefer V (1973). Absolute number of neurons and thickness of cerebral cortex during aging, senile and vascular dementia, and Pick's and Alzheimer's disease. *Neurosci Behav Physiol*; 6: 319-324.

Shepherd G (1996). The dendritic spine: A multifunctional integrative unit. *J. Neurophysiol*; 75: 2197- 2210.

Shepherd G (1998). *The synaptic organization of the brain*. 4<sup>o</sup> (ed) Oxford Univ. Press N.Y.

Simonian N y Coyle J (1996). Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*; 36: 83-106.

- Skoff R y Hamburger V (1974). Fine structure of dendritic and axonal growth cones in embryonic chick spinal cord. *J. Comp. Neurol*; 153: 107-147.
- Smith Y, Baven M, Shinf E, Bolam J (1998). Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neurosci*; 82: 353-387.
- Smith C (1999). Critical decline in fine motor movements in human aging. *Neurology*; 53: 19-27.
- Smith C, Chebrolu H, Wekstein D, Schitt F, Markesbery W (2007). Age and gender effects on human brain anatomy: A voxel-based morphometric study in healthy elderly. *Neurobiology of Aging*; 28: 1075-1087.
- Sohal R y Weindruch R (1996). Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science*; 273: 59–63.
- Sohal R (2002). Oxidative stress hypothesis of aging. *Free Radic Biol Med*; 33: 573–4.
- Sorra K y Harris K (1998). Stability in synapse number and size at 2 hr after long-term potentiation in hippocampal area CA1. *J. Neurosci*; 18: 658-671.
- Spacek J y Harris K (1997). Three-dimensional organization of smooth endoplasmic reticulum in hippocampal CA1 dendrites and dendrite spines of the immature and mature rat. *J. Neurosci*; 17: 190-203.
- Srinivasan V, Pandi-Perumal S, Cardinali D, Poeggler B, Hardeland R (2006). Melatonin in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Behav. Brain Funct*: 2-15.
- Srinivasan V, Spence D, Pandi-Perumal S, Brown G, Cardinali D (2011c). Melatonin in mitochondrial dysfunction and related disorders. *Int. J. Alzheimers Dis*: 1–15.
- Staniek K y Nohl H (2000). ¿Are mitochondria a permanent source of reactive oxygen species? *Biochim Biophys Acta*; 1460: 268–75.
- Stark A y Pakkenberg B (2004). Histological changes of the dopaminergic nigrostriatal system in aging. *Cell Tissue Res*; 318: 81–92.
- Strong R (1988). Regionally selective manifestation of neostriatal aging. En: Joseph, JA (ed) Central determinators of aged-related declines in motor function. *Ann. New York Acad. Sci*; 515: 161-175.
- Sui A, Maldonado M, Sánchez-Hidalgo M, Tan D, Reiter R (2006). Protetive effects of melatonin in experiemntal free radical-related ocular diseases. *J. Pineal Res*; 40: 102-109.
- Surmeier D (2006). Microcircuits in the striatum: Cell types, intrinsic properties and Neuromodulation, In *Microcircuits. The Interface Between Neurons and Global Brain Function* (S Grillner, AM Graybiel, Eds), MIT Press, Cambridge: 105-12.
- Swanson L (1998). *Brain Maps: Structure of the Rat Brain*. 2<sup>nd</sup> (ed) Elsevier. Amsterdam.
- Szabo J (1980). Organization of the ascending striatal afferents in monkeys. *J. Comp Neurol*; 189: 307-21.
- Talos I, Rubin L, Halle M y Kikinis R (2008). A prototype symbolic model of canonical functional neuroanatomy of motor system. *Journal of Biomedical Informatics*; 41: 251-263.
- Tan D, Manchester L, Hardeland R, Lopez-Burillo S, Mayo J, Sainz R, Reiter R (2003). Melatonin: a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid, and an antioxidant vitamin. *J. Pineal Res*; 34: 75-8.

- Tan D, Manchester L, Sanchez-Barcelo E, Mediavilla M, Reiter R (2010). Significance of high levels of endogenous melatonin in mammalian cerebrospinal fluid and in the central nervous system. *Curr Neuropharmacol*; 8:162–167.
- Tepper J (2007). Basal Ganglia Macrocircuits. In: *GABA and the Basal Ganglia: From Molecules to Systems*, Progress in Brain Research, Elsevier, Amsterdam: 3-7.
- Terry R, Deteresa R, Hansen L (1987). Neocortical cell counts in normal human adult aging. *Annals of Neurology*; 21: 530- 539.
- Threlfell S y Cragg S (2011). Dopamine signalling in dorsal versus ventral striatum: the dynamic role of cholinergic interneurons. *Front Syst Neurosci*: 5.
- Thomas B, Mohanakumar K (2004). Melatonin protects against oxidative stress caused by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in the mouse nigrostriatum. *J. Pineal Res*; 36: 25-32.
- Thompson J, Manore M, Vaughan L (2008). Nutrientes Implicados en la Función Antioxidante. Cap. 10. En: *Nutrición*. Ed. México: PEARSON: 390-399.
- Tian L, Cai Q, Wei H (1998). Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radic. Biol. Med*; 24: 1477–2184.
- Tish S (2004). The basal ganglia: anatomy, physiology, and pharmacology. *Psychiatr Clin N Am*; 27: 757–799.
- Toescu E (2007). The importance of being subtle: small changes in calcium homeostasis control cognitive decline in normal aging. *Aging Cell*; 6: 3 267-273.
- Toescu E y Vreugdenhil M (2010). Calcium and normal brain ageing. *Cell Calcium*; 47: 158–164.
- Torres E (2012). Efecto funcional y sobrevivencia neuronal en la SNc por la coadministración de L-Dopa/Melatonina en ratas lesionadas con 6-OHDA. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM.
- Tricoire H, Locatelli A, Chemineau P, Malpoux B (2002). Melatonin enters the cerebrospinal fluid through the pineal recess. *Endocrinology*; 143: 84-90.
- Tricoire H, Møller M, Chemineau P and Malpoux B (2003). Origin of cerebrospinal fluid melatonin and possible function in the integration of photoperiod. *Reprod Suppl*; 61: 311-21.
- Tuena de Gómez P; Vázquez M (C) (2002). Fosforilación oxidativa. Instituto de Fisiología Celular UNAM. En: *Mitocondria una mirada a la evolución de los conceptos básicos y modernos*. (ed) Prado: 89-95.
- Tulving E y Markowitsch H (1998). Episodic and declarative memory: Role of the hippocampus. *Hippocampus*; 8: 198–204.
- Ugalde O (2010). Guía Clínica para el tratamiento de los trastornos Psicogerítricos. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Secretaría de Salud México; 5-101.
- Ulfhake B (2002). Impairment of peripheral sensory innervation in senescence. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*; 96: 43– 49.

- Urata Y, Honma S, Goto S, Todoroki S, Iida T, Cho S, Honma K, Kondo T (1999). Melatonin induces gamma-glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. *Free Radic. Biol. Med*; 27: 838–847.
- Utter A (2008). The basal ganglia: An overview of circuits and function. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*; 32: 333–342.
- Valverde F (2002). Estructura de la corteza cerebral. Organización intrínseca y análisis comparativo del neocórtex. *Revisiones de neurociencia*; 34: 758-80.
- Vandervoort A (1992). Effects of ageing on human neuromuscular function: implications for exercise. *Can J. Sports Sci*; 17: 178–184.
- Vanella A, Villa R, Gorini A, Campisi A, Giuffrida-Stella A (1989). Superoxide dismutase and cytochrome oxidase activities in light and heavy synaptic mitochondria from rat cerebral cortex during aging. *J. Neurosci. Res*; 22: 351–355.
- Venegas C, Garcia J, Escames G, Ortiz F, Lopez A, Doerrier C, Garcia-Corzo L, Lopez L, Reiter R, Acuna-Castroviejo D (2012). Extrapineal melatonin: analysis of its subcellular distribution and daily fluctuations. *J. Pineal Res*; 52: 217–227.
- Villar-Cheda B, Valenzuela R, Rodriguez-Perez A, Guerra M, Labandeira-Garcia J (2012). Aging-related changes in the nigral angiotensin system enhances proinflammatory and pro-oxidative markers and 6-OHDA-induced dopaminergic degeneration. *Neurobiology of Aging*; 33: 204–204.
- Voorn P, Vanderschuren L, Groenewegen H, Robbins T, Pennartz C (2004). Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends Neurosci*; 27: 468–474.
- Vukhac K, Sankoorikal E, Wang Y (2001). Dopamine D2L receptor- and age-related reduction in offensive aggression. *Neuroreport*; 12: 1035–1038.
- Wang Y (2008). Differential effect of aging on synaptic plasticity in the ventral and dorsal striatum. *Neurobiology of Learning and Memory*; 89: 70–75.
- Weil Z, Hotchkiss A, Gatien M, Pieke-Dahl S, Nelson R (2006). “Melatonin receptor (MT1) knockout mice display depression-like behaviors and deficits in sensorimotor gating. *Brain Research Bulletin*; 68: 425–429.
- West M, Coleman P, Flood D, Troncoso J (1994). Differences in the pattern of hippocampal neuronal loss in normal ageing and Alzheimer's disease. *Issue*; 8925: 769–772.
- Whishaw I, Woodward N, Miklyeva E, Pellis S (1997). Analysis of limb use by control rats and unilateral DA-depleted rats in the Montoya staircase test: movements, impairments and compensatory strategies. *Behav Brain Res*; 89: 167-177.
- White N y Salinas J (2003). Mnemonic functions of dorsal striatum and hippocampus in aversive conditioning. *Behavioral Brain Research*; 142: 99–107.
- White E (1989). *Cortical circuits. Synaptic organization of the cerebral cortex, structure, function, and theory.* Boston: Ed. Birkhäuser.
- White E y DeAmicis R (1977). Afferent and efferent projections of the region in mouse SmI cortex which contains the posteromedial barrel subfield. *J. Comp Neurol*; 175: 455-81.
- Wilson J (2004). The basal ganglia. In: *The Synaptic Organization of the Brain* (GM Shepherd, Ed.), Oxford University Press, Oxford: 361-414.

- Wilson J (1998). The basal ganglia. In: Gordon M. Ed. Shepard. The synaptic organization of the brain. Fourth Edition. Oxford University Press. New York: 329-375.
- Wolff S, German A, Dean R (1986). Free radicals, lipids and protein degradation. *TIBS*; 11: 27-31.
- Wu H y Swaab D (2005). The human pineal gland and melatonin in aging and Alzheimer's disease. *J. Pineal Res*; 38: 145-152.
- Yassa M, Stark S, Bakker A, Albert M, Gallagher M, Stark C (2010). High-resolution structural and functional MRI of hippocampal CA3 and dentate gyrus in patients with amnesic mild cognitive impairment. *NeuroImage*; 51: 1242-1252.
- Yelnik J (2002). Functional Anatomy of the Basal Ganglia. *Movement Disorders*; 17: 15-21.
- Yeterian E y Pandya D (1991). Prefrontostriatal connections in relation to cortical architectonic organization in rhesus monkeys. *J. Comp. Neurol*; 312: 43-67.
- YiSun (1990). Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*; 8: 583-599.
- Youngmok C y Holly V (2009). The mitochondrial theory of aging: Insight from transgenic and knockout mouse models. *Experimental gerontology*; 44: 256-260.
- Youngstedt S, Kripke D, Elliott J, Klauber M (2001). Circadian abnormalities in older adults. *J. Pineal Res*; 31: 264-72.
- Yuste R y Bonhoeffer T (2001). Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. *Annu. Rev. Neurosci*; 24: 1071-1089.
- Zentella D, Vázquez M (C) (2002). Envejecimiento, apoptosis y su relación con las mitocondrias. Instituto de Fisiología Celular UNAM. En: Mitocondria una mirada a la evolución de los conceptos básicos y modernos. (ed) Prado: 169-180.
- Zola-Morgan S, Squire L, Amaral D (1986). Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *J. Neurosci*; 6: 2950-2967.

# **ANEXOS**



## **Anexo 1**

### **Evaluación de la conducta motora con la Viga de Equilibrio.**

Para evaluar la conducta motora se utiliza un aparato de madera con dos pedestales, a los cuales va unida una viga de madera de 2m de largo. En esta actividad es evaluada la función motora fina (Phillips *et al.*, 1997) permitiendo observar la coordinación (Jinnah y Hess, 2004), disfunción motora, sensorial y cognitiva (Allbutt y Henderson, 2007). Se utilizó una viga de 24 mm de ancho con 2 m de longitud colocada a 180° con respecto al suelo, la cual los animales recorrían de un extremo a otro hasta llegar a su caja hogar. Se entrenó una semana a los dos grupos antes del tratamiento y posteriormente se administró la melatonina al grupo experimental y se evaluó una vez por semana el desempeño en la viga a los dos grupos, registrando el tiempo que cada animal tardaba en recorrer la viga. Se espera como tiempo máximo 120 segundos, y si el animal no cruza en el tiempo estipulado se da por terminada esta actividad asignando el valor de 120 segundos a su evaluación.

## **Anexo 2**

### **Método de Golgi**

- 1.- Las muestras ya fijadas se lavan en buffer fosfatos y se sumergen en una mezcla de osmio- dicromato (OsO<sub>4</sub> 1g, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 8g, H<sub>2</sub>O 300ml) durante 7 días a temperatura ambiente en la obscuridad (se utilizarán 10ml de mezcla para cada cerebro).
- 2.- A continuación las muestras se lavan rápidamente con agua destilada, después con nitrato de plata al 0.75%. Los fragmentos se colocan en nitrato de plata durante 24 horas a temperatura ambiente.
- 3.- Para realizar los cortes, se quita el exceso de nitrato de plata con papel filtro y se encastran en un bloque de parafina. La parte libre de la muestra se baña en alcohol al 95% y se realizan los cortes de 120µm, lubricando constantemente la cuchilla con alcohol.
- 4.- Los cortes se deshidratan en 2 baños de alcohol absoluto 10 minutos cada uno, posteriormente en esencia de clavo durante 10 minutos para ser aclarados, y después dos cambios de xilol, finalmente se montan en un portaobjetos con resina sintética.

### **Anexo 3**

#### **Método de Inmunohistoquímica para TH**

Inmunohistoquímica: Se realizaron cortes histológicos del mesencéfalo ventral (SNc) y del núcleo estriado de los animales control y expuestos, y se realizó inmunohistoquímica para TH. Para lo cual se realizaron cortes de entre 50-100  $\mu\text{m}$ . Posteriormente se hicieron lavados sucesivos en el siguiente orden: En amortiguador PBS 3 veces por 10 minutos; 3 lavados en amortiguador TRIS de 10 minutos; amortiguador TRIS y peróxido de hidrógeno 0.3 % (30 minutos); amortiguador TRIS y borohidrido de sodio 0.01 % (30 min); amortiguador TRIS con 1 % de suero normal de cabra y 0.3 % de tritón (durante 1 h), todos con agitación, posteriormente se incubaron los cortes en una alícuota de anticuerpo primario anti-TH en amortiguador TRIS 1:1000 con 1 % de suero normal de cabra por 3 días a 4 °C. Posteriormente se lavaron los cortes 3 veces en amortiguador TRIS con 1 % de suero normal de cabra durante 10 min con agitación. Se incubaron por 2 horas a temperatura ambiente en el anticuerpo secundario. Anti-IGg de conejo 1:200 en TRIS con 1 % de suero normal de cabra. Se hizo un lavado en TRIS con 1 % de suero normal de cabra, para después incubar en Abidina-Biotina (2 Hrs) a temperatura ambiente. Después de 3 lavados en TRIS con agitación se reveló la tinción en los tejidos con 3-3 Diaminobencidina (DAB) al 0.05 % y 0.003 % de peróxido de hidrógeno. El tejido se lava una última vez en TRIS por 10 min y se montan en portaobjetos previamente gelatinizados, se dejan secar un día. Para cubrir con resina se realizó la deshidratación de los cortes con alcoholes en concentraciones crecientes (60, 70, 80, 90 y 96 %) diez minutos en cada uno y 3 cambios en alcohol de 100 % de 10 min. y finalmente dos cambios en tolueno de 10 min. cada uno.

Para su posterior análisis en un fotomicroscopio, haciendo un conteo de las neuronas inmunorreactivas a TH en la SNc en un área de 1500  $\mu\text{m}^2$  en 10 cortes por animal.