



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA  
PSICOLOGÍA**

**EFFECTO DEL RESVERATROL SOBRE LA PLASTICIDAD SINÁPTICA DEL  
NÚCLEO ESTRIADO EN UN MODELO DE NEURODEGENERACIÓN DE  
HUNTINGTON**

**TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA**

**PRESENTA:  
Edgar Eduardo Arias Calderón**

**TUTOR:  
Dra. Alicia Elizabeth Hernández Echeagaray  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala**

**COMITÉ TUTOR:  
Dra. Ana Natalia Seubert Ravelo  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala  
Dr. Rodrigo Erick Escartín Pérez  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala**

**Los Reyes Iztacala, Estado de México, septiembre 2020**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

*“El aprendizaje es lo único que la mente nunca agota, nunca teme y nunca se arrepiente”*

*“Después de haber recorrido una distancia entre rocas sombrías, llegué a la entrada de una gran caverna. Dos emociones contrarias surgieron en mí; miedo y deseo. Miedo a la amenazante caverna y deseo de ver si había cosas maravillosas en ella”*

*“El ingenio humano nunca imaginará una invención más hermosa, más simple o más directa que la naturaleza, porque en sus inventos no falta nada, y nada es superfluo”*

*“Cualquiera que defienda un argumento apelando a la autoridad, no está usando su inteligencia, solo está usando su memoria”*

*“Quienes se enamoran de la práctica sin teoría son como los pilotos sin brújula ni dirección, nunca podrán saber hacia dónde van”*

*“He ofendido a Dios y a la humanidad porque mi trabajo no alcanzó la calidad que debería tener”*

**Leonardo Da Vinci**

## **Agradecimientos**

A la Dra. Alicia Elizabeth Hernández Echeagaray por la oportunidad inicial y por la confianza depositada en mí. Por su atención inmediata, su carisma y su gran modelo. Gracias por su incansable energía para hacer ciencia, perfeccionarla y compartirla sin reproches. Y sobre todo por ser el gran ser humano que es.

A mis tutores: la Dra. Ana Natalia Seubert Ravelo y el Dr. Rodrigo Erick Escartín Pérez, que pese a la distancia han mostrado disposición y apoyo.

Al M en C. Ernesto Mendoza Duarte. Por sus consejos incondicionales, por la disposición de explicar y enseñar la técnica por nada a cambio. Por su amistad, apoyo y paciencia.

## Dedicatorias

A mis padres, que me han apoyado desde siempre y en todos mis sueños. Gracias por todo su amor y comprensión, por la educación que me han dado y por la familia que han construido. Por su guía, por permitirme ser el ser humano que soy y por acompañarme en este viaje. Espero tenerlos siempre a mi lado.

A mis hermanos Arath, Naomi y Nataly. Por ser parte de mi fuerza y de los pilares de mi vida. Por su particular esencia y su espectacular forma de vivir la vida. Por todo el apoyo, amor y comprensión gracias. Los amo y espero tenerlos eternamente. Y a mi hermana Mary, que pese a la distancia forma parte esencial de mi vida, gracias por todo lo bueno.

A mis sobrinas Blanca, Lucero, Cecilia y Katherine, por forma parte de mi vida y formar parte de lo más valioso que tengo; mi familia. Las amo y espero estar en cada uno de sus grandes pasos.

Al resto de mi familia que en parte forman parte de mis sueños y de mi motivación.

A mis amigos:

Isabel, por tu amistad incondicional. Gracias por estar siempre ahí, y pese a la distancia siempre estar al pendiente de mi actuar. Gracias por ser mi juez y abogado en muchas ocasiones y sobre todo por las hermosas experiencias que vivimos.

Jocelin, por su particular forma de vivir la vida, pero sobre todo por su gran nobleza. Gracias por ser otro de los seres importantes de mi vida, espero el destino y la vida nos permita seguir compartiendo momentos con el resto de los nuestros. Por tu alegre forma de vivir gracias.

Sofia, gracias por mostrarme que los grandes seres humanos a veces están donde menos lo esperabas. Gracias por ser tan franca y en muchas ocasiones sobreponer la razón al ego. Por todo y tu sincera amistad gracias.

Surinam, en verdad gracias por ser parte de mi vida. Amo tu despreocupada forma del mundo y en verdad espero tenerte en mi vida mucho tiempo más. Gracias por las incontables carcajadas.

Griselda, gracias por tu honestidad y tu objetiva forma de ver el mundo. He aprendido de tu perseverancia y de la importancia de ser fiel a lo que crees y lo que eres, en verdad gracias.

Eunice, gracias por ser parte de mi vida. Agradezco la oportunidad de conocer a alguien tan trabajadora y optimista como tú. Gracias por tu amistad incondicional y tu juicio objetivo. Con todo el cariño y con mi total sinceridad, gracias.

A mis compañeros de laboratorio Víctor, Daniel, Cesar, Ricardo y Francisco, por su apoyo sus consejos y su amistad. Y por formar parte de una nueva etapa de mi vida, de corazón gracias.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>7</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>BASES BIOLÓGICAS DEL COMPORTAMIENTO MOTOR</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Sistema nervioso</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Sistema Nervioso Central (SNC)</b> .....	<b>1</b>
<b>1.3 Sistema Nervioso Periférico (SNP)</b> .....	<b>2</b>
<b>1.4 Neuroanatomía del comportamiento motor</b> .....	<b>3</b>
<b>1.5 Ganglios Basales (GB)</b> .....	<b>3</b>
<b>1.6 Núcleo estriado</b> .....	<b>6</b>
<b>1.7 Comunicación neuronal y transmisión sináptica</b> .....	<b>7</b>
<b>PLASTICIDAD CEREBRAL</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1 Aspectos generales de la plasticidad cerebral</b> .....	<b>8</b>
<b>2.2 Bases fisiológicas de la plasticidad sináptica</b> .....	<b>9</b>
<b>2.3 Potenciación a largo plazo (LTP) y Depresión a largo plazo (LTD)</b> .....	<b>10</b>
<b>2.4 Plasticidad sináptica en el núcleo estriado</b> .....	<b>13</b>
<b>EFFECTOS DEL RESVERATROL (RVTL) EN LA ACTIVIDAD SINÁPTICA</b> .....	<b>15</b>
<b>3.1 Antioxidantes y polifenoles: el resveratrol (RVTL)</b> .....	<b>15</b>
<b>3.2 Participación del resveratrol (RVTL) en la modulación sináptica y proceso de plasticidad neuronal</b> .....	<b>17</b>
<b>ENFERMEDAD DE HUNTINGTON</b> .....	<b>19</b>
<b>4.1 Etiología de la Enfermedad de Huntington</b> .....	<b>19</b>
<b>4.2 Deterioro conductual y cognitivo en la enfermedad de Huntington</b> .....	<b>20</b>
<b>4.3 Modelos neurodegenerativos de la enfermedad de Huntington</b> .....	<b>20</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>22</b>
<b>2.1 Hipótesis</b> .....	<b>22</b>
<b>2.2 Objetivo general</b> .....	<b>22</b>
<b>2.3 Objetivos particulares</b> .....	<b>22</b>

<b>CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS .....</b>	<b>23</b>
3.1 Registro electrofisiológico de potenciales de campo.....	23
3.2 Protocolo de Pulso Pareado (PPP).....	24
<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>27</b>
4.1 Sujetos experimentales.....	27
4.2 Fármacos.....	27
4.3 Obtención de rebanadas de cerebro .....	27
4.4 Registro electrofisiológico.....	28
4.5 Análisis de los datos .....	29
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
5.1 Condiciones para el registro de la actividad electrofisiológica .....	30
5.2 Modulación de la sinapsis glutamatérgica por acción RVTL y evaluación de su efecto en el protocolo HFS .....	32
5.3 Efecto de la HFS sobre la plasticidad sináptica estriatal en condiciones control.....	32
5.4 Efecto modulador de RVTL sobre la actividad sináptica estriatal y plasticidad sináptica inducida por HFS en condiciones control .....	34
5.5 Protocolo HFS y plasticidad sináptica inducida en el modelo de neurodegeneración por 3-NP .....	38
5.6 EL RVTL recupera la LTD inducida por HFS en el modelo de neurodegeneración por 3-NP .....	39
5.7 LTP inducida por HFS en presencia de RVTL dentro del modelo de neurodegeneración por 3-NP .....	42
5.8 Efecto de RVTL sobre la LTD inducida en la actividad sináptica estriatal en condiciones control y en el modelo de neurodegeneración por 3-NP .....	46
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>49</b>
6.1 Modulación de la actividad sináptica estriatal por RVTL .....	49
6.2 Potenciación a largo plazo (LTP) y depresión a largo plazo (LTD) inducidas por RVTL .....	52
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>55</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>56</b>

## RESUMEN

Se ha reportado que los polifenoles, específicamente el RVTL, muestran una amplia gama de efectos benéficos sobre la fisiopatología de distintas alteraciones neuropatológicas. No obstante, existe poca evidencia sobre el efecto de este antioxidante sobre la actividad sináptica y la plasticidad sináptica en regiones como el estriado. Por esta razón el presente estudio fue realizado con el objetivo de evaluar los efectos neuroprotectores del resveratrol sobre la actividad sináptica, así como, su acción sobre la plasticidad sináptica en poblaciones de neuronas del núcleo estriado en un modelo de neurodegeneración de la enfermedad de Huntington inducido por 3-NP. Para ello se registró la actividad electrofisiológica de poblaciones de neuronas estriatales obtenida de ratones (C57-BL6) sanos y ratones tratados con la neurotoxina 3-NP. Los resultados muestran que tanto en condiciones control (tejido sano) como en presencia del daño inducido por 3-NP, la administración de RVTL resulta efectiva para modular la actividad sináptica estriatal, en particular, favorece el decremento de la respuesta glutamatérgica de poblaciones de neuronas del estriado. Del mismo modo, se observó que la administración de RVTL seguida de la estimulación de alta frecuencia (HFS), promueve el desarrollo de procesos plásticos de larga duración, como lo es la potenciación a largo plazo (LTP) y la depresión a largo plazo (LTD). De forma particular se rescata el papel de RVTL para incrementar la LTD en experimentos realizados con tejido que mostraba síntomas de excitotoxicidad producto de la administración de 3-NP. Finalmente se concluye que tanto su efecto modulador como por sus efectos sobre la plasticidad sináptica, el RVTL muestra un efecto restaurador en la actividad sináptica de poblaciones neuronales que muestran síntomas de neurodegeneración. Se sugiere que el efecto de RVTL puede ser atribuido a mecanismos ubicados en la postsinápsis, específicamente la activación de receptores del tipo NMDA.



# INTRODUCCIÓN

## 1. BASES BIOLÓGICAS DEL COMPORTAMIENTO MOTOR

Las complejas relaciones que pueden establecerse entre con el medio se encuentran estrechamente relacionadas con la funcionalidad del cerebro y cada una de las estructuras que lo componen, la regulación de acciones –voluntarias e involuntarias, la expresión y reconocimiento de las emociones o el procesamiento de la información proveniente del mundo, ahora se sabe, son el producto de un ir y venir de reacciones químicas que tienen su base en la fisiología y anatomía del cerebro.

### 1.1 Sistema nervioso

El sistema nervioso es un conjunto de estructuras bien organizadas, que puede ser clasificado por sus características a gran escala y microscópicas, así como por su secuencia de desarrollo (Rouviere y Delmas, 2005). Se entiende que el SN es el resultado de una compleja organización de grupos celulares, los cuales llegan a un elevado nivel de especialización y asumen tareas específicas (Coman y McGaugh, 1980). Su disposición estructural favorece el desarrollo de sistemas funcionales encargados del procesamiento de la información, donde un grupo de estructuras conforma *redes de comunicación* encargadas de la asimilación, distribución, almacenamiento y recuperación de los estímulos percibidos del mundo exterior. De acuerdo con Purves, et al. (2004) el sistema nervioso puede ser clasificado en los siguientes subsistemas: sistemas sensitivos, sistemas motores y sistemas de asociación. Los cuales integran las distintas dimensiones de la conducta humana. Es preciso decir que tanto funciones autónomas como voluntarias se encuentran asociadas con estructuras organizadas de forma jerárquica, en las que la información es analizada y procesada en distintos niveles de complejidad (Rosenzweig y Leiman, 1992). Es así como el SN puede ser dividido en **Sistema Nervioso Central (SNC)** y **Sistema Nervioso Periférico (SNP)**.

### 1.2 Sistema Nervioso Central (SNC)

El SNC está conformado por el encéfalo y la médula espinal. Sus estructuras están cubiertas por hueso (el encéfalo por el cráneo y la médula por las vértebras) y se caracterizan por abarcar la mayoría de los somas neuronales y las células de la glía. Dentro de las principales funciones de este sistema se encuentran la regulación y control de procesos autónomos; por ejemplo, respiración, ritmo cardiaco o el movimiento intestinal. Así como la planeación y ejecución de actos voluntarios, como lo es el movimiento, el pensamiento complejo, el lenguaje, etc.

Procesos complejos como el aprendizaje, el pensamiento racional o el procesamiento emocional están asociados con la actividad de que tiene lugar en los sistemas del SNC. Por lo que se destaca el papel del SNC como el controlador y supervisor de todos los aspectos de la conducta, desde la actividad fisiológica inconsciente hasta la ejecución de patrones de comportamiento complejos. No obstante, este depende de la actividad del SNP; ambos participan en la regulación y control de comportamiento humano (Rouviere y Delmas, 2005).

### 1.3 Sistema Nervioso Periférico (SNP)

En paralelo, el SNP se encuentra conformado por las prolongaciones (axónicas y dendríticas) del SNC en forma de grupos de fibras que se distribuyen en todo el cuerpo. Estas prolongaciones se agrupan en nervios: 12 pares craneales y 24 pares vertebrales, que inervan a cada uno de los órganos, músculos y articulaciones del cuerpo. Su función principal es el reconocimiento y conducción de estímulos motores, sensitivos y/o viscerales. El SNP funciona como una fuente registro de información, donde la información de entrada y de salida de cada una de las partes del cuerpo, atraviesa la médula y es dirigida al encéfalo (Krebs, Weinberg y Akesson, 2012). De este modo el SNP forma parte de un sistema de retroalimentación, que no solo inicia cadenas de respuesta, sino que, además, supervisa y rectifica la información. Al igual que el SNC, el SNP cuenta con subdivisiones encargadas del monitoreo y ejecución de procesos específicos en el organismo. Por ejemplo, la primera división está conformada por las *inervaciones motoras somáticas*, las cuales parten de la médula espinal y llegan hasta el músculo esquelético del cuerpo humano. En segundo lugar, se encuentran las *inervaciones motoras viscerales o autónomas*, las cuales llegan a los músculos lisos, el músculo cardiaco y las diversas glándulas del cuerpo, iniciando o inhibiendo procesos involuntarios como la sudoración, la producción hormonal, la digestión, la respiración no consciente, etc. (Purves, et al., 2004).

Es necesario decir que tanto en el SNC como el SNP existen núcleos neuronales bien definidos cuyo papel fundamental es la regulación y monitoreo de funciones fisiológicas y de la conducta del organismo; estos mantienen comunicación áreas subcorticales (médula, bulbo, cerebelo, etc.) así como con áreas especializadas de la corteza cerebral, participando de forma activa en los procesos de inhibición y excitación de distintas clases de respuesta, sirviendo también como puntos de relevo en el procesamiento de la información (Krebs et al., 2012). Se debe decir que estos núcleos se agrupan en conjuntos estructurales, donde la información de distintas vías sensoriales es integrada y asociada con información previamente almacenada, en el caso del

acto motor se destaca el papel de los ganglios basales en la ejecución e integración de diversos programas conductuales, incluidos: la producción del movimiento, la articulación del lenguaje, la expresión emocional y otros procesos cognitivos (Bostan y Strick, 2010).

#### **1.4 Neuroanatomía del comportamiento motor**

El comportamiento motor es el medio por el cual el ser humano puede relacionarse con el medio ambiente; el movimiento de los músculos del cuerpo al desplazarse, el movimiento fino de la mano, las expresiones faciales o incluso el lenguaje son funciones que forzosamente requieren del control motor para ser realizadas. Pese a su complejidad, el acto motor depende de cuatro sistemas: 1) el sistema conformado por motoneuronas inferiores, cuyas prolongaciones axónicas atraviesan a la medula y el tallo cerebral hasta llegar al músculo esquelético, 2) el sistema conformado por las motoneuronas superiores, que tiene su origen en los somas de la corteza cerebral y del tronco encefálico. Ambos integrando la vía eferente del comportamiento motor (Purves, et al., 2004). Así como de los sistemas moduladores y rectificadores del comportamiento motor, donde 3) el cerebelo, recibe la mayor parte de las aferencias que se dirigen hacia la corteza y establece circuitos de forma indirecta con las eferentes superiores de la médula y el puente cerebral; rectificando el movimiento planeado con el ejecutado. Y finalmente, 4) el sistema conformado por los ganglios basales, consolida la retroalimentación inmediata del acto motor; recibiendo eferencias de la corteza, procesando la información y renviéndola de nuevo a la corteza (Krebs et al., 2012), regulando y dirigiendo la respuesta motora (Ospina et al., 2017).

#### **1.5 Ganglios Basales (GB)**

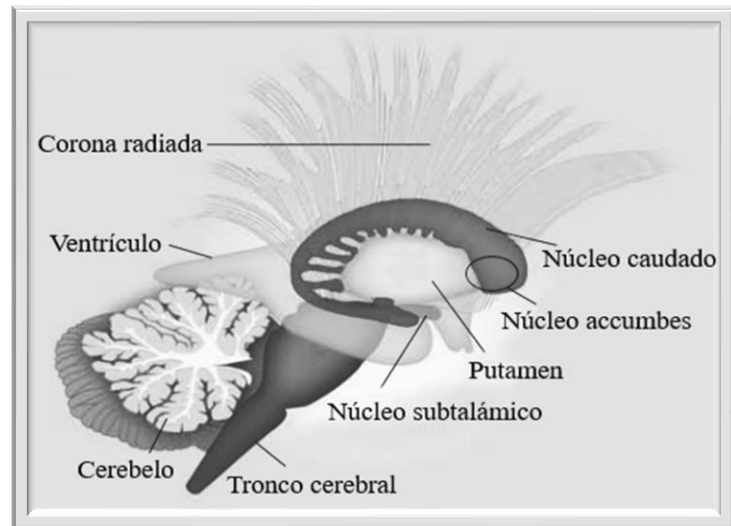
Por su localización en el cerebro, la actividad de los GB se relaciona con la ejecución de distintos comportamientos: comandos motores, el procesamiento y asociación de la información sensoriomotriz y la regulación de procesos ejecutivos (Bolam et al., 2000). Esto se debe a que por su fisiología la actividad de los GB se asocia con la de diferentes estructuras y en el caso de la producción del movimiento destaca su relación con el cerebelo. Estudios recientes señalan que los GB como el cerebelo comparten circuitos de comunicación y en conjunto median la expresión del comportamiento, el procesamiento emocional, el funcionamiento cognitivo y distintas clases de aprendizaje (Bostan y Strick, 2018). Sin embargo, la participación de los GB se hace evidente en tareas en las que el organismo requiere de la producción motora; la cinética, el ritmo, la secuencia, la intensidad y la frecuencia del movimiento son aspectos del movimiento coordinados por núcleos específicos de este conjunto

de estructuras (Herrero et al., 2002) que pese estar relacionados muestran tipos de actividad bien diferenciados.

### Figura 1. Componentes estructurales de los Ganglios basales

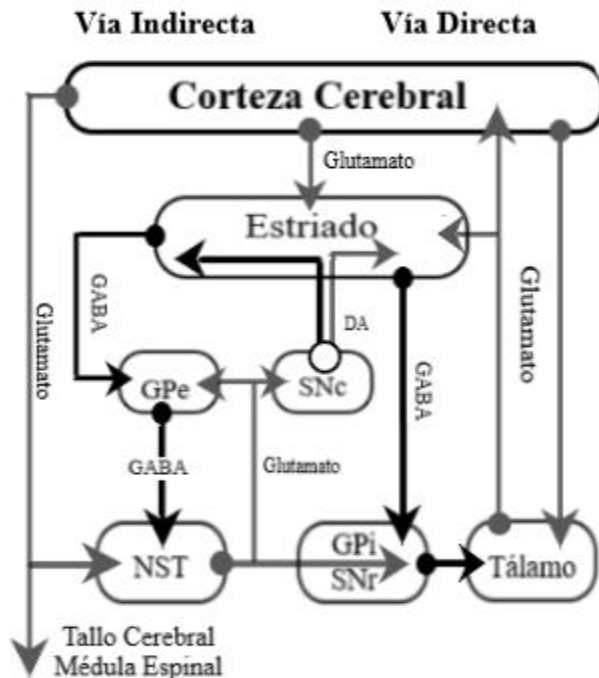
Se muestra un esquema de la organización estructural de los ganglios basales. Desde su posición lateral es posible observar a los cuatro núcleos principales: Núcleo caudado, Núcleo accumbens, Putamen y Núcleo subtalámico.

Modificado de: Krebs, Weinberg y Akesson (2012).



Conformados por el *Estriado* (Caudado y Putamen), el *Globus Pallidus* (segmento lateral [GPl] y segmento medial [GPm]), el *Núcleo Subtalámico* [NST] y la *Substancia Nigra* (pars reticulada [SNr] y pars compacta [SNc]). Estos núcleos, junto con el Cerebelo, el Tálamo superior y la Corteza frontal regulan la vía piramidal primaria del movimiento (Álvarez et al., 2001). Y, además, consolidan el principal sitio de relevo en el procesamiento de la información, donde por la cantidad de aferencias glutamatérgicas de la corteza y el tálamo, el núcleo estriado juega un papel fundamental, tanto por su fisiología como por su papel en los procesos de excitación e inhibición del acto motor (Bostan y Strick, 2018).

De forma específica el estriado forma parte de dos vías que se encargan del procesamiento de la información en los GB (**Figura 2**): la **vía directa**; la cual engloba al núcleo estriado, el globo pálido y la sustancia nigra reticulada, y la **vía indirecta**; conformada por las conexiones que establece el estriado con el globo pálido externo, el núcleo subtalámico, el globo pálido interno y el tálamo (DeLong y Wichmann, 2007; Kandel et al., 2013). La activación de estas vías se traduce en efectos opuestos; por un lado la activación de la vía directa desinhibe la inhibición de las conexiones talámicas, favoreciendo la ejecución del movimiento. Y en el extremo opuesto, la activación de la vía indirecta se relaciona con la inhibición de la actividad de globo pálido externo y del núcleo subtalámico, inhibiendo la producción del movimiento. En conjunto, regulan la expresión motora y favorecen la ejecución respuestas adaptativas (Roseberry et al., 2016).



**Figura 2. Modelo de la vía directa y la vía indirecta en los ganglios basales**

Se muestran las estructuras que participan en el control y regulación del comportamiento motor, específicamente, se representan la dinámica de comunicación de la vía Directa y la vía indirecta que regulan el acto motor. Las flechas indican las conexiones que se establecen entre los núcleos de los ganglios basales; con la flecha delgada se muestra las conexiones glutamatérgicas excitatorias (**Glutamato**) y las flechas de color negro muestran las conexiones gabaérgicas inhibitorias (**GABA**). Las siglas de las distintas estructuras son las siguientes: (**GPe**) globo pálido externo, (**GPI**) globo pálido interno, (**SNc**) sustancia nigra compacta, (**SNr**) sustancia nigra reticulada y (**NST**) núcleo subtalámico. Modificado de: Bolam, et al. (2000).

Entre los circuitos regulados por los GB se cuentan: el **Circuito motor**; que programa, inicia y ejecuta el movimiento. El **Circuito oculomotor**; que dirige y regula los movimientos de los ojos. El **Circuito prefrontal dorsolateral**; involucrado con los procesos cognitivos (memoria espacial). El **Circuito orbitofrontal lateral**; caracterizado por participar en los procesos de adaptación conductual, y el **Circuito límbico**: el cual asocia el movimiento con la motivación y la emoción (Purves et al., 2004; Ospina et al., 2017). El estudio de estos circuitos resulta crucial para comprender la neurodegeneración ocasionada por enfermedades como el Parkinson, la enfermedad de Huntington o el Alzheimer, donde la afectación anatómica y fisiológica de los componentes estructurales de los GB, conduce de forma progresiva a la manifestación de cuadros clínicos caracterizados por disfuncionalidad motora, un acelerado deterioro cognitivo (Hanssen et al., 2019), e incluso, el desarrollo de desórdenes emocionales y/o psiquiátricos (Andres y Darbin, 2018).

## 1.6 Núcleo estriado

Como se ha mencionado con anterioridad, el núcleo estriado es la principal vía de entrada y salida de información de los ganglios basales. Esta estructura está compuesta por el caudado y el putamen, y es entendida como la zona en las que se concentran la mayor parte de aferencias corticales y subcorticales del encéfalo (Roseberry et al., 2016).

Cerca del 95% de las neuronas que componen al estriado son neuronas espinosas medianas (MSNs por sus siglas en inglés) y dentro de sus funciones principales destaca el mantenimiento de la actividad basal de los ganglios basales en la ejecución y control del movimiento. De naturaleza GABAérgica, las MSNs únicamente son activadas por excitaciones (eferencias glutamatérgicas) provenientes de la corteza motora y otras regiones del cerebro, por lo que actúan como un punto de relevo de la información proveniente de diversos circuitos neuronales. Esta propiedad permite que el estriado sea considerado uno de los principales núcleos inhibitorios del SNC; donde las MSNs fungen como neuronas de proyección, siendo la principal vía de salida de la información del estriado y los GB. Una característica particular de estas neuronas es que se agrupan en árboles dendríticos que reciben la información proveniente de los axones de estructuras corticales, talámicas y del tronco encefálico, relacionándose con la actividad de la vía directa e indirecta del circuito cortico-estriatal (Bolam, et al. 2000; Bostan y Strick, 2018).

En este aspecto destaca el papel del estriado dorsal en la producción del movimiento; en esta área tiene origen la activación organizada y simultánea de las vías directa e indirecta de los ganglios basales, favoreciendo la ejecución del movimiento coordinado. Esta dinámica requiere de un equilibrio entre los periodos de actividad e inactividad de las redes neuronales que conforman a la vía cortico-estriatal. De lo contrario, la desorganización del circuito inevitablemente se traducirá en un pobre control del acto motor (Miranda, 2015). En el caso particular de las enfermedades neurodegenerativas, es posible observar que distintas estructuras de los GB muestran severas alteraciones anatómicas y fisiológicas. De forma particular se ha mencionado como el daño en las neuronas de proyección del estriado (MSNs) altera la actividad basal de esta zona interfiriendo con los circuitos de inhibición del movimiento involuntario, lo que se traduce en una planificación y ejecución anormal del movimiento (Hanssen et al., 2019).

## 1.7 Comunicación neuronal y transmisión sináptica

Cabe señalar que cada estructura del cerebro es producto de un proceso de organización el cual tiene su origen en la secuencia de desarrollo y maduración de cada organismo. La consecuencia directa de esta organización estructural es la conformación de complejos circuitos de comunicación; los cuales al mismo tiempo tienen su base en la transmisión y comunicación sináptica. Las neuronas y las células de la glía son las encargadas de desempeñar dicha tarea y con ello consolidar las bases del comportamiento; en el primer caso, las neuronas son la unidad básica funcional del procesamiento de la información por lo que asumen la dirección de los mecanismos fisiológicos que dan paso a la conducta y la cognición. Mientras que las células gliales son las responsables del soporte energético de las neuronas y en casos específicos facilitan la conducción de estímulos ante una lesión (Moreno y Moreno, 2005).

Es necesario precisar que la comunicación neuronal tiene su base en la sinapsis. Entendida como el sitio de intercambio de información entre dos o más neuronas, la sinapsis es un intercambio electroquímico donde el neurotransmisor de una neurona presináptica es liberado y procesado de manera secuencial en la termina postsináptica. Este intercambio favorece un intercambio de iones ( $\text{Ca}^{+2}$ ) a través de la apertura o cierre de canales dependientes del voltaje ubicados en la membrana de la neurona (Haines y Terrell, 2018), que genera en consecuencia la polarización y despolarización de la membrana celular en un corto periodo de tiempo.

La activación simultánea de múltiples sinapsis se traduce en la inhibición o excitación de respuestas específicas, propiedad que capacita al SN para procesar grandes conjuntos de información y generar respuestas complejas en cortos periodos (Moreno y Moreno, 2005; Mihailoff y Haines, 2018). Por último, cabe señalar que la sinapsis depende de tres condiciones generales: 1) las propiedades de membrana de la célula (por ejemplo, permeabilidad, polaridad, umbral de respuesta, porosidad, etc.), 2) la relación del gradiente electroquímico en los espacios intra y extracelulares (niveles de Ca, K, Cl, MG, etc.) y 3) la modulación de los canales presentes en la membrana celular. De esta manera la información es seleccionada y en función de la intensidad del estímulo y la complejidad de las moléculas presentes en el espacio sináptico el estímulo nervioso puede ser amplificado o inhibido (Dwyer, 2018).



## 2. PLASTICIDAD CEREBRAL

### 2.1 Aspectos generales de la plasticidad cerebral

Definida como la capacidad del cerebro para adaptarse a los cambios; la plasticidad cerebral es el producto de la interacción del individuo con el medio ambiente. Cambios fisiológicos y/o estructurales en las vías de comunicación neuronal que subyacen al comportamiento, caracterizan a la plasticidad neuronal como un fenómeno que le permite al cerebro una reorganización funcional de la conectividad celular. Y que, en consecuencia, favorece la supervivencia y adaptación de un organismo (Machado, et al., 2008). En este proceso, el cerebro establece las bases de los circuitos de comunicación que, sumados a la experiencia, dirigirán y modularán el comportamiento en diversas etapas del desarrollo (Rebolledo, 2003). Siendo el precedente de procesos como el aprendizaje y la memoria; en los cuales los cambios funcionales y estructurales del sistema nervioso prevalecen a lo largo de la vida de un organismo e impactan su desarrollo biológico y psicológico (Morgado, 2005).

Como se ha mencionado, la plasticidad cerebral forma parte del sustrato del cambio conductual; la sensibilización y la habituación son ejemplos claros de formas de respuesta que pueden ser entrenadas y/o aprendidas con la estimulación repetida, en ambos casos formas de aprendizaje esenciales para la supervivencia de cada organismo. Sin embargo, aunque la plasticidad cerebral tiene origen con el neurodesarrollo, esta puede ocurrir en cerebros maduros en distintas etapas de la vida y se establece en función de necesidades adaptativas, o bien, cuando una o varias estructuras sufren alguna lesión. En ambos casos tiene lugar una serie de modificaciones anatómicas y/o fisiológicas que prevalecen a corto y largo plazo, donde es posible observar cambios extensos en las vías transmisión sináptica pero una pobre capacidad de regeneración neuronal, tanto en encéfalo como en la medula espinal (Purves et al., 2004). En adición a esto, aunque la plasticidad neuronal ocurre bajo condiciones muy específicas, se han descrito una serie de mecanismos que subyacen a las modificaciones estructurales y funcionales que pueden ser observadas en los circuitos de comunicación neuronal. Entre los mecanismos mejor conocidos se encuentran: *ramificación o sinaptogénesis reactiva, supersensibilidad sináptica, neurotransmisión por difusión no sináptica, acción de factores tróficos, regeneración de fibras, acción de neurotransmisores y la potenciación a largo plazo* (Aguilar, 2003).

Es necesario señalar que la plasticidad neuronal puede ser clasificada en función de los cambios observados en la comunicación sináptica; en parte son consideradas las modificaciones anatómicas observadas en una estructura determinada o un grupo de neuronas. Por otro lado,



se analizan los cambios registrados en la respuesta electrofisiológica de un grupo determinado de neuronas. Esto hace posible clasificar a los procesos plásticos en dos grupos: 1) la plasticidad estructural, que se traduce en el cambio anatómico de terminaciones dendríticas y/o las prolongaciones axónicas de una estructura en particular. Por ejemplo, adaptaciones de la citoarquitectura de distintas clases de neuronas en zonas como el hipocampo (Carasatorre et al., 2016) y el cerebelo (González et al., 2017) producto del entrenamiento conductual. Y 2) la plasticidad sináptica, que es entendida como una serie de cambios en la fisiología de grupos de neuronas, provocado por la acción farmacológica o la experiencia, en el que aspectos como la dinámica de liberación y procesamiento de moléculas de neurotransmisor (Garcés y Suárez, 2014), la apertura o cierre de canales iónicos (Neher y Brose, 2018) o la expresión de canales de membrana (Nanou y Catterall, 2018), puede ser observado al analizar una vía de comunicación neuronal.

En el caso del acto motor, se sabe que es gracias a la interacción entre estas dos clases de plasticidad que los circuitos del movimiento, por medio de la expresión genética de diversas proteínas, permiten modular el almacenamiento y la integración de información referente al aprendizaje de patrones motores, la ejecución del movimiento y su regulación (Chéron, 2018).

## **2.2 Bases fisiológicas de la plasticidad sináptica**

La plasticidad sináptica tiene su base en el principio de reforzamiento de Hebb; en el cual se establece que, la conexión entre dos neuronas (presináptica y postsináptica) se verá reforzada, si y solo si, estas interactúan en un mismo periodo de tiempo en un número repetido de veces, y además de ello, son sometidas a condiciones de estimulación constantes (Roig et al., 2013). En este proceso, los neurotransmisores, a través del acoplamiento selectivo con receptores específicos, facilitan la extinción o el reforzamiento de respuestas de todo tipo. Por ejemplo, en el caso de la conducta motora, los circuitos conformados por la acetilcolina (ACh), que actúa sobre receptores muscarínicos (M1-4) y receptores acoplados a la proteína G (GPCRs) en el hipocampo. Así como, por la dopamina (DA) que actúa sobre los GPCRs (familias D1 y D2) en las proyecciones del estriado al área ventral tegmental, resultan de vital importancia para el aprendizaje motor y el desarrollo de distintos tipos de plasticidad sináptica (Palacios y Mellor, 2019).

No obstante, más allá de la regulación que los neurotransmisores ejercen sobre la actividad sináptica, se destaca el papel que juegan los receptores ubicados en la membrana celular sobre el mantenimiento y desarrollo de los procesos de plasticidad a corto y largo plazo. Cambios en

la probabilidad de liberación del neurotransmisor, la expresión/internalización de canales dependientes de voltaje y cambios en la conductancia de la membrana provocados por la fosforilación/de-fosfoliración de receptores (Huganir y Nicoll, 2013; Diering y Huganir, 2018), son parte de efectos fisiológicos que pueden ser observados en procesos de plasticidad sináptica, en los que destaca el papel de los receptores NMDA y AMPA en el desarrollo de procesos adaptativos como la expresión de dendritas, modificaciones axonales o la neurogenesis que se conservan por largos periodos de tiempo (Nishiyama, 2019).

Sistemas de neurotransmisión como el **sistema glutamatérgico** (Glu) que actúa sobre receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) y el **sistema GABÁérgico** (GABA), se relacionan de forma directa con el nivel de excitabilidad de la corteza cerebral y regiones subcorticales. En presencia de neuromoduladores, estos sistemas dirigen la formulación de programas motores y regulan su ejecución (Hernández-Muela et al., 2004). La actividad -normal o patológica- de estos circuitos es la responsable de aspectos como: el mantenimiento de la comunicación sináptica, el desarrollo de distintos tipos de aprendizaje y memoria (Córdoba et al., 2010), la ejecución de programas motores, cognitivos y emocionales con la activación del circuito de motivación- recompensa (Todorova y Blokland, 2017), el desarrollo de desórdenes neurológicos o psiquiátricos (Karpova, 2014), así como con la génesis, diferenciación y regeneración de conexiones neuronales en diversas áreas del cerebro (Panja y Bramham, 2014).

Los receptores NMDA y los AMPA destacan por su papel en los procesos de plasticidad a largo plazo (Chéron, 2018; Huganir y Nicoll, 2013; Nishiyama, 2019; Prius, 2019). En los que modificaciones postraduccionales de la maquinaria neuronal, conforman el sustrato fisiológico de procesos como el aprendizaje y la memoria. La estimulación repetida a alta frecuencia de terminales presinápticas y postsinápticas, fortalecen circuitos de comunicación neuronal, la potenciación o el decremento mantenido de la trasmisión sináptica depende directamente de factores como el historial de actividad neuronal y los mecanismos postraduccionales intracelulares que median la expresión de proteínas de membrana (Purves et al., 2004).

### **2.3 Potenciación a largo plazo (LTP) y Depresión a largo plazo (LTD)**

Por su relevancia en el mantenimiento de la conducta los procesos de plasticidad a largo plazo requieren de especial atención, por lo que es necesario definirlos y caracterizarlos.

### *Potenciación a largo plazo (LTP)*

Caracterizada en la década de los 60 por los trabajos de T. Bliss y T. Lomo, la potenciación a largo plazo (LTP por sus siglas en inglés long term potentiation) es entendida como el aumento progresivo y mantenido de la transmisión sináptica de un grupo de neuronas producto de estimulación constante a alta frecuencia (HFS por sus siglas en inglés high frequency stimulation). Regiones hipocampales CA1 y CA3, muestran una actividad muy particular cuando se producen distintas clases de memoria; en estos procesos se registra un incremento de la señalización neuronal que puede durar días o semanas. Y es atribuido a la sumatoria de potenciales postsinápticos excitadores (PPSE) de células postsinápticas, que ocurre tras la administración de estímulos breves y de alta frecuencia en estructuras como el hipocampo, el cerebelo, la amígdala y la corteza cerebral (Purves et al., 2004). Este mecanismo depende de condiciones como: el estado de actividad basal de la membrana celular, la convergencia temporal de la actividad de células presinápticas y postsinápticas, y la selectividad de las aferencias nerviosas en un grupo de neuronas (Hsieh et al., 2019).

En cuanto a su fisiología, recientemente se sabe que la LTP es producto de la interacción que existe entre el  $\text{Ca}^{+2}$  y los receptores a glutamato NMDAR y AMPAR/kainato ubicados en la postsinápsis. Se debe mencionar que ambos receptores a glutamato son sensibles a la concentración de  $\text{Ca}^{+2}$  intracelular y extra celular, pero solo los receptores NMDA dependen del voltaje, por lo que de su actividad depende el desarrollo de los procesos de plasticidad; en condiciones de reposo, la actividad de la membrana postsináptica es regulada por el ion  $\text{Mg}^{+2}$  que se encuentra unido al receptor NMDA lo cual impide la entrada del  $\text{Ca}^{+2}$  extracelular liberado en la presinápsis e inhibe la conducción del impulso nervioso. Sin embargo, cuando se aplica voltaje, el receptor NMDA ubicado en la postsinápsis libera el ion  $\text{Mg}^{+2}$ , favoreciendo la entrada masiva de  $\text{Ca}^{+2}$  liberado en la presinápsis al espacio intracelular de la célula postsináptica, favoreciendo la despolarización de la membrana y permitiendo la conducción del impulso nervioso. Este incremento en la concentración de  $\text{Ca}^{+2}$  en las terminales dendríticas de las células postsinápticas induce a la activación de las vías calmodulina cinasa (CaMKII) y proteína cinasa C (PKC) que, con el acoplamiento de glutamato a los NMDA, genera la LTP. Se debe señalar que una vez inducida la LTP, el aumento en la expresión de CaMKII y PKC induce la expresión de los receptores AMPA en la postsinápsis, lo cual incrementa la sensibilidad a glutamato y mantiene a la LTP inducida (Purves et al., 2004; Warburton et al., 2013; Bronfman et al., 2014; Deinhardt y Chao, 2014; Mitre et al., 2017).

### *Depresión a largo plazo (LTD)*

Ahora bien, otro mecanismo que complementa la activación selectiva de procesos de plasticidad sináptica es la depresión a largo plazo (LTD por sus siglas en inglés long term depression). Si bien la LTP se caracteriza por el incremento mantenido de la transmisión sináptica, la LTD se caracteriza por el decremento sostenido de la actividad sináptica en grupos neuronales producto de la estimulación de baja frecuencia (LFS por sus siglas en inglés low frequency stimulation). La estimulación breve durante periodos prologados de tiempo en neuronas activas, genera cambios en la actividad de circuitos neuronales que al sincronizarse reducen la actividad de los PPSE por varias horas. De hecho, el efecto de la LTD puede contrarrestar o revertir la sobre activación de los PPSE que caracterizan a la LTP (Purves et al., 2004).

En cuanto a los mecanismos pre y postsinápticos que posibilitan el desarrollo de la LTD, se debe señalar que el decremento en la transmisión sináptica es mediado por la activación de los receptores a glutamato NMDA y AMPA/kainato. Al igual que con la LTP, la relación que existe entre los niveles de  $Ca^{+2}$  intracelular y extracelular, así como la actividad basal de los NMDA en la membrana posináptica, forman parte del mecanismo celular que da paso a la LTD. No obstante, el responsable del desarrollo de la LTD o la LTP es el  $Ca^{+2}$ , específicamente, la cantidad de  $Ca^{+2}$  que entra a la postsinápsis: con la aplicación de HFS se promueve la entrada masiva de  $Ca^{+2}$ , lo que conduce al incremento de la actividad sináptica y con ello el desarrollo de LTD. Sin embargo, la LFS provoca pequeños incrementos en la concentración de  $Ca^{+2}$ , que al ser graduales provocan el decremento de la actividad sináptica generando la LTD. De hecho, los incrementos leves de  $Ca^{+2}$  en la postsinápsis provocados por la estimulación breve y prolongada se traducen en la expresión de fosfatasa dependientes de calcio como, la PP2B (Miranda, 2015), las cuales inhiben la expresión de la CaMKII e inducen la endocitosis de los AMPAR, disminuyendo la excitabilidad de las neuronas postsinápticas y a largo plazo disminuyendo la actividad sináptica (Purves et al., 2004; Nicholson y Kullmann, 2014; Dupuis et al., 2014; Sibarov y Antonov, 2018).

Finalmente, respecto a ambos procesos se debe decir que el desarrollo tanto de LTP como de LTD, requiere de la sincronización de diversos factores, que pueden ser resumidos en: el estado de actividad de la membrana postsináptica, la concentración y el tipo de incremento de calcio en la postsinápsis, y participación de circuitos intracelulares conformados por cadenas de segundos mensajeros como los con la CaMKII, la fosforilación de PKC y la expresión de

fosfatasas (Citri y Malenka, 2008). En adición a esto, se debe mencionar que ambos tipos de plasticidad, al ser complementarias, varían en función de la estructura encefálica e incluso pueden presentarse de forma secuencial en función del desarrollo. Por ejemplo, en estructuras como el hipocampo es posible observar una LTD temprano en el desarrollo, no obstante, en etapas posteriores este tipo de plasticidad da paso a una LTP, lo que indica que ambos procesos tienen lugar en función de las necesidades adaptativas del cerebro y de la secuencia de maduración fisiológica de cada estructura del cerebro (Prius, 2019). Por lo que debe dejarse en claro que, aunque la base fisiológica para ambos procesos plásticos resulta ser la misma, en cada estructura la potenciación o la depresión de la señal sináptica posee funciones bien diferenciadas.

#### **2.4 Plasticidad sináptica en el núcleo estriado**

Como se ha mencionado en apartados anteriores, el núcleo estriado es considerado como el principal sitio de relevo de la información proveniente de la corteza cerebral. Por lo que su actividad suele estar asociada con la regulación e inhibición de la conducta voluntaria, explícitamente el acto motor (Purves et al., 2004). En lo que concierne a su fisiología se ha mencionado que el núcleo estriado expresa distintos tipos de plasticidad. Sin embargo, al tratarse de un núcleo conformado aproximadamente por un 95% de neuronas espinosas medianas (MSNs) de naturaleza GABAérgica y susceptibles a la regulación dopaminérgica, en condiciones control ante la administración de LFS y HFS, la LTD es el tipo de plasticidad más común en este núcleo regulador. Es a través de la modulación ejercida por los receptores a dopamina D1 y D2, que esta estructura posee la capacidad de inhibir las sinápsis glutamatérgicas que son activadas cuando el aprendizaje motor tiene lugar, y en su lugar, participar en el silenciamiento selectivo de diferentes corrientes excitatorias (Calebresi et al., 1992<sup>1</sup>; Calebresi et al., 1992<sup>2</sup>). En este punto es necesario mencionar que la plasticidad en el estriado, al igual que en otras áreas del cerebro, depende de factores como la concentración de iones, los receptores de membrana y la relación entre mecanismos presinápticos o postsinápticos, de forma particular destaca el papel que receptores como los NMDA ejercen sobre la entrada y salida de  $Ca^{+2}$  en la postsinápsis. Sin embargo, debe añadirse también que en el caso específico de la LTD estriatal, se ha reportado que existen otros receptores y sistemas de neurotransmisión asociados al mantenimiento de la LTD. Entre ellos canales dependientes de voltaje de tipo L que permiten la entrada de  $Ca^{+2}$  en la postsinápsis facilitando la expresión de endocannabinoides. La expresión de endocannabinoides regula de forma retrograda la

liberación de neurotransmisor en la presinápsis, que en consecuencia induce al decremento de  $\text{Ca}^{+2}$  en la postsinápsis manteniendo el decremento de la respuesta sináptica (Miranda, 2015).

En cuanto a la LTP en el estriado, se sabe que esta ocurre cuando la HFS coincide con la despolarización de la membrana postsináptica; la entrada masiva de  $\text{Ca}^{+2}$  en la postsinápsis - como se ha explicado- promueve la activación de receptores del tipo NMDA, que, en consecuencia, aumentan la excitabilidad de la membrana postsináptica y favorecen la transmisión sináptica. En este proceso, se ha descrito que el aumento de AMPc promueve la expresión de PKA, vía de señalización relacionada con la forfoliración de receptores como los NMDA, que al activarse facilitan la entrada de calcio extracelular en la postsinápsis. No obstante, se ha mencionado que, aunque la LTP en la vía cortico-estriatal podría ser importante para el desarrollo motor, a diferencia de la LTD, este tipo de plasticidad en el estriado resulta anormal, ya que ocurre con mayor frecuencia en casos en los que existen alteraciones metabólicas y fallas en la comunicación neuronal (Calabresi et al., 1992<sup>1</sup>; Charpier y Deniau, 1997; Calabresi et al., 1997). Esto indica que, aunque ambos tipos de plasticidad son posibles en la fisiología del estriado, la LTP en particular es un síntoma de la desorganización sináptica, y está implicada en el desarrollo de distintas neuropatologías.

### 3. EFECTOS DEL RESVERATROL (RVTL) EN LA ACTIVIDAD SINÁPTICA

#### 3.1 Antioxidantes y polifenoles: el resveratrol (RVTL)

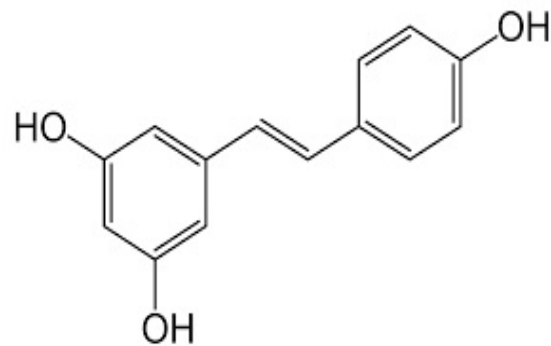
Si bien los factores tróficos (neurotrofinas) son esenciales para la regulación y diferenciación de los procesos de comunicación neuronal, trabajos recientes señalan que existen moléculas de origen natural que muestran una amplia gama de aplicaciones en el tratamiento de distintas patologías. En particular, se ha destacado el papel de los antioxidantes en la protección del organismo ante la producción de especies reactivas de oxígeno (EROS). Por ejemplo, sabe que el estado de homeostasis celular depende de un delicado equilibrio entre los sistemas producción energética y los mecanismos de protección antioxidante. Y aunque la producción de radicales libres (EROS) es un efecto natural del desarrollo y la vida del organismo, el estrés oxidante resulta ser una amenaza para la estructura y el correcto funcionamiento celular, siendo el responsable de la pérdida del equilibrio homeostático (Coronado et al., 2015). Caracterizado por la sobre producción de radicales libres, el estrés oxidativo puede ser entendido como una reacción en cadena; en esta el radical libre -que en realidad es un elemento altamente reactivo- roba un electrón de una molécula estable, la cual al perder el equilibrio de cargas se convierte en un nuevo radical libre el cual tendera a repetir la acción. Es así como esta reacción en cadena genera una desorganización anatómica y fisiológica, que tiene origen en el daño molecular y avanza hasta provocar fallas generalizadas en tejidos y órganos (Avello y Suwalsky, 2006).

Originado por varios factores, el estrés oxidativo conduce a una degradación proteica crónica, favoreciendo el desarrollo de diversas patologías como lo son la enfermedad de Alzheimer, el Parkinson, la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA), demencia vascular, enfermedad de Huntington, etc. Sin embargo, en todos los casos se ha observado que en distintos modelos que inducen la patología, antioxidantes fenólicos resultan altamente efectivos para frenar el daño provocado por el estrés oxidante, así como para prevenir el desarrollo de las alteraciones moleculares propias de la neurodegeneración (Hajieva, 2017; Dal-Pan et al., 2017; Harkous, 2019).

Ahora bien, dentro de los polifenoles más explorados en cuanto a sus efectos benéficos para el organismo se encuentra el resveratrol (RVTL); las propiedades de esta molécula pueden ser observados en varios sistemas del organismo, mostrando un efecto protector y antioxidante en casos de enfermedades cardiovasculares (ECV) (Vinet et al., 2015; Higuera, 2016),

intoxicación por metales pesados (Méndez et al., 2020), el tratamiento de trastornos metabólicos y el sobrepeso (de Paula et al., 2018), cáncer, específicamente por su efecto sobre el crecimiento tumoral (Sancho y Mach, 2015; Fan et al., 2018), diabetes (Tian et al., 2016), deficiencias cognitivas y conductuales (Gomez et al., 2016), así como enfermedades neurodegenerativas (Pallas et al., 2009; Pallas et al., 2013; Kathick et al., 2016). Por esta razón se considera que el RVTL puede ser tomado en cuenta como un tratamiento viable para varias de estas enfermedades, pero de forma particular para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, no solo por su potencial activo sino porque -a diferencia de otros tratamientos- puede ser introducido en la alimentación cotidiana; ya que se encuentra presente en alimentos como el vino, uvas, moras y varios tipos de nueces (Mohan, et al., 2018; Abreu et al., 2018; Ramírez et al., 2018; Navarro et al., 2018).

Especialmente se ha reportado este antioxidante participa en los procesos de recuperación y protección de la actividad neuronal; al poseer la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica (Floyd, 1999), el RVTL empleado como pretratamiento o tratamiento en modelos de neurodegeneración posee la capacidad de reestablecer la actividad sináptica normal de las zonas dañadas e incluso de forma indirecta interrumpir las vías de señalización que conducen a la apoptosis neuronal (Carvalho et al., 2017).



**Resveratrol (RVTL)**

Así pues, el estudio de este fármaco resulta de vital importancia para el tratamiento del deterioro estructural, fisiológico y cognitivo producto de la neurodegeneración (Galiniak et al., 2019). Por otro lado, debe señalarse que, aunque la mayoría de los estudios -realizados in vivo o in vitro- se han centrado en el análisis de los efectos del RVTL sobre el organismo y han demostrado efectos benéficos para la salud, no se posee información clara sobre el cómo los metabolitos producto de la molécula de RVTL se relacionan con mecanismos celulares (Pannu y Bhatnagar, 2019), y en el caso de cerebro, como es que esta molécula posee la capacidad de modular la actividad neuronal.



### 3.2 Participación del resveratrol (RVTL) en la modulación sináptica y proceso de plasticidad neuronal

Dentro del SNC, la acción del RVTL ha sido señalada principalmente en regiones como el hipocampo, el cerebelo y la corteza cerebral, zonas en la que esta molécula muestra un comportamiento neuroprotector y en las que ha sido observado un decremento en el número de muerte neuronal en diversos modelos de neurodegeneración que indiquen el estrés oxidante. Dentro de las observaciones conductuales y cognitivas se ha observado que el RVTL posee la capacidad de mejorar el desempeño de sujetos adultos en tareas de memoria y organización espacial por lo que es sugerido como una agente que retrasa el deterioro cognitivo a consecuencia de la edad o el daño crónico (Sarubbo et al., 2015), así como un promotor de la neurogénesis hipocampal en el adulto (Torres et al., 2015).

La mayoría de los efectos observados del RVTL sobre el sistema nervioso han sido atribuidos a la posible participación de los receptores SIRT1 en la dinámica neuronal. Se ha demostrado que en presencia de antioxidantes polifenólicos, la expresión génica de SIRT1 es modulada, favoreciendo que procesos como la neurogénesis y disminuyendo el deterioro neurológico (Liu et al., 2016). Por ejemplo, en estudios realizados con ratas que muestran deterioro cognitivo avanzado producto de la edad, así como una baja expresión de los receptores SIRT1, se ha observado que con la administración de antioxidantes polifenólicos como la catequina, esta tendencia al decremento en la expresión de SIRT1 es revertida, así individuos que han sido tratados con el antioxidante muestran una mejora en el desempeño cognitivo (Ladesma, 2018). Este efecto también ha sido observado en modelos en los que el RVTL ha sido administrado. Por ejemplo, para la enfermedad de Alzheimer, se ha observado que en sujetos experimentales a los que se les ha inducido un daño crónico para emular la fisiopatología de la enfermedad. Mostraron un incremento en la expresión de receptores SIRT1 cuando les fue administrado RVTL vía intraperitoneal. Lo cual se traduce en la mejora de su desempeño en tareas de memoria y que requieren del procesamiento cognitivo (Ma et al., 2019).

Ahora bien, aunque la expresión de SIRT1 es entendida como una consecuencia directa del tratamiento con RVTL, estudios recientes señalan que a su vez estos efectos pueden estar modulados por otros receptores, específicamente receptores típicamente asociados con los procesos de plasticidad cerebral; los NMDA. Se ha reportado que los NMDA son en conjunto una amplia familia muestra afinidad por la señalización glutamatérgica y que de forma directa modulan la entrada y salida de  $Ca^{+2}$  en la sinapsis. Responsables de la generación de mecanismos de plasticidad como la LTD o la LTP los NMDA, se activan en presencia de

antioxidantes como el RVTL, favoreciendo el restablecimiento de la conectividad neuronal una vez que se ha producido el daño neurológico (Hsieh et al., 2019). No obstante, hay evidencia que señala que los efectos del resveratrol son poco predecibles ya que su acción varía dependiendo de su concentración y la vía de administración. Por un lado, se ha demostrado que puede llegar a mediar procesos de plasticidad y en sentido contrario ciertos estudios revelan que su administración directa sobre estructuras cerebrales puede conducir a efectos patológicos, específicamente la activación de vías de señalización apoptóticas en cultivos celulares (Días et al., 2016; Fan et al., 2018).

## 4. ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

### 4.1 Etiología de la Enfermedad de Huntington

Hoy en día el estudio de los procesos neurodegenerativos patologías como el Alzheimer, el Parkinson y la enfermedad de Huntington, ha cobrado importancia; buscando dilucidar como es que tienen su origen y cuáles son sus características principales, se ha encontrado que un común detonador de estas enfermedades se localiza en una falla mitocondrial inducida por agentes oxidantes (estrés oxidativo) (Hernández-Espinosa et al., 2019), los cuales ante la disminución de los mecanismos antioxidantes y el aumento en la expresión de especies reactivas de oxígeno conducen a la muerte temprana de neuronas (Martínez, et al., 2010; Hernández et al., 2019). En el caso particular de la enfermedad de Huntington se pueden observar alteraciones en la dinámica mitocondrial, específicamente, en los procesos de fisión y fusión mitocondrial, encargados de la producción energética. Y aunque en primera instancia la descompensación energética es soportada por la biogénesis mitocondrial, conforme la enfermedad evoluciona se produce una deficiencia energética generalizada (Miranda et al., 2013; Levin y Godukhin, 2017; Cherón, 2018; Alarcón et al., 2019; Bello et al., 2019)

La enfermedad de Huntington (EH) exhibe características muy particulares que deben ser explicadas con mayor detenimiento. En primer lugar, debe señalarse que se trata de una enfermedad autosómica dominante caracterizada por la producción de movimientos involuntarios, alteraciones en la ejecución del acto motor voluntario y desarrollo de alteraciones cognitivas con tendencia al deterioro (Cepeda et al., 2003; Martínez, et al., 2010). Al tratarse de una enfermedad hereditaria, la enfermedad de Huntington es atribuida a una mutación en el gen que codifica para la proteína huntingtina (Htt), originando agregados intracelulares de Htt-mutada. Estos agregados celulares-producto de la expresión repetida de CAG- conducen a las neuronas a procesos de gliosis, déficit energético, reducción en la síntesis y liberación de factores tróficos (neurotrofinas), y estrés oxidativo (Tasset et al., 2009). Cabe señalar que esta enfermedad afecta principalmente a estructuras mediales del cerebro, específicamente, al núcleo estriado; el cual al ser la principal fuente de entrada y salida de información de la corteza sufre una desorganización de los circuitos de comunicación neuronal configurados por Neuronas Espinosas Medianas GABAérgicas (95% de MSNs) e interneuronas (<5%), las cuales muestran cambios en su actividad de membrana en condiciones basales y alteraciones en los sistemas de liberación y recaptura de  $Ca^{+2}$ . Generando en consecuencia una pérdida de la capacidad inhibitoria y excitatoria del estriado sobre el acto

motor (Cepeda, et.al.,2003; Ariano et al., 2005; Hernández-Echeagaray, 2010). Es así como esta desorganización en el procesamiento de la información se traduce en un síndrome de desconexión en el que la regulación cortico-estriatal se deteriora de forma gradual como el que es observado en otras enfermedades (Súarez et al., 2014).

#### **4.2 Deterioro conductual y cognitivo en la enfermedad de Huntington**

Como se ha mencionado con anterioridad, la enfermedad de Huntington se caracteriza por un deterioro progresivo de los ganglios basales, lo que conduce a la manifestación de cuadros clínicos caracterizados por la aparición de trastornos motores: síndrome coreico, distonía, trastornos posturales, disartria, problemas para la deglución, etc. son parte de los síntomas más reportados conforme avanza la enfermedad (Kandel et al., 2013).

Sin embargo, trastornos psiquiátricos y conductuales (cambios abruptos de personalidad, depresión, aparición de síntomas psicóticos, etc.) alteraciones cognitivas (problemas de organización espacial, alteraciones en el lenguaje, escritura y lectura, alteraciones atencionales, de memoria, etc.) aparecen conforme la enfermedad evoluciona (Arango et al., 2003). De forma específica las alteraciones se localizan en áreas como atención y concentración, aprendizaje y memoria, lenguaje, percepción y funciones ejecutivas. No obstante, una de las áreas en las que es posible observar mayor afectación, después del área motora, es en el lenguaje; problemas para articular oraciones largas, procesar información, flexibilidad de procesamiento, comprensión oral y escrita, así como, como la articulación y ejecución de oraciones complejas (Caramago et al., 2017). En ese sentido el estudio de los efectos del resveratrol sobre la fisiología del núcleo estriado durante la EH adquiere sentido, ya que como se ha mencionado en los antecedentes, el resveratrol ha mostrado ser un agente que favorece la plasticidad sináptica en estructuras como el hipocampo y los ganglios basales (Tian, et al., 2016; Dias et al., 2016) incluso cuando se presentan las alteraciones características de la enfermedad.

#### **4.3 Modelos neurodegenerativos de la enfermedad de Huntington**

Finalmente hay que señalar que para el estudio de la neurodegeneración se han elaborado diversos modelos farmacológicos que permiten emular las condiciones fisiopatológicas de la enfermedad (Túnez et al., 2010). De los primeros tratamientos para emular esta enfermedad se encuentran; el tratamiento con ácido quinolínico o el ácido iboténico (IBO), quienes resultan efectivos para emular las alteraciones neurofisiológicas de trastornos motores, específicamente de la enfermedad de Huntington (Lorigados et al., 2009; Modaberi et al., 2018).

Sin embargo, uno de los modelos que mejor imita la fisiopatología de dicha enfermedad es el del ácido 3-nitropropiónico (3-NP); éste compuesto al bloquear la enzima succinato deshidrogenasa (SDH) en el complejo II mitocondrial, provoca un déficit en la producción de ATP así como un incremento en la producción de EROS. Este cambio en el metabolismo celular conduce a las neuronas espinosas medianas (MSNs) a una deficiencia mitocondrial, generándose así muerte celular. Además, una de las ventajas del modelo de neurodegeneración por administración de 3-NP es justo su especificidad, ya que los efectos neurodegenerativos pueden ser observado principalmente en el estriado y su mecanismo de acción requiere de la administración crónica para que la sintomatología clásica de la enfermedad se presente (Rodríguez et al., 2010; Mendoza et al., 2014).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El resveratrol (RVTL) pertenece a una familia de polifenoles, que han sido ampliamente descritos por sus propiedades antioxidantes y por sus beneficios para la salud. En el caso de su papel en el mantenimiento celular y la recuperación de los sistemas de comunicación neuronal, se han reportado efectos positivos de su administración sobre poblaciones neuronales de áreas como el hipocampo y cultivos celulares que emulan circuitos de comunicación neuronal. Del mismo modo se han reportado los efectos de esta molécula en modelos de neurodegeneración que emulan patológicas como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, etc. Todas ellas caracterizadas por la aparición de síntomas fisiológicos, conductuales y cognitivos relacionados con la ejecución del comportamiento motor. Sin embargo, son pocos los ensayos en los que se haya evaluado el efecto de RVTL en áreas del cerebro como lo son los ganglios basales, específicamente el cuerpo estriado; las cuales desempeñan un papel fundamental en el procesamiento y ejecución de la información motora.

Por lo tanto, en este trabajo de tesis nos planteamos estudiar los efectos de Resveratrol en la modulación de la transmisión sináptica estriatal en el modelo de la enfermedad de Huntington inducida por la administración sistemática del ácido 3-nitropropionico (3-NP)

### 2.1 Hipótesis

La actividad sináptica de las aferencias glutamatérgicas cortico-estriatales serán moduladas por la acción del resveratrol.

### 2.2 Objetivo general

Evaluar los efectos neuroprotectores del resveratrol sobre la actividad plástica, así como su acción sobre la plasticidad sináptica en poblaciones de neuronas del núcleo estriado en un modelo de neurodegeneración la enfermedad de Huntington inducido por 3-NP.

### 2.3 Objetivos particulares

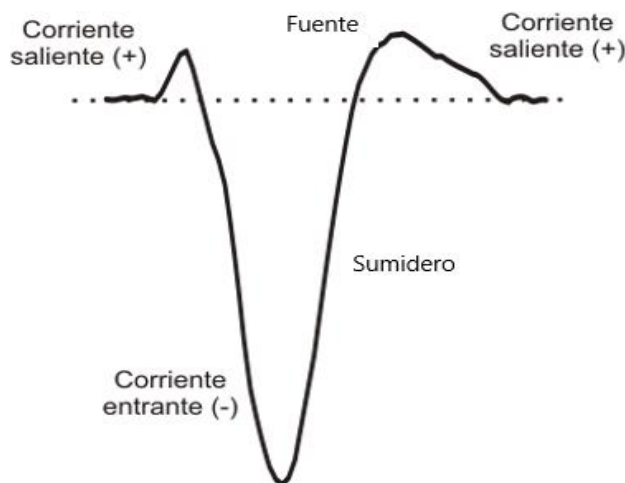
- Evaluar el efecto modulador del resveratrol en la actividad sináptica de las neuronas glutamatérgicas del núcleo estriado sano y en el modelo de la enfermedad de Huntington
- Evaluar la actividad glutamatérgica del núcleo estriado en un protocolo de estimulación de alta frecuencia en presencia resveratrol
- Evaluar los efectos del resveratrol sobre la actividad plástica de neuronas glutamatérgicas en un protocolo de estimulación de alta frecuencia en el modelo de neurodegeneración por 3-NP.

## CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

Para la realización de este trabajo se emplearon técnicas y protocolos específicos para el registro de la actividad sináptica a nivel poblacional, por ello el presente apartado muestra las bases teóricas de la metodología empleada.

### 3.1 Registro electrofisiológico de potenciales de campo

Para el presente trabajo se emplearon registros electrofisiológicos de campo para evaluar la actividad neuronal. Estos fueron obtenidos de la activación de respuestas sinápticas poblacionales producto de la estimulación eléctrica directa sobre el tejido cerebral, que al mismo tiempo generan corrientes iónicas sincrónicas asociadas a potenciales de acción de grupos neuronales; donde la amplitud de la respuesta es proporcional al número de células que disparan potenciales de acción de forma simultánea. Dentro de las características biofísicas de la espiga poblacional destacan el hecho de que se trata de una onda trifásica producto de la diferencia de corrientes entrantes activas (sumideros) y de corrientes salientes (fuentes), las cuales forman un circuito eléctrico. Las corrientes salientes se observan como deflexiones en campo positivo, mientras que las corrientes entrantes se visualizan como deflexiones negativas. En el caso de los registros de campo los componentes negativos hacen alusión a la despolarización (cambio de voltaje) de la membrana por el flujo de la corriente entrante (**Figura 3**; Johnston y Miao-Sint, 1995)



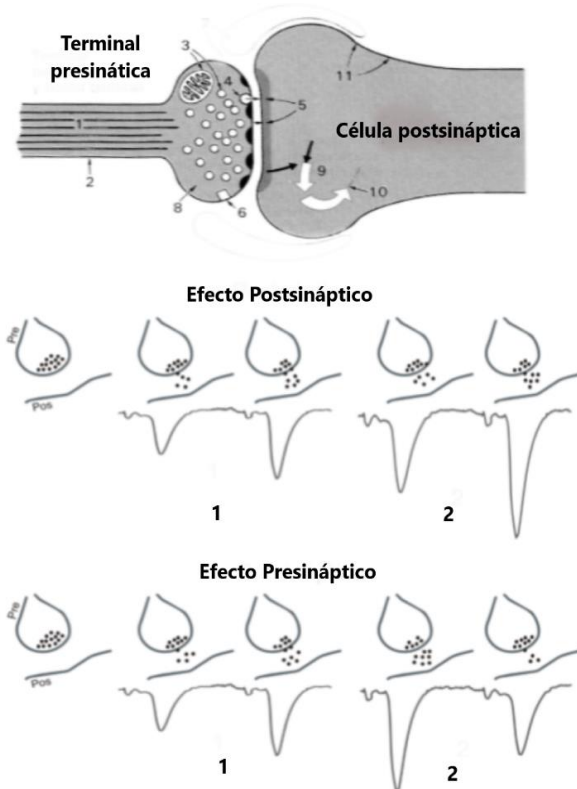
**Figura 3. Registro extracelular de campo**

Se muestra la onda trifásica que componen al potencial de campo. Como se ha mencionado el potencial de campo es una onda trifásica y muestra de forma gráfica la propagación de la corriente a lo largo de la neurona; dentro del campo el electrodo de registro detecta la onda de corriente (salientes) que provienen de la neurona, el cambio de corriente provoca un cambio de corriente -de positiva a negativa- en la membrana celular generando el fenómeno de despolarización (corriente entrante). Finalmente, de forma acelerada la corriente pasa de negativa a positiva, es decir, de corriente entrante a corriente saliente hasta llegar al punto de actividad basal. Modificado de: Johnston y Miao-Sint, 1995.

### 3.2 Protocolo de Pulso Pareado (PPP)

El PPP tiene como propósito evaluar los mecanismos que subyacen a la plasticidad sináptica, específicamente, como es que la respuesta neuronal está siendo mediada por procesos pre sinápticos o post sinápticos. Técnicamente, el PPP requiere de la estimulación constante de la respuesta poblacional neuronal; aplicándose dos estímulos de igual intensidad, pero separados entre sí por un breve periodo de tiempo (aproximadamente 50 ms) se producen dos respuestas (S1 y S2), las cuales son analizadas en función de su magnitud. El análisis de las respuestas se basa en el aumento o decremento en la amplitud de la respuesta sináptica poblacional, así como del cociente S2/S1, información que permite establecer el sitio (pre o post sináptico) en el que ocurre una reorganización de los mecanismos de liberación y/o recaptura de neurotransmisor.

Por ejemplo, el cambio en la relación S2/S1 indica que la diferencia en la amplitud de la respuesta es consecuencia de las activaciones de mecanismos presinápticos. Mientras que, la ausencia de variación en el cociente S2/S1 indica que los cambios observados en la respuesta son producto de mecanismos postsinápticos (**Figura 4**).



**Figura 4. Efectos farmacológicos diferenciales sobre la presinápsis y la postsinápsis en el protocolo de pulso pareado**

El siguiente esquema de la sinapsis, muestra el flujo de información desde la terminal presináptica hasta la postsinápsis. En esta zona ocurre la liberación de transmisor dependiendo de la concentración de  $Ca^{+2}$ . Los efectos sobre los mecanismos de liberación de neurotransmisor pueden ser observados en la parte inferior.

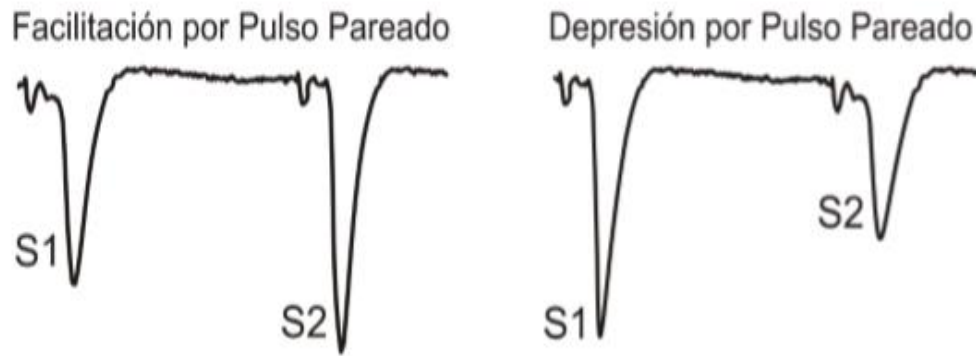
En el primer caso se representa el efecto postsináptico de "x" fármaco sobre la sinapsis; **1**) representa la actividad control y **2**) muestra el efecto farmacológico sobre la respuesta. Se observa que, con la administración del fármaco, la amplitud de la espiga poblacional incrementa, sin alterarse la relación S2/S1. Lo que sugiere que la cantidad de neurotransmisor liberado es proporcional en 1 y 2, indicando que el incremento de la respuesta es dependiente de los mecanismos postsinápticos. Por otro lado, en el segundo caso se ejemplifica el efecto de un fármaco "y" que actúa en los mecanismos presinápticos, ya que a relación S2/S1 muestra un cambio en 1 y 2, sugiriendo que la cantidad de neurotransmisor no es proporcional. Modificado de: Rosenzweig y Leiman, (1992).

Ahora bien, se debe precisar que el PPP tiene su base en la teoría de  $Ca^{+2}$  residual formulada a mediados del siglo XX. La teoría de  $Ca^{+2}$  residual establece que el cambio en la amplitud entre dos respuestas poblacionales generadas bajo las mismas condiciones, es producto de variaciones



en la concentración de  $\text{Ca}^{+2}$  presente en el espacio sináptico y dentro de la célula. Se sabe que el flujo de iones entre la presinápsis y la postsinápsis modula la liberación de neurotransmisor. No obstante, de acuerdo con la teoría, en la terminal sináptica las vesículas que almacenan el neurotransmisor no son liberadas en su totalidad cuando se produce una repuesta (S1), es hasta que se estimula una segunda respuesta (S2), cuando el resto de las vesículas almacenadas son liberadas y se suman a las liberadas en la primera respuesta. Esto en consecuencia, provoca un cambio en la amplitud de S2 respecto a S1 (Colino et al., 2002). Esta dinámica es mediada por mecanismos amortiguadores encargados de mantener los niveles  $\text{Ca}^{+2}$  dentro y fuera de la célula. Por lo que cuando se produce una respuesta, la velocidad con la que ocurre este ajuste varía dependiendo de la concentración de calcio liberado; cuando el  $\text{Ca}^{+2}$  es liberado al espacio sináptico en la primera descarga, no es recapturado en su totalidad antes de que se genere un segundo potencial de acción, por lo que el  $\text{Ca}^{+2}$  no recapturado se agrega al liberado durante la segunda respuesta. Lo que explica por qué a mayor concentración de calcio en el espacio extracelular se genera un incremento en la liberación de neurotransmisor (Katz y Miledi, 1968).

En resumen, el PPP mide el cambio que existe de S2 en comparación con S1 atribuido a la activación de mecanismos presinápticos y postsinápticos (**Figura 5**). Considerado, además, como una forma de plasticidad que tiene un periodo de duración que va de minutos a horas. Cuando en S2 se observa un incremento en la amplitud de la respuesta en comparación con S1, se habla entonces de **Facilitación por Pulso Pareado (FPP)**, la cual es atribuida a la sumatoria del  $\text{Ca}^{+2}$  residual en la **postsinápsis** que favorece mayor liberación de vesículas de neurotransmisor incrementando la repuesta neuronal. Por otro lado, cuando se registra menor amplitud en S2 respecto a S1, entonces se habla de **Depresión por Pulso Pareado (DPP)**. Donde la entrada masiva de  $\text{Ca}^{+2}$  en la **presinápsis** genera una liberación rápida de vesículas de neurotransmisor, que conduce a la célula presináptica a un desabasto en la síntesis de neurotransmisor y que se refleja en la disminución de la respuesta en S2 (Katz y Miledi, 1968; Joshton y Sin, 1995).



**Figura 5. Facilitación y depresión por pulso pareado:** se muestran los efectos de la facilitación y la depresión por pulso pareado en la respuesta sináptica. En ambos casos se muestran dos respuestas: S1 y S2, evocadas bajo la misma amplitud e intensidad del estímulo eléctrico pero separadas en tiempo. En el caso de la facilitación por pulso pareado se observa que la amplitud de S1 es menor en comparación con S2.

## METODOLOGÍA

### 4.1 Sujetos experimentales

Los experimentos fueron realizados de acuerdo con los reglamentos locales e internacionales de cuidado animal. Se usaron ratones macho (Bioterio FES-Iztacala) de la cepa C57BL/6 de alrededor de 3-4 semanas postnatales. Los sujetos fueron alojados en cajas de acrílico transparente, a temperatura ambiente, con un ciclo de 12/12 horas luz/oscuridad, con libre acceso al agua y alimento. Fueron separados dos grupos experimentales para realizar el registro electrofisiológico: 1) Grupo control y 2) Grupo pretratado con 3NP. La actividad electrofisiológica de ambos grupos fue evaluada en ausencia y presencia de RVTL.

### 4.2 Fármacos

Se empleó Resveratrol (RVTL) a una concentración de 10 $\mu$ M. El RVTL fue pesado y disuelto en agua destilada a una concentración de 0.01% de DMSO como disolvente. Para su preparación fue pesado y disuelto a baja exposición a la luz natural y artificial, con el objetivo de evitar su desnaturalización. De igual manera a partir de la solución stock preparada (10mM) se hicieron alícuotas de 50 $\mu$ L, las cuales fueron refrigeradas y almacenadas en un frasco color ámbar, para ser posteriormente utilizadas en los experimentos. Todos los fármacos empleados en el presente estudio fueron obtenidos de Sigma Aldrich (Resveratrol (R5010)). La concentración final de RVTL fue elegida en función de su potencial activo, estudios realizados in vivo, han reportado que la administración crónica de RVTL, incluida en la dieta o por vía intraperitoneal, en dosis que van desde los 20-50 mg/kg resultan apropiadas para observar sus efectos sobre el desempeño conductual y sobre la fisiología del cerebro en aéreas como el núcleo caudado y el hipocampo (Yu, et al., 2013; Xia et al., 2019). Sin embargo, para el estudio de la actividad electrofisiológica neuronal en modelos de plasticidad desempeñados en cultivos celulares, se ha reportado que concentraciones que se encuentren dentro del rango de 1-10 $\mu$ M resultan efectivas para evaluar los efectos del RVTL sobre la modulación de la actividad sináptica en protocolos de (Karthick et al., 2016; Shimazu et al., 2016; Hsieh et al., 2019). Razón por la cual se ha optado por una concentración de 10 $\mu$ M para la realización del presente estudio.

### 4.3 Obtención de rebanadas de cerebro

Sacrificio: los ratones fueron anestesiados, para posteriormente ser decapitados y realizar la extracción del cerebro. Los bulbos olfatorios y el cerebelo fueron separados y desechados. Para la obtención de rebanadas ambos hemisferios fueron cortados siguiendo la línea media que

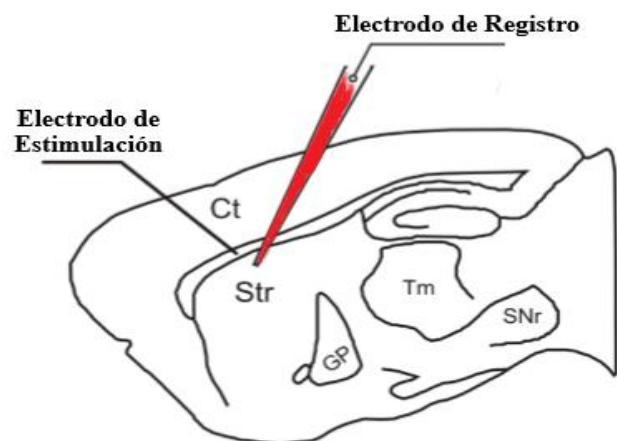
divide al encéfalo. El tejido obtenido fue sumergido en una solución fisiológica artificial de líquido cerebro-espinal a 4°C, saturada con una mezcla de 95% de O<sub>2</sub> y 5% de CO<sub>2</sub> y un pH de 7.4. La solución contenía: CaCl<sub>2</sub> (2 mM), NaCl (125 mM), KCl (3 mM), MgCl<sub>2</sub> (1 mM), NaHCO<sub>3</sub> (26 nM), ácido ascórbico (0.2 mM), tiourea (0.2 mM) y glucosa (10 mM) (Gómez, et al, 2018), dicha solución fue empleada como medio de mantenimiento del tejido una vez realizados los cortes. Las rebanadas fueron obtenidas con ayuda de un vibratomo (Pelco® 102, 1000 Plus, USA); bajo el influjo de la solución fisiológica, para ello se colocaron ambos hemisferios fueron colocados y adheridos sobre una placa de cristal, con el objetivo de realizar cortes sagitales de 400 µm. Las rebanadas que contuvieron estriado y corteza cerebral fueron incubadas en la solución fisiológica por 1 h a temperatura ambiente, antes de ser llevadas a la cámara de registro.

#### 4.4 Registro electrofisiológico

Las rebanadas cerebrales fueron colocadas en una cámara de registro en dónde fueron mantenidas en perfusión constante bajo un flujo de 1±0.5 ml/min de solución fisiológica oxigenada y a temperatura de 32±0.5°C. Los registros fueron obtenidos empleado dos electrodos; para la estimulación de la actividad se empleó un electrodo bipolar (Digitimer LTD, Hertfordshire, UK) posicionado en el cuerpo caloso, en la zona dorsolateral del estriado. Para el registro de la señal de salida (respuesta) se hizo uso un electrodo de borosilicato (lleno con la solución fisiológica), situado dentro del estriado a distancia de 2-3 mm del electrodo de estimulación (**Figura 6**).

**Figura 6. Disposición espacial de los electrodos sobre la rebanada para el registro de campo**

En la imagen se muestran dos electrodos. El electrodo de estimulación (izquierdo) se encuentra posicionado sobre el cuerpo caloso para estimular las aferencias que provienen de la corteza cerebral (Ct) y se dirigen al núcleo estriado (Str). El electrodo de registro (de color rojo y posicionado de lado derecho) capta la señal de los potenciales de acción. Este se encuentra ubicado en el estrado dorsal, enviando la señal que será almacenada y procesada por el software. Abreviaturas: Globo pálido (GP), Tálamo (Tm) y Sustancia nigra reticulada (SNr). Modificado de:



Para facilitar el registro de la respuesta, esta fue amplificada empleado un amplificador de voltaje (Grass Instruments Co, USA). Mientras tanto, la señal fue digitalizada y almacenada con la ayuda de programa casero que corre con el software LabView, (USA). La estimulación empleada durante el protocolo de pulso pareado fue aplicada en un rango de voltajes de 5 a 30  $\mu\text{V}$ , con una duración de 60-150  $\mu\text{S}$  y una frecuencia de 0.1 Hz. Para establecer los valores de respuesta en situación control se realizaron curvas de intensidad/amplitud. Tomando en cuenta el voltaje que evoque la amplitud media de la espiga como parámetro de estimulación constante a lo largo de todo el experimento.

Para el protocolo de pulso pareado, se dieron dos pulsos con una separación de 50 ms y frecuencia de 0.1 Hz, con el objetivo de identificar cambios presinápticos o postsinápticos en la respuesta neuronal. Una vez obtenida y estabilizada la respuesta se ajustaron los parámetros de estimulación constantes para todos los experimentos.

Se empleo un protocolo de Estimulación de Alta Frecuencia (HFS por sus siglas en inglés), con el objetivo de generar la plasticidad a largo plazo cortico estriatal en presencia y ausencia de daño. Para ello se aplicaron tres trenes de corriente supraumbral a una de frecuencia de 300Hz. El voltaje supraumbral fue obtenido con ayuda de la curva intensidad/amplitud, donde el punto de referencia para cada experimento fue el voltaje máximo donde se obtenía la mayor amplitud en S1. Después del tren de alta frecuencia se daba un periodo de reposo de cualquier estímulo al tejido con una duración de 5min. Posterior a esto se procedió a registrar la actividad ajustando los valores constantes del experimento durante 30 min. Con el objetivo de analizar los cambios en la amplitud de S1. Este protocolo fue ejecutado tanto en condiciones control como experimentales. Para la evaluación del modelo de neurodegeneración, los sujetos fueron pretratados con 3NP 15mg/kg vía intraperitoneal durante 5 días. Los experimentos electrofisiológicos se llevaron a cabo 2 días después. Los datos obtenidos fueron procesados y graficados con el software Origin 7.0 (USA).

#### **4.5 Análisis de los datos**

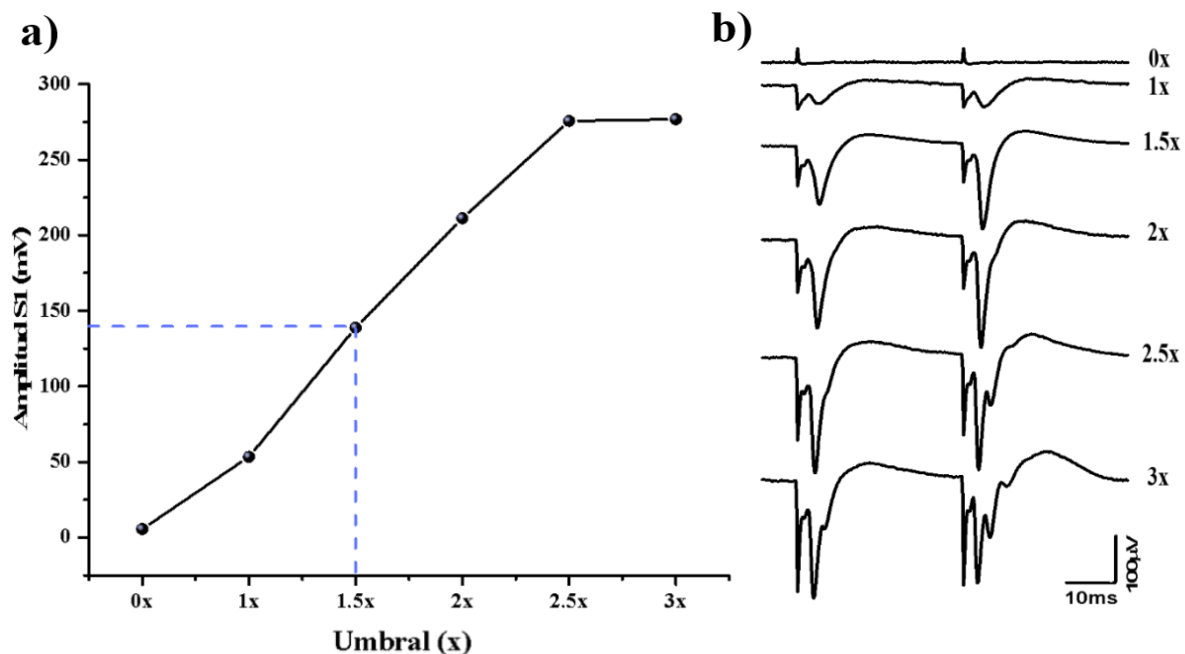
Los datos fueron analizados empleando pruebas estadísticas con los programas SPSS -IBM 25 y representados gráficamente con OriginPro (2016). Para ello se ejecutaron las pruebas ANOVA de una vía de medidas repetidas para realizar la comparación de las medias correspondientes a la amplitud de la respuesta poblacional estriatal en cada una de las fases y entre condiciones. Además de ello para los datos que contaban con una distribución normal se les aplico test de Bonferroni como prueba Post-Hoc.

## RESULTADOS

### 5.1 Condiciones para el registro de la actividad electrofisiológica

Como se sabe, el núcleo estriado está conformado por un conjunto heterogéneo de células, entre las que destacan las neuronas espinosas medianas (MSNs) e interneuronas colinérgicas las cuales reciben aferencias glutamatérgicas excitatorias de la corteza y del tálamo. Sin embargo, la estimulación de esta zona conlleva a la activación simultánea de fibras GABAérgicas inhibitorias; la administración de bicuculina permite aislar la señal de la respuesta poblacional de neuronas glutamatérgicas del estriado.

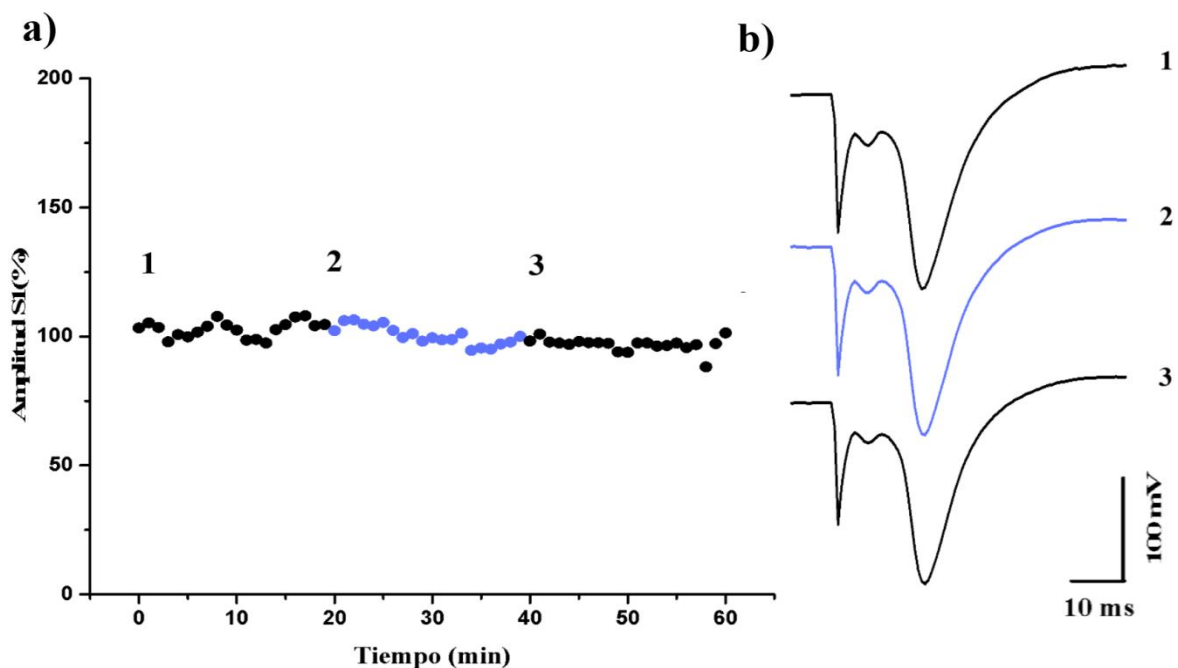
Para obtener el rango de estimulación apropiado para el registro electrofisiológico, se realizó una curva intensidad / amplitud para conocer la estimulación necesaria para obtener la amplitud media de los potenciales de acción de poblaciones neuronales en el núcleo estriado. El objetivo de esta manipulación es evitar la saturación de la respuesta poblacional del área registrada y con ello observar los cambios en la amplitud de la respuesta poblacional en presencia o ausencia de la administración farmacológica, en ese caso el Resveratrol (RVTL), o bien, observar los cambios efecto de la aplicación de protocolos de estimulación, específicamente, la aplicación de protocolos de Estimulación de Alta Frecuencia (EAF) (**Figura 7**).



**Figura 7. Curva de intensidad vs amplitud de la respuesta.** En a) se muestra la curva representativa de la intensidad mínima necesaria del estímulo eléctrico para evocar la respuesta sináptica poblacional, señalizando el número de umbral (x) al que es obtenida la amplitud media de la respuesta poblacional a S1. La intensidad de la estimulación esta expresada en múltiplos de umbral, mientras que la amplitud de la respuesta es medida en  $\mu\text{V}$ . Es posible observar como a partir del 1.5x la respuesta alcanza su máximo y se satura a partir del 2.5x. Las líneas punteadas señalan el número de umbrales necesarios para lograr la amplitud media de la respuesta poblacional. En b) se muestran los trazos representativos de la respuesta poblacional a S1 correspondientes a la curva intensidad vs amplitud de la derecha.

Por otro lado, para evaluar los efectos farmacológicos y los efectos propios del protocolo de estimulación de alta frecuencia. Se realizaron cursos temporales en los que se representan las variaciones de la actividad poblacional del núcleo estriado. Esto con el objetivo de demostrar que los cambios observados en el registro electrofisiológico son producto de las manipulaciones experimentales y las diferentes condiciones de estimulación a las que el tejido fue sometido, así mismo, se busca representar la estabilidad que los registros realizados bajo condiciones control en periodos de tiempo de larga duración.

En la **Figura 8** se representa la amplitud de la respuesta poblacional S1 en un periodo de 60 min. Es posible observar que el registro electrofisiológico no presenta alteraciones significativas durante el curso temporal del experimento, lo cual afirma el hecho de que los experimentos fueron realizados en tejidos sanos, estables y que no presentan variabilidad en el transcurso del tiempo.



**Figura 8. Curso temporal largo de los potenciales poblacionales cortico-estriales.** En a) se muestra el porcentaje normalizado de la amplitud de la respuesta poblacional S1 a lo largo de 60 min. En b) se muestran los trazos representativos del curso temporal. Los números corresponden a secciones del curso temporal seleccionadas, al ser superpuestas se muestra que no hay diferencias en cuanto a la amplitud de la respuesta poblacional, lo cual indica que no se registraron cambios significativos en la amplitud de la espiga poblacional.

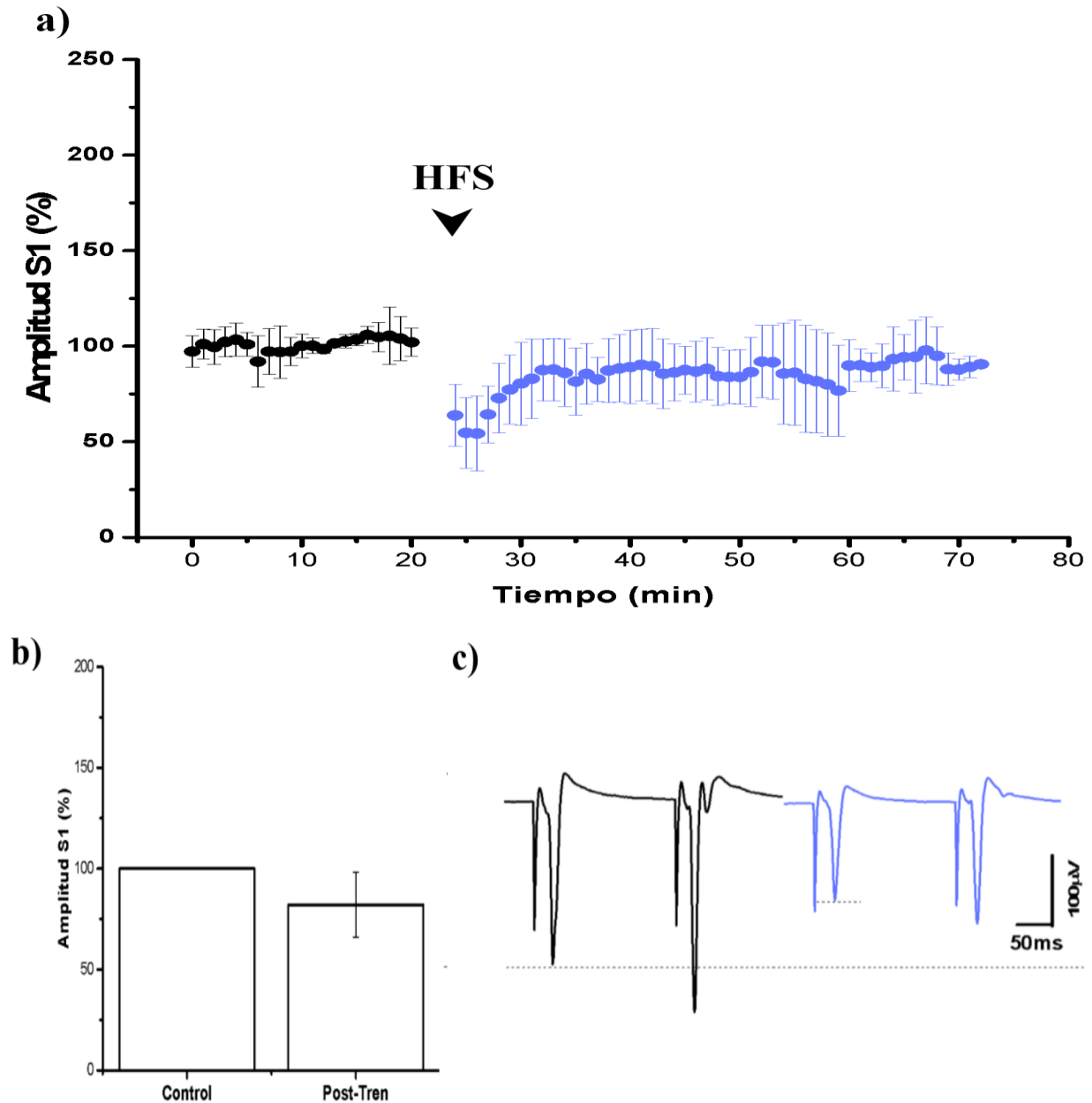
## **5.2 Modulación de la sinapsis glutamatérgica por acción RVTL y evaluación de su efecto en el protocolo HFS**

Antes de evaluar el efecto modulador del resveratrol sobre la actividad sináptica glutamatérgica del estriado se procedió a registrar la actividad de poblaciones neuronales de esta zona en condiciones control. Para ello se obtuvieron registros de la actividad de rebanadas cerebrales provenientes de ratones sanos y de tejido de animales tratados con 3 NP para inducir el daño neuronal estriatal que imita la histopatología de la enfermedad de Huntington. Así mismo, se usó el protocolo de estimulación de alta frecuencia para analizar los cambios generados en la plasticidad sináptica en ambas condiciones. Posteriormente se agregó RVTL (50ng/ml), el cual fue agregado directamente en el baño.

## **5.3 Efecto de la HFS sobre la plasticidad sináptica estriatal en condiciones control**

En la **figura 9** se muestra la actividad cortico-estriatal en condiciones control. En esta se observa que la amplitud de la respuesta decrementa un  $11.953 \pm 1.099\%$  una vez que se aplica el tren de alta frecuencia. Obteniéndose diferencias estadísticamente significativas respecto al control ( $t_{(4)} = 10.874, P < 0.05; n = 5; \text{Prom} \pm \text{DE}$ ).





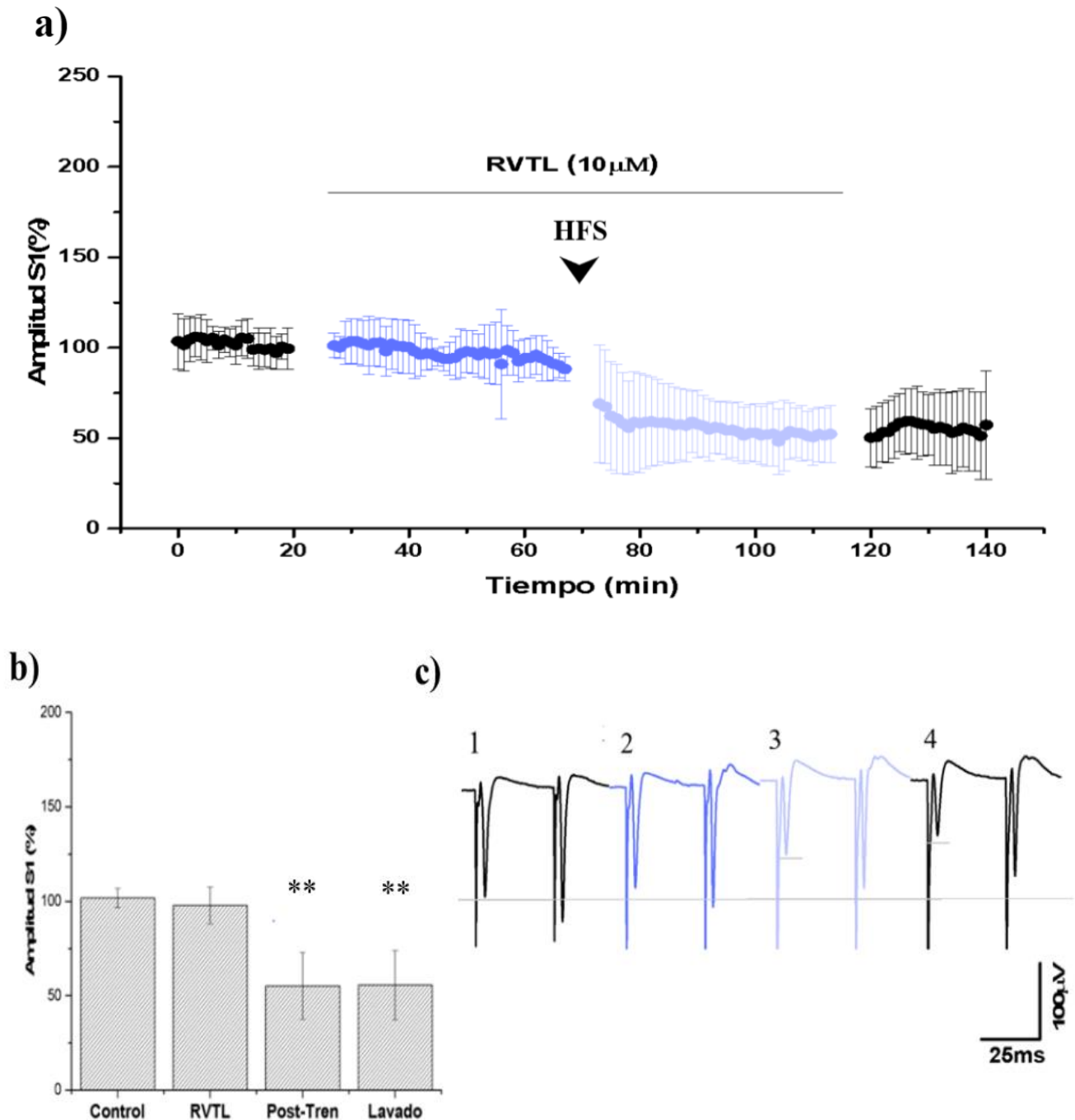
**Figura 9. Actividad sináptica en condiciones control antes y después del tren de alta frecuencia (HFS):** En **a)** se muestra el curso temporal de los experimentos promediados. La amplitud de respuesta fue normalizada en porcentaje para promediar todos los experimentos. Es posible observar que la amplitud de la espiga muestra un decremento ( $11.953 \pm 1.099\%$ ) al comparar el control con la respuesta obtenida posterior a la estimulación de alta frecuencia (HFS). Mostrando diferencias estadísticamente significativas. En **b)** se muestra el promedio en barras de los últimos 20 minutos de ambas condiciones: control y post-tren al comparar la actividad registrada en diferencias significativas. Finalmente, en **c)** se muestran los trazos representativos de los potenciales sinápticos de células glutamatérgicas registrados: 1) corresponde a la amplitud de la espiga bajo condiciones control y 2) pertenece a la amplitud de la espiga posterior al estímulo de alta frecuencia ( $t_{(4)} = 10.874$ ;  $P < 0.05$ ;  $n = 5$ ; Prom  $\pm$  DE).

#### 5.4 Efecto modulador de RVTL sobre la actividad sináptica estriatal y plasticidad sináptica inducida por HFS en condiciones control

Como se ha señalado al inicio del presente trabajo, una de las principales incógnitas sobre el RVTL es su potencial como un agente trófico que participa directamente en la regulación de los procesos de plasticidad en el tejido neuronal. Por esta razón se realizaron los siguientes experimentos siguiendo el protocolo previamente explicado bajo condiciones control en tejido cerebral sano y al que se le administro RVTL ( $10\mu\text{M}$ ) directamente en el baño.

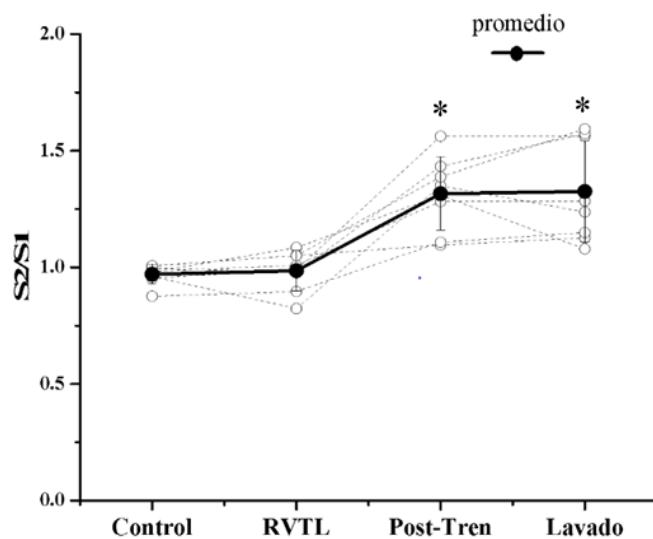
En la **Figura 10** se muestran los efectos de la administración del RVTL en el baño, su efecto sobre la actividad sináptica bajo condiciones de estimulación constantes y después de la administración del protocolo de alta frecuencia. En condiciones control y durante la administración del RVTL ( $10\mu\text{M}$ ) la actividad sináptica se mantiene constante, entre valores de  $101.287\pm 1.287\%$  y  $96.239\pm 2.714\%$ , por lo que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre estas condiciones. Sin embargo, una vez que se administró el tren de alta frecuencia (HFS) en presencia de RVTL, la actividad sináptica decreció de forma significativa ( $t_{(9)} = 6.508, p < 0.05$ ) en un  $38.387\pm 5.898\%$  respecto del control. Del mismo modo, se observaron diferencias significativas al comparar la actividad sináptica durante la administración de RVTL previa al tren HFS con la actividad obtenida posterior al HFS ( $t_{(9)} = 4.487, p < 0.05$ ), donde la diferencia en la amplitud fue de un  $33.339\pm 7.431\%$ . Estos resultados indican que RVTL participa en la modulación de la plasticidad sináptica, específicamente, favorece el incremento de la LTD una vez que se administra HFS en tejido sano.

Al comprar la actividad inmediata posterior al tren HFS en presencia de RVTL con la actividad durante el lavado, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas (Post-Tren=  $53.019 \pm 2.968\%$ ; Lavado=  $55.226 \pm 2.731\%$ ). Al comparar la actividad poblacional en condiciones control con la respuesta poblacional durante el lavado de RVTL se observan diferencias significativas ( $t_{(9)} = 8.27, p < 0.05$ ), de tal manera que la respuesta muestra una disminución del  $47.363\pm 5.724\%$ . De igual manera, se observan diferencias significativas al comparar la fase del lavado con la fase previa al tren de estimulación de alta frecuencia en la cual fue administrado el RVTL ( $t_{(9)} = 6.194, p < 0.05$ ), mostrando una diferencia en la amplitud de la respuesta de  $42.315\pm 6.831\%$ . Resultado que evidencia la participación de RVTL en el mantenimiento de LTD



**Figura 10. Actividad sináptica en condiciones control en presencia de resveratrol (RVTL) en el protocolo de estimulación de alta frecuencia (HFS):** en **a)** se muestra el curso temporal de la amplitud promedio de la espiga poblacional de tejido sano en presencia de RVTL (10 μM). Al agregar el RVTL no se observan diferencias respecto al control (Amplitud: control =  $100 \pm 1.28\%$ ; RVTL =  $96.23 \pm 2.71\%$ ). Una vez agregado el RVTL se registró la actividad poblacional durante 30 min, después de esto se aplicó el tren de alta frecuencia en presencia del RVTL. En esta fase del experimento se registró una disminución de la amplitud poblacional en un  $38.38 \pm 5.89\%$  ( $t_{(9)} = 6.508, p < 0.05$ ). Finalmente, al retirar el RVTL del baño se observa que los niveles en la amplitud de la espiga se mantienen en valores similares a los observados después del administrar el tren de alta frecuencia, manteniendo un decremento de  $47.36 \pm 5.72\%$  respecto al control y del  $42.31 \pm 6.83$  en comparación con el promedio observado previo al tren HFS. En **b)** se muestran los promedios en barras de los últimos 20 minutos en cada fase del experimento indicando las diferencias significativas. Finalmente, en **c)** se presentan los trazos representativos concernientes a las cuatro fases del experimento: 1) corresponde al registro en condiciones control, 2) es la administración de RVTL, 3) pertenece a la actividad post-tren HFS en presencia de RVTL y 4) corresponde a la actividad neuronal durante el lavado de RVTL. \* señala las diferencias estadísticamente significativas ( $p < .05; n = 10; prom \pm SE$ ).

Ahora bien, para apreciar si el efecto farmacológico del RVTL ocurre en los mecanismos presinápticos o postsinápticos fueron evaluados los cocientes (radio) de las espigas poblacionales en las distintas fases del experimento (**Figura 11**). Esta medición es obtenida al evaluar la suma de corrientes individuales, las cuales se encuentran relacionadas con la apertura o cierre de canales de la presinápsis y la postsinápsis. En el caso particular del RVTL, el análisis de pulso pareado muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas entre el cociente de pulso pareado del control ( $0.970 \pm 0.042$ ) y la administración de RVTL ( $0.985 \pm 0.087$ ), no obstante se observa una tendencia al incremento en el cociente S2/S1 una vez que se administra el tren de alta frecuencia. Esta diferencia fue estadísticamente significativa al comparar los cocientes S2/S1 de la fase control con los cocientes obtenidos después del tren de alta frecuencia, donde la media del cociente S2/S1 del control ( $0.970 \pm 0.042$ ) cambio significativamente con la administración del tren de alta frecuencia ( $t_{(9)} = -6.446, p < 0.05$ ). Del mismo modo, al comparar el cociente S2/S1 del control con el obtenido durante la fase de lavado ( $1.325 \pm 0.217$ ), se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $t_{(9)} = -4.824, p < 0.05$ ). Con estos datos, se puede deducir que el resveratrol muestra un efecto sobre la sinápsis una vez que se aplica el tren de alta frecuencia de manera conjunta, específicamente sobre la presinápsis de células glutamatérgicas del núcleo estriado.

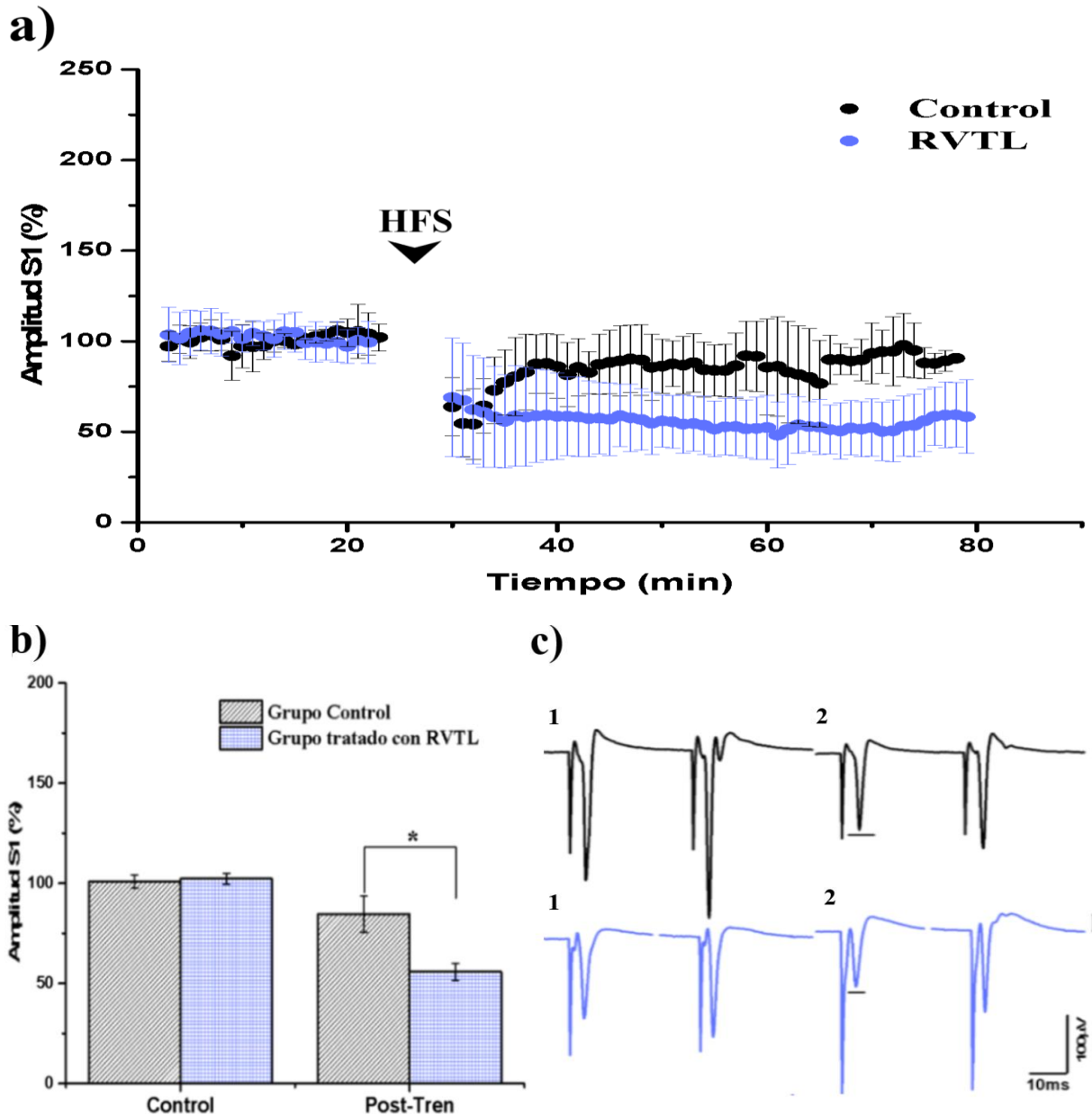


**Figura 11. Cociente de protocolo de pulso pareado (S2/S1) en presencia de RVTL antes y después del tren de alta frecuencia**

El cociente de S2/S1 fue obtenido de los datos de 10 min en las distintas fases del experimento en presencia de RVTL en tejido sano. Es posible observar que en presencia de RVTL el radio del pulso pareado no muestra cambios en comparación al control. Sin embargo, con la administración del tren de alta frecuencia el radio S2/S1 aumenta de forma significativa. Las líneas punteadas representan el cociente S2/S1 de cada experimento, mientras que las líneas solidas muestran el promedio del cociente de pulso pareado del total de la muestra. \*señala las diferencias significativas ( $p < 0.05, n = 10; Prom \pm SE$ ).

Al analizar la amplitud sináptica en ambos grupos experimentales (control y RVTL) no se registraron diferencias estadísticamente significativas en la fase de control para cada experimento (Experimentos control:  $100.790 \pm 0.746\%$ ; Experimentos con administración de RVTL:  $102.168 \pm 0.588\%$ ). Sin embargo, al comparar la actividad posterior al tren de alta frecuencia en ambos grupos se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la magnitud de la depresión por pulso parado ( $t_{(14)} = 4.715, p < 0.05$ ), por un lado en condiciones control la amplitud media de la respuesta poblacional fue de  $88.836 \pm 1.14\%$  mientras que en los experimentos en los que el RVTL fue administrado la amplitud media

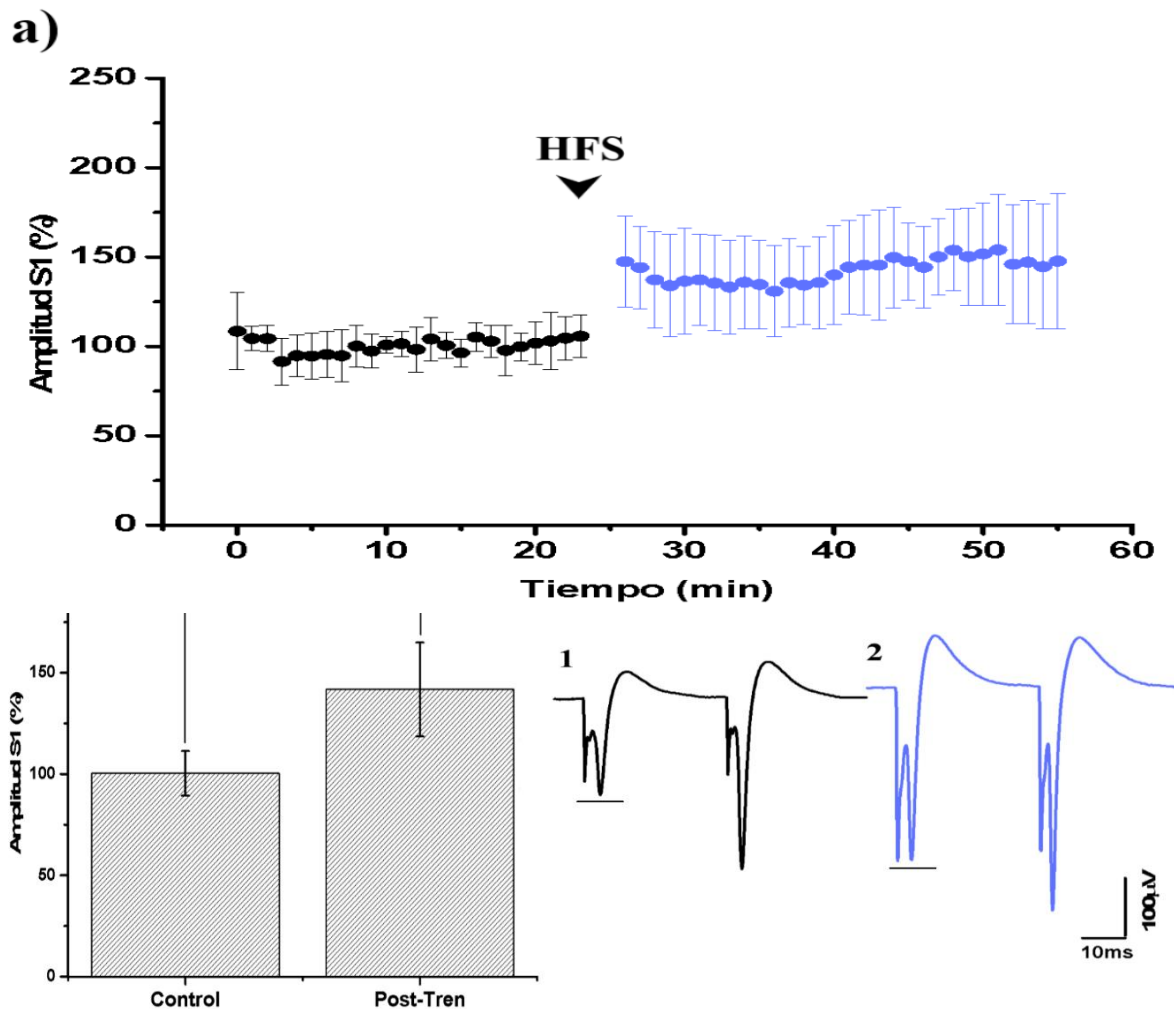
después del HFS fue de  $53.019 \pm 0.647\%$ , observándose una diferencia de  $35.817 \pm 1.316\%$  entre ambos grupos en la misma fase del experimento.



**Figura 12. Análisis de la depresión por pulso pareado (LTD) posterior al estímulo de alta frecuencia (HFS) en condiciones control y con la administración de RVTL:** en a) se muestra el curso temporal de la actividad sináptica estriatal antes y después del tren de alta frecuencia, para ello se evaluó la respuesta promedio de los experimentos realizados en condiciones control (negro) y los experimentos a los que se les administró RVTL (azul). Al comparar la actividad de ambos grupos en la fase control no se observaron diferencias significativas (Grupo control:  $100.790 \pm 0.746\%$ ; Grupo RVTL:  $102.168 \pm 0.588\%$ ). Al comparar la LTD provocada por el tren de alta frecuencia en la fase de registro posterior al HFS se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $t_{(14)} = 27.205$ ;  $p < 0.05$ ) entre los grupos, donde la amplitud media de la respuesta del grupo tratado con RVTL fue un  $35.817 \pm 1.316\%$  menor respecto a la amplitud media del grupo control después del tren de alta frecuencia. En b) se muestran los promedios en barra de los últimos 20 minutos de las fases control y post-tren de ambos grupos de experimentos, señalando las diferencias estadísticamente significativas. Por último, en c) se presentan los trazos representativos de los experimentos realizados en condiciones control (color negro) y los experimentos a los que se les administró RVTL antes del tren de alta frecuencia (color azul). En ambos casos se presentan la actividad en 1) condiciones control y 2) la actividad después del tren HFS ( $p < 0.05$ ;  $n$  controles = 5,  $n$  RVTL = 10;  $prom \pm SE$ ).

### 5.5 Protocolo HFS y plasticidad sináptica inducida en el modelo de neurodegeneración por 3-NP

Para evaluar la actividad del estriado en el modelo de neurodegeneración por 3-NP (**Figura 13**) fue comparada la amplitud promedio de la respuesta poblacional en condiciones control y posterior al tren HFS. Se observó un incremento en la respuesta poblacional del  $44.482 \pm 2.264\%$  respecto control una vez que se aplicó el tren HFS, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $t_{(4)} = -19.641; p < 0.05$ ). Esta potenciación de la actividad estriatal es característica de la fisiopatología inducida por 3-NP.



**Figura 13. Actividad sináptica estriatal durante el protocolo de estimulación de alta frecuencia (HFS) en tejido pretratado con 3-NP:** en **a)** se muestra el curso temporal de los experimentos realizados con tejido pretratado con 3NP. De color negro se muestra la actividad promedio anterior al tren HFS, mientras que en azul se muestra la actividad promedio posterior al HFS. Es posible observar diferencias estadísticamente significativas ( $t_{(4)} = -19.641; p < 0.05$ ) al comparar la amplitud media de ambas condiciones (Control:  $99.774 \pm 0.942\%$ ; Post-Tren:  $144.257 \pm 2.024\%$ ), registrándose un incremento de la actividad sináptica de  $44.482 \pm 2.264\%$ . Por otro lado, en **b)** se muestra el promedio en barras de la amplitud sináptica de los últimos 20 minutos en ambas fases del experimento, donde las diferencias significativas se encuentra señalizada. Finalmente, en **c)** se presentan los trazos representativos de la actividad sináptica en ambas fases del experimento. De color negro (1) se representa la actividad sináptica de tejido obtenido de ratones pretratados con 3-NP antes del tren HFS mientras que de color azul se presenta la actividad posterior al HFS (2) ( $n = 5; p < 0.05; prom \pm SE$ ).

## 5.6 EL RVTL recupera la LTD inducida por HFS en el modelo de neurodegeneración por 3-NP

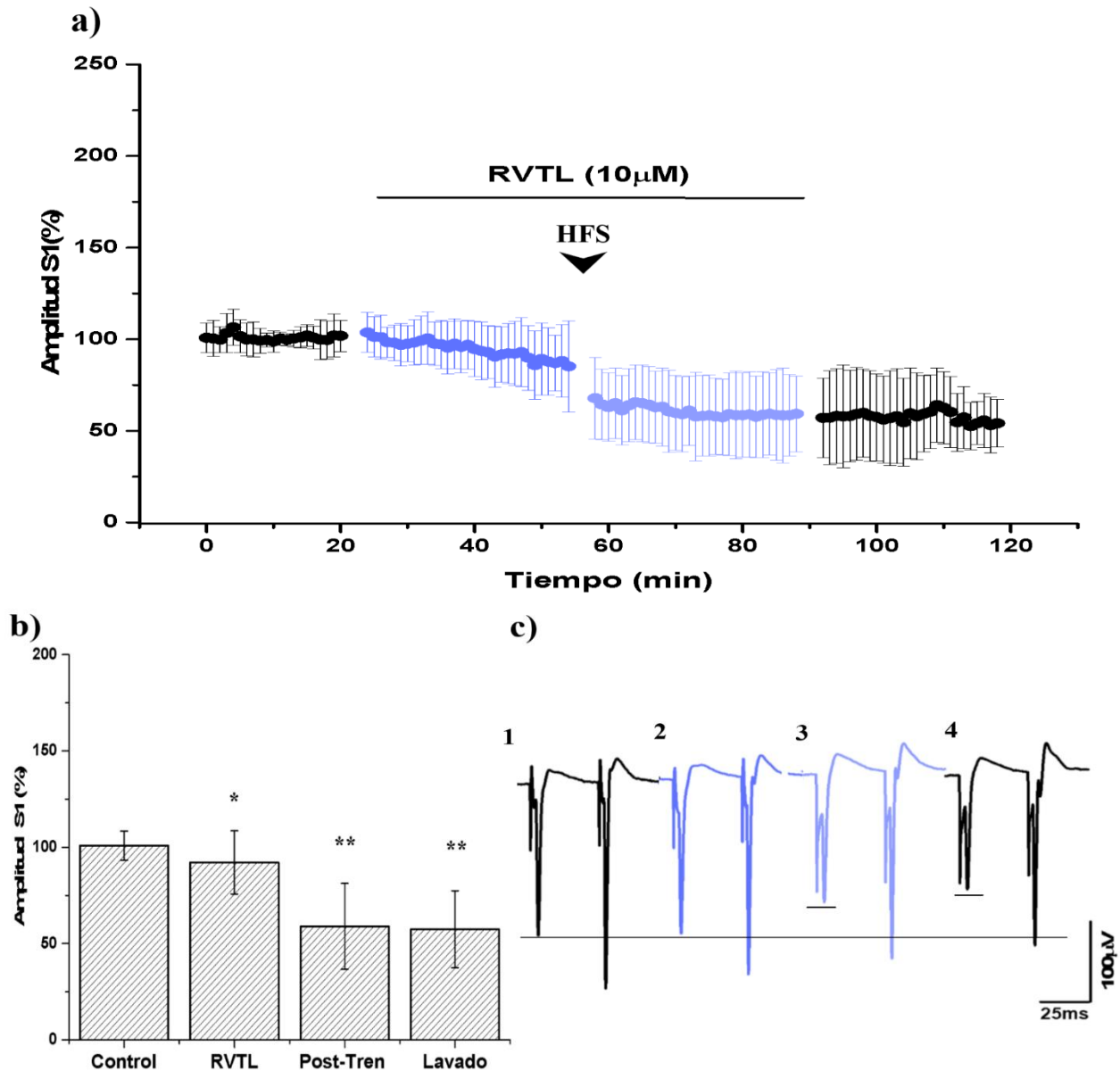
Como uno de los objetivos particulares del presente trabajo, se busca evaluar el efecto del resveratrol (RVTL) sobre el daño producto de la neurodegeneración. En particular, el efecto de RVTL sobre la fisiopatología producto de la administración crónica de 3NP, así mismo, analizar los efectos de esta molécula sobre la plasticidad sináptica inducida por la estimulación de alta frecuencia.

En la **Figura 14**, se muestran los efectos farmacológicos de RVTL sobre la actividad sináptica estriatal de rebanadas de cerebro pretratadas con 3NP bajo la estimulación de pulso pareado antes y después del tren HFS. Se observa que bajo estas condiciones a medida que transcurre el tiempo, al administrar RVTL al baño la amplitud de la respuesta promedio disminuye de manera significativa ( $t_{(6)} = 9.885; p < 0.05$ ), en promedio la amplitud de la respuesta disminuyó en un  $8.705 \pm 4.035\%$  en presencia de RVTL ( $100.827 \pm 1.739\%$ ) respecto de la fase control ( $92.122 \pm 3.920\%$ ). Este efecto se vio potenciado con la aplicación del HFS, en las fases posteriores al tren de alta frecuencia se observó una disminución de la amplitud en la respuesta poblacional. Posterior al tren HFS la amplitud decreció en un  $41.828 \pm 1.782\%$  mostrando diferencias estadísticamente significativas respecto de la fase control ( $t_{(6)} = 107.510; p < 0.05$ ) así como de la fase anterior al tren HFS en la que fue administrado RVTL ( $t_{(6)} = 42.453; p < 0.05$ ), en donde el decremento fue equivalente al  $33.123 \pm 3.575\%$  de la respuesta poblacional. El decremento observado en la amplitud de la respuesta respecto de las fases control y la fase en la que fue administrado el RVTL se mantuvo en ausencia del fármaco. Como puede observarse en la figura, en la fase de lavado de RVTL el decremento de la amplitud se mantuvo ( $57.459 \pm 3.052\%$ ) mostrando diferencias significativas con las fases control ( $t_{(6)} = 50.891; p < 0.05$ ), donde la diferencia en la amplitud fue de  $43.368 \pm 3.905\%$  y la fase previa al tren HFS en la que se administró el RVTL ( $t_{(6)} = 40.136; p < 0.05$ ), en la que la diferencia en la amplitud de la respuesta fue de  $34.662 \pm 3.957\%$ . Finalmente, al comparar la amplitud media de las fases posterior al tren HFS y lavado, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en ambos casos los valores de la amplitud media de la respuesta poblacional fueron similares (Fase posterior al tren HFS + RVTL =  $58.998 \pm 1.287\%$ ; Fase de lavado =  $57.459 \pm 3.052\%$ ).

Estos resultados indican que, el RVTL recupera la generación de la LTD en el tejido tratado con 3-NP. Lo cual puede ser observado en la depresión a largo plazo (LTD) que se produjo con



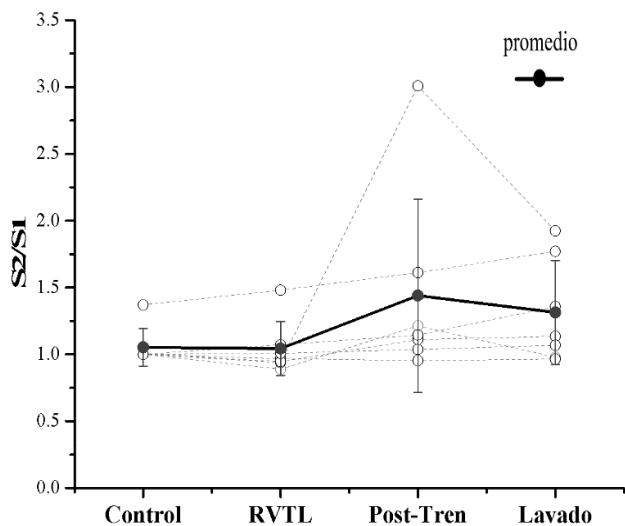
la estimulación de alta frecuencia (véase figura 14), no obstante, debe recordarse que en ausencia de RVTL el tejido obtenido de ratones pretratados con 3-NP muestra una LTP patológica de la respuesta estriatal una vez que se administra el HFS (véase figura 13). Por lo la administración de RVTL (10 $\mu$ M) favorece la recuperación de la LTD observada en los experimentos realizados en tejido sano.



**Figura 14. Efecto conjunto del resveratrol (RVTL) y la estimulación de alta frecuencia (HFS) sobre la actividad sináptica en tejido pretratado con 3-NP:** en a) se muestra el curso temporal de los experimentos realizados con rebanadas de cerebros pretratados con 3-NP. De color negro se muestra la amplitud promedio en la fase control y durante el lavado de RVTL, mientras que de color azul se presenta la actividad sináptica promedio en presencia de RVTL y posterior al tren de alta frecuencia (HFS). Se registraron diferencias significativas entre la fase control ( $100.827 \pm 1.739\%$ ) y el resto de las condiciones experimentales, en las que se registró un decremento de la actividad sináptica (RVTL= $92.122 \pm 3.920\%$ , Post-Tren= $58.998 \pm 1.287\%$ , Lavado= $57.459 \pm 3.052\%$ ). En b) se muestra el promedio en barras de los últimos 20 minutos de cada fase del experimento, señalando las diferencias estadísticamente significativas. Finalmente, en c) se muestran los trazos representativos de la actividad sináptica de tejido tratado con 3-NP en cada fase del experimento: 1) Control, 2) RVTL, 3) Post-Tren y 4) Lavado. \*señala las diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ;  $n = 7$ ;  $prom \pm SE$ ).



Una vez que se han presentado los efectos de RVTL en tejido de ratones pretratados con 3-NP. Se deseaba analizar a que mecanismo (presináptico o postsináptico) puede ser atribuido el efecto que el RVTL ejerce sobre la actividad sináptica estriatal, por esta razón se analizó el cociente de S2/S1 para evaluar el cambio en la en las corrientes de decaimiento de las espigas poblacionales en las distintas fases del experimento. La medición fue obtenida al evaluar la suma de corrientes individuales relacionadas con la apertura o cierre de canales en la terminal sináptica (**Figura 15**). En el caso particular de la administración de RVTL en tejido dañado, el análisis de pulso pareado muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas entre ninguna de las fases de los experimentos realizados bajo estas condiciones (Control  $1.052 \pm 0.139$ ; RVTL  $1.043 \pm 0.201$ ; Post-Tren =  $1.440 \pm 0.723$ ; Lavado =  $1.314 \pm 0.389$ ) Sin embargo, puede observarse un ligero incremento del cociente S2/S1 en las fases Post-Tren y Lavado respecto las fases control y RVTL. Este cambio en el cociente S2/S1 una vez aplicado el tren HFS, puede indicar que el RVTL al igual que en tejido sano ejerce un efecto sobre la postsinápsis. Estos resultados indican que los efector del Resveratrol en el tejido proveniente de animales tratados con 3-NP es postsináptico.

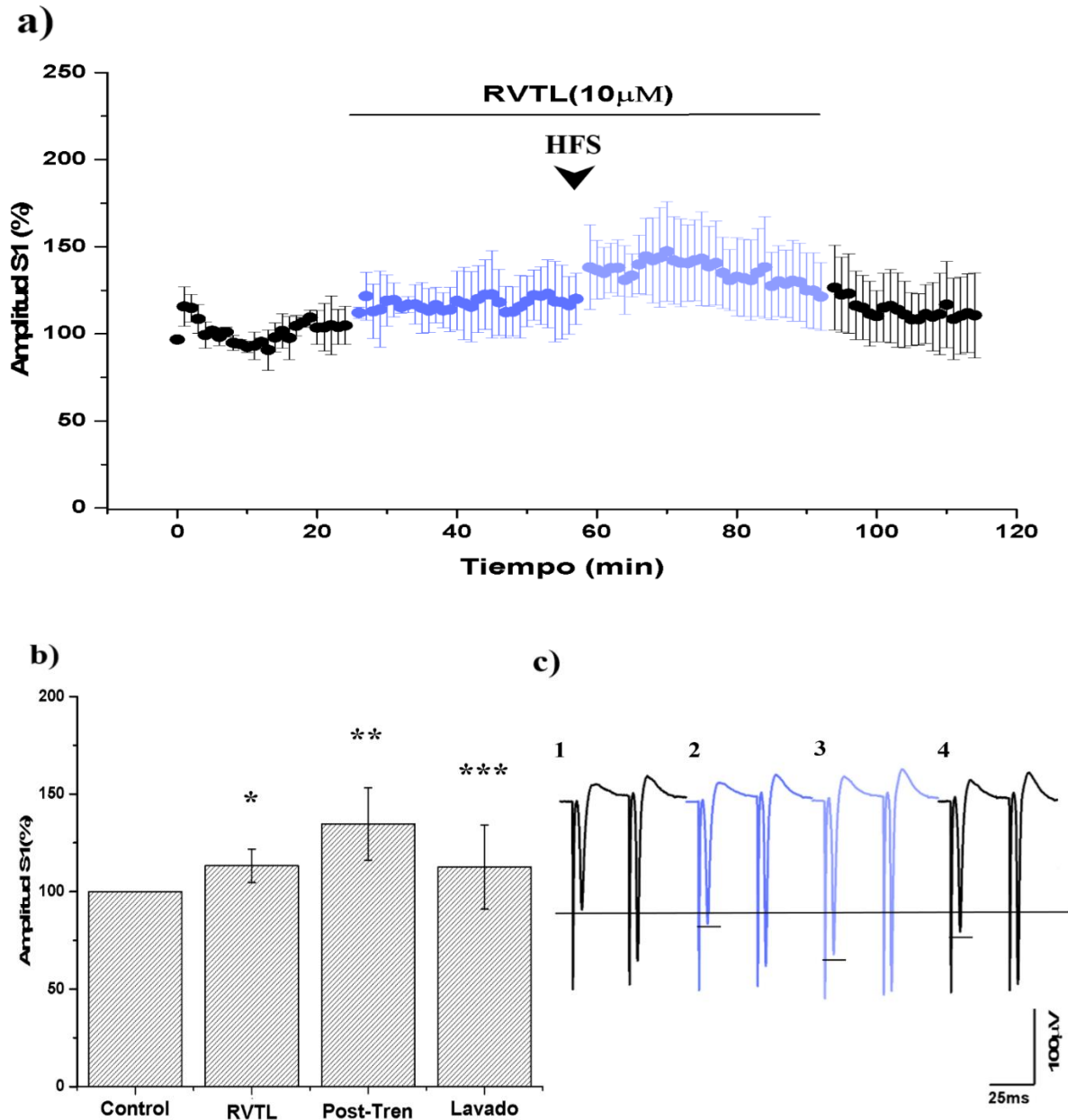


**Figura 15. Cociente de pulso pareado (S2/S1) en presencia de RVTL antes y después del tren de alta frecuencia en tejido tratado con 3-NP- Depresión a Largo Plazo (LTD)**

El cociente de S2/S1 fue obtenido del promedio de los últimos 10 min de cada fase de los ensayos realizados con rebanadas de cerebro tratadas con 3-NP. Los análisis estadísticos muestran que no hubo diferencias significativas en el cambio del cociente S2/S1 entre ninguna de las fases de los experimentos. Sin embargo, se observa un ligero incremento en el cociente S2/S1 de las fases posteriores al tren HFS. Las líneas punteadas representan cada experimento promediado, mientras que la línea sólida muestra el promedio del cociente de pulso pareado del total de la muestra. ( $p > 0.05$ ;  $n = 7$ )

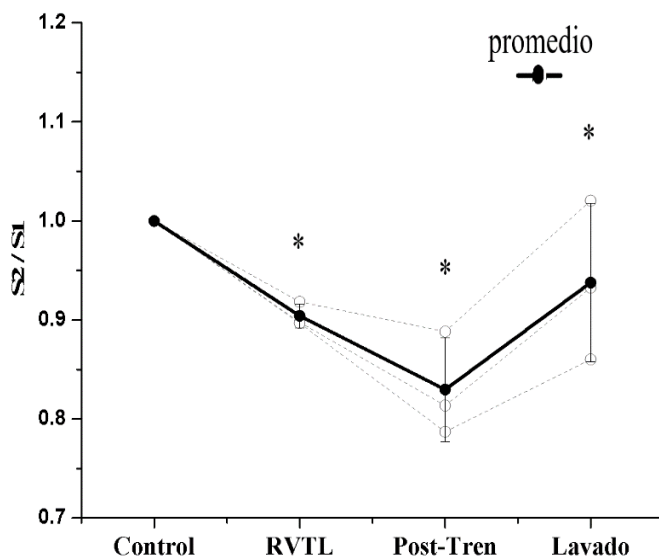
### 5.7 LTP inducida por HFS en presencia de RVTL dentro del modelo de neurodegeneración por 3-NP

De los experimentos realizados con tejido obtenido de ratones pretratados con 3-NP en los que fue administrado RVTL (10 $\mu$ M), solo 30% de los experimentos (n=3) mostraron un incremento de la respuesta sináptica posterior al tren HFS (**Figura 16**) en presencia del RVTL, es decir en estos experimentos el RVTL, no recuperó la plasticidad estriatal. Al comparar la amplitud media de la fase control ( $100.384 \pm 5.362\%$ ) con la amplitud media de la respuesta neuronal en presencia de RVTL ( $117.827 \pm 3.402\%$ ) se observan diferencias estadísticamente significativas ( $t_{(2)} = -13.059; p < 0.05$ ), la respuesta incrementó un  $17.443 \pm 6.265\%$  respecto de la fase control al administra RVTL. Este mismo efecto también fue observado una vez que se aplicó el tren HFS, donde al comparar la amplitud media de la fase control con la amplitud media de la fase posterior al tren HFS en presencia de RVTL ( $133.677 \pm 6.398\%$ ) se registró incremento significativo de la actividad sináptica ( $t_{(2)} = -16.363; p < 0.05$ ), siendo equivalente a  $33.293 \pm 9.543\%$ . Del mismo modo, al comparar la amplitud promedio de la fase donde solo fue administrado RVTL y las fases posteriores al tren HFS se observaron diferencias; el cambio observado en la amplitud de la respuesta de la fase RVTL respecto de la fase posterior al tren HFS fue estadísticamente significativo ( $t_{(2)} = -8.702; p < 0.05$ ) observándose un incremento de la respuesta de  $15.850 \pm 8.543\%$ .



**Figura 16. Efecto diferencial del resveratrol (RVTL) sobre actividad sináptica estriatal de tejido pretratado con 3-NP:** en **a)** se presenta el curso temporal de los experimentos realizados con tejido pretratado con 3-NP y a los que les fue administrado RVTL. De color negro se muestra la amplitud promedio en la fase control y durante el lavado de RVTL. De color azul se muestra la amplitud promedio de la respuesta sináptica con la administración de RVTL y la actividad sináptica posterior al tren HFS. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre todas las fases experimentales posteriores a la fase control (Control=  $100.384 \pm 5.362\%$ ; RVTL=  $117.827 \pm 3.402\%$ ; Post-Tren=  $133.677 \pm 6.398\%$ ; Lavado=  $113.753 \pm 5.068\%$ ). En **b)** se muestra el promedio en barras de la amplitud de la respuesta de los últimos 20 minutos de cada una de las fases del experimento. Por último, en **c)** se muestran los trazos representativos de la actividad sináptica del tejido tratado con 3-NP en cada fase del experimento: 1) Control, 2) RVTL, 3) Post-Tren y 4) Lavado. \*señala las diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ;  $n = 3$ ;  $prom \pm SE$ ).

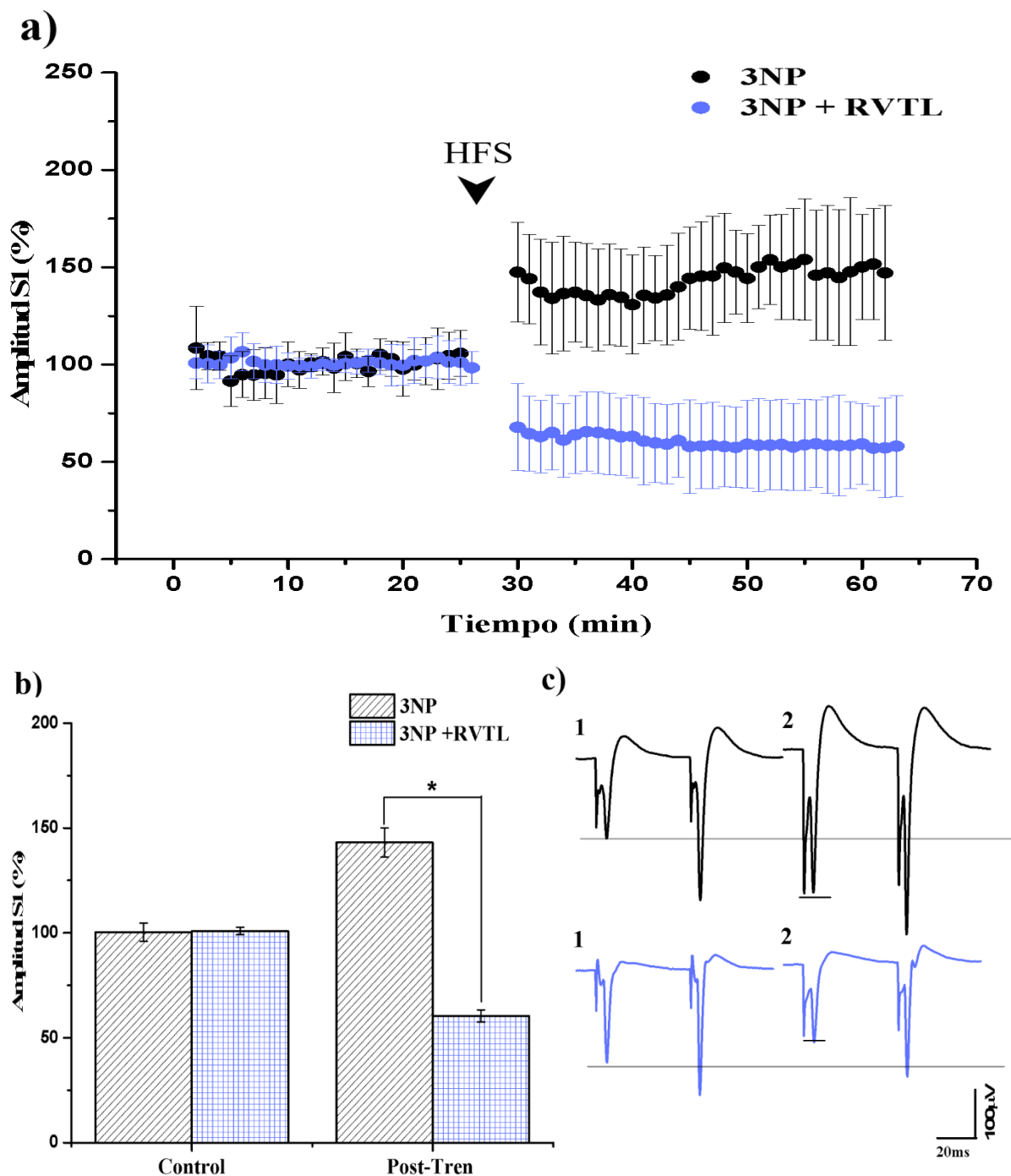
Para analizar de manera más precisa los efectos observados con la administración de RVTL en tejido tratadas con 3-NP, se realizó el análisis del cociente de S2/S1 producto del pulso pareado, en estas condiciones se observó que respecto a la fase control ( $1.000 \pm 0.0$ ) el cociente S2/S1 mostró decremento en las fases RVTL ( $0.904 \pm 0.012$ ) y Post-Tren ( $0.829 \pm 0.052$ ), estadísticamente significativo; ( $S2/S1$  de  $0.095 \pm 0.007$  ( $t_{(2)} = 13.607$ ;  $p < 0.05$ ) respecto del control. Mientras que en segundo plano se observó una disminución del cociente de pulso pareado del  $0.170 \pm 0.030$  ( $t_{(2)} = 5.626$ ;  $p < 0.05$ ). Esta tendencia al decremento del cociente S2/S1 fue observada en presencia de RVTL y durante la fase posterior al tren HFS en la cual el RVTL seguía presente en el baño, y se eliminó al lavarse.



**Figura 17. Cociente de protocolo de pulso pareado (S2/S1) en presencia de RVTL en sujetos tratados con 3-NP-Potenciación a Largo Plazo (LTP)**

El cociente de S2/S1 fue obtenido del promedio de los últimos 10 min de cada fase experimental, en los ensayos realizados en rebanadas tratadas con 3NP. El análisis muestra que se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el cambio del cociente S2/S1 en cada una de las fases del experimento. Se observa una tendencia al decremento de la relación S2/S1 en las fases RVTL y Post-Tren, pese a esto, el efecto se revierte en la fase de Lavado de RVTL, donde el cociente de pulso pareado muestra un incremento. Las líneas punteadas muestran el total de experimentos promediados, mientras que la línea continua representa el promedio del cociente S2/S1 de las diferentes fases experimentales. \*señala las diferencias estadísticamente significativas. ( $p < 0.05$ ;  $n = 3$ ;  $prom \pm SE$ ).

Finalmente, para puntualizar el efecto de RVTL en la actividad plástica del estriado, se analizaron los efectos del tren HFS sobre la actividad sináptica poblacional en tejido pretratado con 3-NP y al que también se le administró RVTL. Como se observa en la **figura 18**, el tejido que ha sido expuesto al daño crónico causado por 3-NP se registra un incremento de la actividad sináptica, específicamente, es posible observar que después del tren HFS se produce la LTP. En la fase control, no se observaron diferencias estadísticamente significativas al comparar ambos grupos ( $3\text{-NP} = 99.7745 \pm 4.318\%$ ;  $3\text{NP} + \text{RVTL} = 100.827 \pm 1.739\%$ ), pero al comparar los efectos registrados posteriores al tren HFS se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre la LTD generada en el grupo  $3\text{-NP} + \text{RVTL}$  y el grupo la LTP observada en el grupo 3-NP ( $t_{(11)} = 41.719$ ;  $p < 0.05$ ), donde la diferencia en la amplitud media fue equivalente a  $85.258 \pm 2.043\%$ . (**Figura 18**).



**Figura 18. Comparación del efecto de RVTL sobre la plasticidad sináptica inducida (LTD y LTP) en el estriado en el modelo de neurodegeneración por 3-NP:** en **a)** se muestra el curso temporal de la actividad sináptica antes y después del tren HFS. Las diferencias en la amplitud de respuesta de los dos grupos: 1) Grupo pretratado con 3-NP (color negro) y 2) Grupo pretratado con 3-NP + RVTL que desarrollo LTD (color azul), muestran que la amplitud media de cada grupo en la fase de Post-Tren se modificó significativamente ( $3NP = 144.257 \pm 9.276\%$ ;  $grupo\ 3NP+RVTL = 58.998 \pm 1.287\%$ ). En **b)** se muestra el promedio en barras de los últimos 20 min de las fases control y Post-Tren ambos grupos. Por último, en **c)** se presentan los trazos representativos de las condiciones control (1) y Post-Tren (2) cada grupo experimental: el grupo 3NP (color negro) y el grupo 3NP+RVTL con LTD (color azul) ( $p < 0.05$ ;  $3NP\ n = 5$ ,  $3NP + RVTL\ n = 7$ ,  $E; prom \pm SE$ ).

### 5.8 Efecto de RVTL sobre la LTD inducida en la actividad sináptica estriatal en condiciones control y en el modelo de neurodegeneración por 3-NP

En principio, es posible observar que en ambos grupos se observa una clara tendencia al decremento en la amplitud sináptica al administrar RVTL, así como una LTD posterior a la aplicación del protocolo sináptica. HFS. Sin embargo, aunque los efectos son similares en ambos grupos, los análisis muestran que en las fases posteriores al control (RVTL=  $102.168 \pm 2.695\%$ ; 3-NP+RVTL=  $100.827 \pm 1.739\%$ ), se observaron diferencias significativas. Por ejemplo, en la fase donde fue administrado el RVTL, en ambos casos hay una leve disminución en la amplitud de la espiga poblacional, pero al comparar ambos grupos se observó que la amplitud media del grupo 3-NP+RVTL fue un  $2.553 \pm 1.058\%$  menor a la amplitud media en el grupo al que solo se le administró RVTL, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $t_{(16)} = 2.411$ ;  $p < 0.05$ ). Por otro lado, cuando se comparó la actividad sináptica de ambos grupos en la fase Post-Tren, se observó que la amplitud media del grupo RVTL fue  $5.979 \pm 0.706\%$  menor a la observada en el grupo 3-NP+RVTL, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $t_{(16)} = -8,469$ ;  $p < 0.05$ ). Por último, se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $t_{(16)} = 2.498$ ;  $p < 0.05$ ) al analizar la actividad sináptica en la fase de lavado, en la que la amplitud media del grupo RVTL fue un  $2.233 \pm 0.893\%$  menor a la amplitud media del grupo 3-NP+RVTL.

Estos resultados señalan que el RVTL actúa de forma similar en ambos grupos experimentales, participando de forma activa en la modulación de la respuesta estriatal y procesos de plasticidad sináptica largo plazo, específicamente en la generación de depresión a largo plazo. Por lo que es posible inferir que el RVTL muestra un efecto neuroprotector sobre la fisiopatología provocada con el 3-NP; se puede observar que el daño crónico inducido por esta neurotoxina se traduce en un incremento significativo en la amplitud de la respuesta sináptica, pero en presencia de RVTL el efecto se invierte y se produce un decremento de la actividad similar al observado en condiciones control.

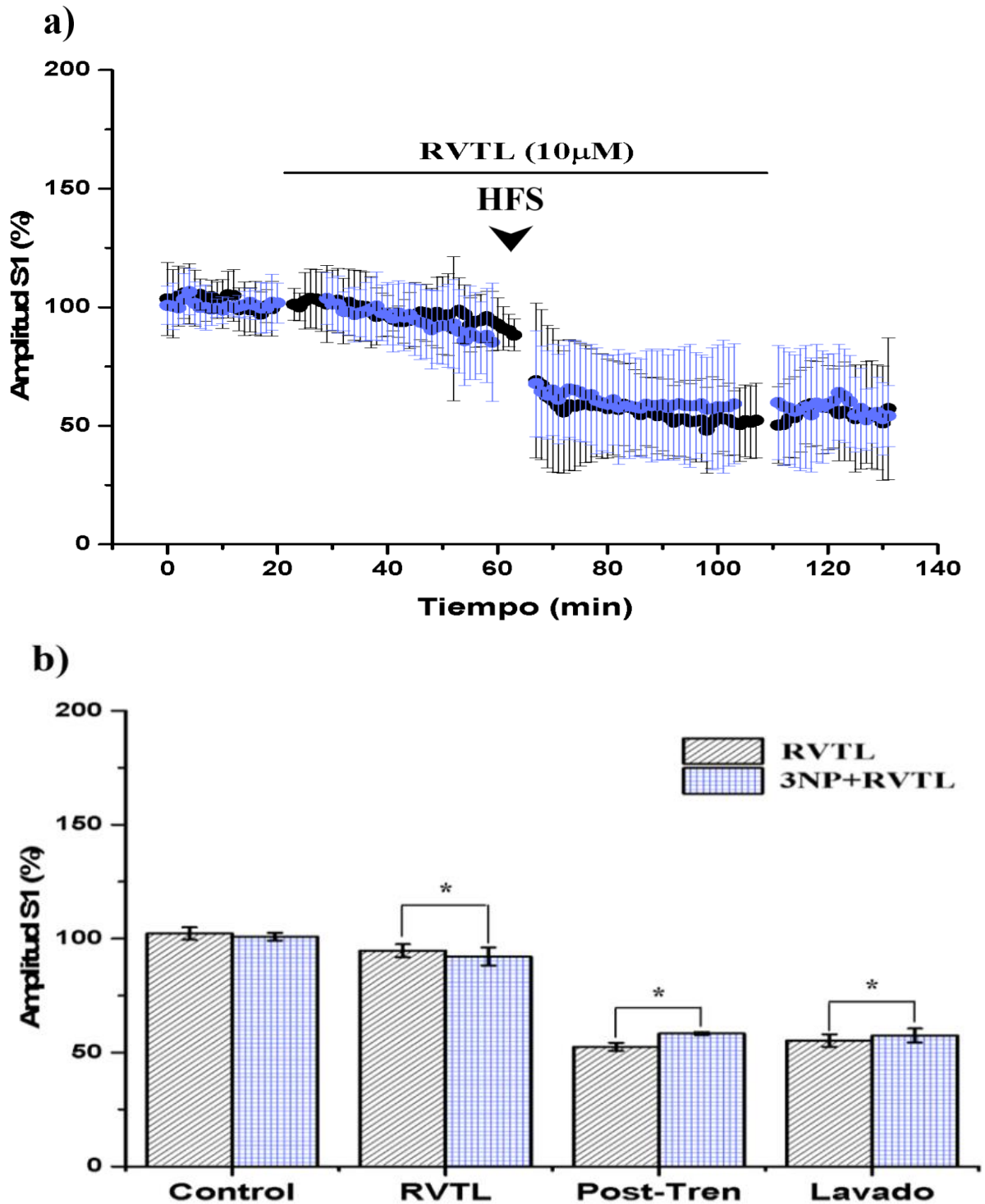
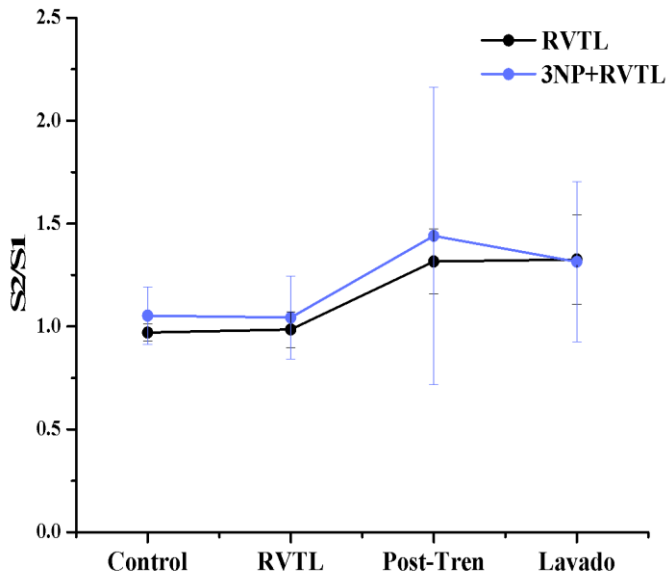


Figura 19. LTD inducida por RVTL posterior a la estimulación de alta frecuencia (HFS) en condiciones control y en el modelo de neurodegeneración por 3-NP: en a) se muestra el curso temporal de los promedios de dos grupos de experimentos: Experimentos realizados en condiciones control a los que fue administrado RVTL (color negro) y experimentos realizados en tejido tratado con 3-NP a los que les fue administrado RVTL (color azul). En ambos casos se observa una tendencia a la disminución de la amplitud de la respuesta en presencia de RVTL y la generación de LTD después del tren HFS. Se muestran encontraron diferencias significativas al comparar ambos grupos (Diferencia de medias: *control* =  $1.340 \pm 0.699\%$ ; *RVTL* =  $2.553 \pm 1.058\%$ ; *Post-Tren* =  $5.979 \pm 0.706\%$ ; *Lavado* =  $2.233 \pm 0.893\%$ ). En b) se muestra el promedio en barras de la amplitud de la respuesta en cada fase de los experimentos en los dos grupos. \*señala las diferencias significativas entre las medias de cada fase experimental. ( $p < 0.05$ ; grupo RVTL  $n = 10$ , grupo 3NP + RVTL  $n = 7$ ; prom  $\pm$  SE)





**Figura 21. Cociente de protocolo de pulso pareado (S2/S1) de experimentos a los que fue administrado RVTL en condiciones control y en el modelo de neurodegeneración por 3-NP**

El cociente de S2/S1 fue obtenido del promedio de los últimos 10 min de cada fase de los ensayos realizados en rebanadas de cerebro en condiciones control y pretratadas con 3-NP. Los análisis estadísticos muestran que no hubo diferencias significativas al comparar el cociente S2/S1 de cada una de las fases entre los dos grupos. En ambos casos se observa una tendencia al incremento en el cociente S2/S1 después de la aplicación de la estimulación de alta frecuencia. La línea de color negro muestra el promedio de los experimentos realizados en condiciones control a los que fue administrado RVTL, por otro lado, la línea color azul muestra el promedio de experimentos realizados con rebanadas de cerebro previamente tratadas con 3NP y a las que fue administrado

RVTL. ( $p > 0.05$ ; RVTL  $n = 10$ , 3NP + RVTL = 7;  $prom \pm SE$ ).

Para concluir con el análisis, se analizó el cociente S2/S1 de ambos grupos experimentales para observar las tendencias de cambio en la respuesta sináptica dentro del protocolo de pulso pareado (**Figura 21**). Los análisis estadísticos mostraron que no había diferencias significativas en ninguna de las fases experimentales (Grupo RVTL: *control* =  $102.168 \pm 2.695\%$ , *RVTL* =  $94.675 \pm 2.859\%$ , *Post - Tren* =  $53.019 \pm 2.968\%$ , *Lavado* =  $55.226 \pm 2.731\%$ ; Grupo 3NP+RVTL: *control* =  $100.827 \pm 1.739\%$ , *RVTL* =  $92.122 \pm 3.920\%$ , *Post - Tren* =  $58.998 \pm 1.287\%$ , *Lavado* =  $57.459 \pm 3.052\%$ ), no obstante, en ambos casos es posible observar que en las fases de Post-Tren y Lavado se registra un cambio en el cociente S2/S1. De tal manera que, en ambos casos, la LTD inducida en presencia de RVTL posterior al tren HFS puede ser atribuida a mecanismos postsinápticos, donde dicha molécula participa tanto en la modulación sináptica como en los procesos de plasticidad sináptica a largo plazo, específicamente la depresión a largo plazo.



## DISCUSIÓN

El presente trabajo fue realizado con el objetivo de evaluar los efectos del RVTL sobre la actividad estriatal, así como, su papel en la plasticidad sináptica en poblaciones de neuronas del núcleo estriado en un modelo de neurodegeneración inducido por 3-NP. Los resultados indican que el RVTL se involucra en menor medida en la modulación de la actividad sináptica estriatal. Mientras que esta molécula muestra mayor efecto sobre la a plasticidad sináptica inducida por el protocolo de estimulación de alta frecuencia (HFS). Dichos resultados serán discutidos a continuación.

### 6.1 Modulación de la actividad sináptica estriatal por RVTL

Se ha reportado que los polifenoles, en este caso el resveratrol (RVTL), favorecen el desarrollo, mantenimiento y recuperación celular. Interfiriendo con los mecanismos celulares que conducen al desarrollo del estrés oxidante (Bolliger et al., 2018), el deterioro cognitivo y fisiológico observado en condiciones neuropatológicas como lo son el Alzheimer y el Parkinson, así como, activando mecanismos de supervivencia celular (Jin et al., 2008; Lu et al., 2008; Liu et al., 2019; Wicinski et al., 2020), el RVTL muestra una amplia gama de efectos sobre la fisiología del cerebro.

En el presente trabajo se observó que RVTL ejerce un efecto específico sobre la modulación de la respuesta sináptica poblacional en el estriado. En condiciones control la administración de RVTL (10 $\mu$ M) se favorece la generación de LTD (Véase figura 10). Y cuando el RVTL es agregado al registro de poblaciones neuronales obtenidas de ratones a los que se les había inducido daño con el tratamiento crónico de 3-NP, recupera la LTD (véase figura 14). Se debe recordar que una característica de la fisiopatología de la enfermedad de Huntington y otros desordenes neurológicos, es justo una hiperactivación de la respuesta neuronal en distintas áreas de los ganglios basales, como lo son el hipocampo y el núcleo estriado, consecuencia de un déficit energético y del estrés celular y promueve la desorganización de circuitos neuronales (Rodríguez et al., 2010; Mahdy et al., 2011; Gopinath y Sudhandiran, 2012; Alarcón et al., 2017). Por lo que, los efectos obtenidos de ambos grupos experimentales; en los que existen tendencias similares en cuanto a la fisiología del estriado en presencia RVTL, permiten deducir que la administración directa de RVTL no solo previene el incremento patológico de la actividad estriatal (que puede ser observado en la figura 13), además, recupera la actividad sináptica típica del estriado en condiciones control (véase figura 19). Es probable que el

potencial del RVTL como neuromodulador se encuentre asociado con mecanismos en la presinápsis que inhiben la expresión de proteínas y/o genes asociados con la neurodegeneración, como el caso de los TRP en neuronas dorsales (Yu et al., 2013) o la expresión de MALAT1, característica en patologías como la enfermedad de Parkinson (Xia et al., 2018).

En tejido dañado por el 3-NP, el 70% de los experimentos realizados bajo recuperan la plasticidad sináptica estriatal (LTD) y sólo en el 30% de los experimentos no hubo LTD por el RVTL, manteniéndose la LTP patológica (véase figura 16). Con ello se refuerza la idea del RVTL como restaurador de la plasticidad sináptica estriatal, ya que ante la lesión provocada por el 3-NP en la mayor parte de los casos, posterior al tren HFS, se produjo una LTD similar a la observada en tejido sano. No obstante, en menor proporción se observó que aun en presencia de RVTL la LTD del estriado no fue recuperada. Reportes anteriores han señalado que el efecto mencionado puede ser atribuido a variaciones en la concentración de este fármaco. Por ejemplo, en ensayos realizados con concentraciones de 0.1, 1, 10 y 100  $\mu\text{M}$  en cultivos neuronales, se observó que concentraciones de 10 y 100  $\mu\text{M}$  resultan ser más efectivas para inhibir la repuesta excitotóxica y favorecer la plasticidad sináptica, específicamente la LTD. Mientras que concentraciones de 0.1 y 1  $\mu\text{M}$  muestran un bajo efecto sobre la modulación sináptica (Hsieh et al., 2019), y podrían relacionarse con la activación de mecanismos que activan. Es así como, se puede deducir que el incremento observado de la actividad sináptica poblacional es producto de variaciones en la concentración de RVTL, flujo inconstante de la solución, o bien, pérdida de la efectividad del fármaco producto de oxidación o desnaturalización.

Ahora bien, los mecanismos que subyacen al efecto de RVTL sobre la modulación de la actividad sináptica pueden relacionarse con la expresión de proteínas ubicadas en la presinápsis, entre ellas la Munc-13, que ha sido descrita como una proteína esencial para la regulación y restauración de las redes de comunicación neuronal, así como, por su papel en los procesos de plasticidad sináptica (Pany et al., 2017). Otra proteína que se relaciona con el efecto neuroprotector y restaurador de RVTL en la presinápsis es la Bcl-2. Esta proteína, además de favorecer la conservación de la vía nigroestriatal y de neuronas dopaminérgicas, disminuye la expresión de proteínas como Bax y Caspasa3 en cuerpo estriado que se encuentran asociadas con mecanismos proinflamatorios y apoptóticos en la enfermedad de Parkinson (Liu et al., 2019). La disminución en producción de radicales libres como COX-2, TNF y NOX2 (Jin et al., 2008; Carta et al., 2018), la inhibición en la expresión de citocinas proinflamatorias

(Levin y Godukin, 2017) y la restauración de la producción energética (ATP) (Shen et al., 2020) son efectos que se suman a la capacidad del RVTL para restaurar la actividad sináptica estriatal.

En cuanto a los mecanismos presinápticos que son modulados por la administración de RVTL se destaca el papel de los receptores NMDA en la modulación de la respuesta neuronal y en los procesos de plasticidad sináptica; en estudios donde se ha evaluado el efecto antiinflamatorio y antioxidante de RVTL sobre el daño neuronal, se ha observado que la activación de los NMDA/NR2B y los NMDA/NR2A resulta de vital importancia para favorecer la supervivencia y mantenimiento de la comunicación neuronal (Imamura et al., 2016). La activación de proteínas como PKC y enzimas como AMPK, es mediada por la activación de canales dependientes de voltaje como los NMDAR (Kim et al., 2010; Menard et al., 2013). Sin embargo, destaca el papel de proteínas como es SIRT1 en la restauración de la comunicación sináptica en condiciones de aprendizaje, o bien, cuando se ha generado daño en la fisiología de las sinápsis; esta proteína tiene como característica principal participar en el silenciamiento o expresión genética (Rosales et al., 2016) y actualmente se sabe, aumenta su expresión en procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria. La administración (o tratamiento) con RVTL induce a un incremento de la expresión de SIRT1, la cual en consecuencia y de forma secundaria disminuye la expresión de ERS y UPR, vías de señalización que se encuentran ligadas con la apoptosis y el daño celular (Wang et al., 2018), y favorece el incremento en la expresión de moléculas como el superóxido dismutasa-2 (SOD2) (Lin et al., 2018; Shen et al., 2020).

Por último, debe mencionarse que, aunque la relación RVTL-SIRT1 no es del todo clara, se ha documentado su participación en otras vías de señalización activadas cuando el aprendizaje y la memoria tienen lugar. En regiones como el hipocampo, el tratamiento con RVTL induce la activación de la vía cAMP-CREB-BDNF, fundamental para los circuitos motores como para el funcionamiento cognitivo y el procesamiento de la información (Wang et al., 2016).

## 6.2 Potenciación a largo plazo (LTP) y depresión a largo plazo (LTD) inducidas por RVTL

Otro de los objetivos del presente trabajo fue, evaluar el efecto de la administración de RTVL sobre la plasticidad sináptica de neuronas glutamatérgicas del núcleo estriado, inducida por un protocolo de estimulación de alta frecuencia (HFS). Los resultados mostraron que en condiciones control, al administrar el tren HFS la amplitud de la respuesta poblacional decrementó, sin ser significativamente diferente a la actividad previa al tren HFS (véase figura 9). Sin embargo, cuando RVTL es administrado antes de aplicar el protocolo de plasticidad, se observa que posterior al tren HFS la actividad sináptica disminuye de forma significativa siendo mantenida incluso durante la fase de lavado, consolidándose la LTD (véase figura 10). Estos resultados señalan que RVTL no solo participa en la modulación de la actividad sináptica estriatal, sino que además incrementan el efecto del tren HFS sobre el tamaño de la LTD en tejido sano (véase figura 12). Como se ha mencionado, el RVTL modula la actividad sináptica e induce la LTD en concentraciones que se encuentran en el rango de 1-10 $\mu$ M. Efecto que es atribuido a la activación de los NMDA en la presinápsis (Hsieh et al., 2019).

Por sus características neurofisiológicas el estriado funciona como un núcleo regulador de la transmisión sináptica y, por lo tanto, al recibir estimulación de alta frecuencia inhibe la respuesta glutamatérgica excitatoria, lo cual se traduce en un decremento mantenido de la respuesta poblacional. Ese efecto es producto de la activación del sistema de retroalimentación negativa; mantenido por la activación o inhibición de corrientes dopaminérgicas reguladas por los receptores a dopamina D1 y D2, junto con la activación de mecanismo presinápticos inhibitorios, este sistema mantiene la fisiología del estriado evitando una sobre excitación (Bueno et al., 2011). En este caso, es posible suponer que la LTD generada es producto de la activación de los receptores NMDA ubicados en la postsinápsis que inhiben a los receptores AMPA; estudios anteriores realizados en sinapsis orofaciales en ratas, destacan el papel de los NMDA, enfatizando que el RVTL por su composición muestra mayor afinidad a los NMDA en comparación a los AMPA ubicados en la presinápsis. El RVTL al interactuar con los NMDA, provoca un aumento en las corrientes activas por K<sup>+</sup>, disminuyendo la excitabilidad de la neurona y en consecuencia limitando la liberación de glutamato (Takehana et al., 2017; Hsieh et al., 2019).

Ahora bien, en cuanto al efecto observado en registros realizados con tejido obtenido de ratones tratados con 3-NP, se observaron efectos diferentes una vez que se administró el tren HFS; por un lado, en la mayoría de los experimentos (7/10) se observó que la administración de RVTL

seguida del tren HFS generaba una LTD prácticamente igual a la observada en los grupos control. Sólo en el 30 % de los experimentos, la administración de RVTL seguida del tren HFS no modificó la LTP que se produce en el tejido proveniente de animales tratados con 3-NP (véase figura 18). Estudios previamente realizados, han destacado el papel de los receptores a NMDA y AMPA en la generación tanto de LTD como de LTP. Por ejemplo, se ha descrito que típicamente para la generación la LTP, existen tres condiciones necesarias: 1) requiere de estimulación de alta frecuencia (HFS), lo que conduce a la activación de los receptores NMDA en la postsinápsis, 2) la entrada masiva de  $\text{Ca}^{+2}$  producto de la activación de los NMDA, activa a su vez la expresión de CAM (calmodulina), proteína encargada de modular la entrada y salida de  $\text{Ca}^{+2}$  en la sinapsis. La entrada masiva de calcio sumada a la activación de CAM, conduce a la 3) fosforilación o auto fosforilación de los AMPA, los cuales muestran se expresan en la membrana postsináptica y favorecen el incremento de la respuesta. Por otro lado, la LTD requiere de 1) estimulación de baja frecuencia, la cual conduce a los NMDA una entrada masiva de  $\text{Ca}^{+2}$  en la postsinápsis, así como 2) la activación de las vías serina/treonina, las cuales disminuyen la probabilidad de unión del ligando con el receptor y al mismo tiempo limitan la expresión de PPI y CAMKII. En consecuencia, estas condiciones en la membrana conducen a la 3) fosforilación de P38 MAPK, favoreciendo la endocitosis de los AMPAR. Reflejándose así en el decremento de la respuesta sináptica (Ashby et al., 2004; Levin y Godukhin, 2017; Sibarov y Antonov, 2018).

No obstante, es posible que tanto el LTD como LTP dependan no solo de la activación o inhibición de los receptores NMDA-AMPA, sino que en el caso específico de los NMDA la diferencia en el efecto pueda ser atribuida a la activación de subtipos de este receptor. Por ejemplo, en estudios en los que fue evaluado el efecto de RVTL sobre la activación de los subtipos de los receptores NMDA (NR1/NR2A, NR1/NR2B, NR1/NR2C y NR1/NR2D) en hipocampo, se observó que el efecto de este antioxidante depende de: 1) el nivel de estrés celular, entendido como lo es el deterioro provocado por la edad neuronal o bien por la administración de algún agente neurotóxico. 2) el nivel de concentración de RVTL en el cultivo neuronal. Y 3) la activación de subunidades del receptor NMDA, específicamente la NR2B-NMDA. Esta última participa de forma activa en la regulación del  $\text{Ca}^{+2}$  extracelular e intracelular, y con la estimulación de alta frecuencia, es la responsable de inducir la LTD. De hecho, la baja expresión de la subunidad NR2B es el común denominador en diversas enfermedades neurológicas (Hsieh et al., 2019).

Por otro lado, la hiper activación de la respuesta estriatal que conduce a la LTP después de la estimulación de alta frecuencia, además de ser atribuida a variaciones en la concentración de RVTL, puede estar relacionada con la activación adicional de otros sistemas de neurotransmisión que varían en función de la conformación de cada sujeto. De forma particular se ha reportado que en modelos experimentales que imitan la fisiología del cerebro una vez desarrollada la adicción, se observa una activación de los receptos a endocannabinoides CB1 que de forma indirecta regulan liberación de glutamato en el estriado, favoreciendo la LTP. Se debe recordar que el estriado es la zona con el mayor número de aferencias corticales del cerebro medio, y en particular interactúa con circuitos como el de motivación-recompensa que se encuentran ligados a la expresión cannabinoideas (Fernández, 2006; Morera et al., 2016; Aguilera y Santamaría, 2016; López, 2017).

Finalmente, estos análisis parecen indicar que tanto la LTP como la LTD generadas en presencia de RVTL dentro del modelo de neurodegeneración por 3NP (véase figura 18), pueden ser producto de mecanismos o presinápticos o postsinápticos que al interactuar con la farmacocinética de las moléculas de RVTL, conducen a la activación de vías secundarias encargadas de la restauración de la actividad sináptica (como lo es SIRT1 o CREB). Mientras que los efectos exitotóxicos de la LTP en el estriado pueden ser producto de fallas en el reconocimiento del antioxidante, como es el caso de RVTL, consecuencia de alteraciones en la concentración del fármaco. Sin embargo, estos resultados parecen apoyar la hipótesis del RVTL como un restaurador de la actividad sináptica más allá de solo ser un agente neuroprotector; esto puede ser establecido al analizar los efectos de RVTL en la fisiología del estriado y observare que, sin la necesidad del pretratamiento, esta molécula posee la capacidad de recupera la fisiología típica de áreas como el estriado que ya mostraban daño en sus mecanismos de comunicación. Donde es estudio de la expresión de SIRT1 y la activación de vías como PKA-CREB con la administración crónica o aguda de RVTL, podrían ser la guía para futuros experimentos (Valenti et al., 2016; Li et al., 2016).

## CONCLUSIONES

- ❖ En el presente trabajo se observó que la administración aguda de RVTL en el registro fisiológico de la actividad glutamatérgica estriatal, modula la amplitud de la respuesta en tejido sano y recupera la fisiológica normal en tejido al que se le provocó daño con la administración de 3NP
- ❖ El efecto de RVTL en la modulación sináptica puede ser atribuido a mecanismos pre y postsinápticos. Disminuyendo la amplitud de la respuesta poblacional patológica tanto en grupos control como en los grupos con daño indicado por 3NP
- ❖ RVTL participa en la generación de plasticidad sináptica en el estriado. Favorece la aparición de procesos plásticos a largo plazo; induce el desarrollo de LTD en condiciones control y experimentales
- ❖ La administración de RVTL en tejido obtenido de sujetos pretratados con 3NP, mostró una diferencia de efectos, donde en la mayoría de los ensayos RVTL funge como un agente restaurador de la actividad sináptica estriatal
- ❖ Es posible que la diferencia de efectos tanto en la modulación como en el protocolo de plasticidad sináptica sean producto de la conformación estructural de receptores NMDA ubicados en la presinápsis.
- ❖ Se sugiere explorar el papel de RVTL como modulador de la actividad de los receptores NMDA así como de la expresión de SIRT

## BIBLIOGRAFÍA

- Abreu, G. S. A., Armas, J. M. B., & Fuentes, R. C. (2018). Terapias antienvjecimiento aplicadas a la enfermedad de Alzheimer. *Revista Española de Geriatría y Gerontología*, 53(1), 45-53.
- Aguilar, F. (2003). Plasticidad cerebral. Parte 1. *Rev Med IMSS*, 41(1), 55-64.
- Aguilera, G., & Santamaría, A. (2016). The Potential Therapeutic Role of the Cannabinoid System in Neurological Disorders of the Basal Ganglia: An Overview. In *Cannabinoids in Health and Disease*. IntechOpen.
- Alarcón-Aguilar, A., Maycotte-González, P., Cortés-Hernández, P., López-Diazguerrero, N. E., & Königsberg, M. (2019). Dinámica mitocondrial en las enfermedades neurodegenerativas. *Gaceta medica de Mexico*, 155(3), 276-283
- Alarcón-Herrera, N., Flores-Maya, S., Bellido, B., García-Bores, A. M., Mendoza, E., Ávila-Acevedo, G., & Hernández-Echeagaray, E. (2017). Protective effects of chlorogenic acid in 3-nitropropionic acid induced toxicity and genotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 1018-1025.
- Andres, D. S., & Darbin, O. (2018). Complex dynamics in the basal ganglia: health and disease beyond the motor system. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 30(2), 101-114.
- Arango-Lasprilla, J. C., Iglesias-Dorado, J., & Lopera, F. (2003). Características clínicas y neuropsicológicas de la enfermedad de Huntington: una revisión. *Rev Neurol*, 37(8), 758-65.
- Ariano, M. A., Cepeda, C., Calvert, C. R., Flores-Hernández, J., Hernández-Echeagaray, E., Klapstein, G. J., ... & Levine, M. S. (2005). Striatal potassium channel dysfunction in Huntington's disease transgenic mice. *Journal of neurophysiology*, 93(5), 2565-2574.
- Ashby, M. C., Sarah, A., Ralph, G. S., Uney, J., Collingridge, G. L., & Henley, J. M. (2004). Removal of AMPA receptors (AMPA receptors) from synapses is preceded by transient endocytosis of extrasynaptic AMPARs. *Journal of Neuroscience*, 24(22), 5172-5176.
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, (494), 161-172.
- Bello-Medina, P. C., González-Franco, D. A., Vargas-Rodríguez, I., & Díaz-Cintra, S. (2019). Estrés oxidativo, respuesta inmune, plasticidad sináptica y cognición en modelos transgénicos de la enfermedad de Alzheimer. *Neurología*.



- Bolam, J. P., Hanley, J. J., Booth, P. A. C., & Bevan, M. D. (2000). Synaptic organisation of the basal ganglia. *Journal of anatomy*, 196(4), 527-542.
- Bollinger, W. L., St. Germain, E. J., Maki, S. L., Sial, N. K., Lepore, S. D., & Dawson-Scully, K. (2018). Resveratrol-Inspired Bridged Bicyclic Compounds: A New Compound Class for the Protection of Synaptic Function from Acute Oxidative Stress. *ACS chemical neuroscience*, 10(1), 221-225.
- Bostan, A. C., & Strick, P. L. (2018). The basal ganglia and the cerebellum: nodes in an integrated network. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(6), 338-350.
- Bronfman, F. C., Lazo, O. M., Flores, C., y Escudero, C. A. (2014). Spatiotemporal intracellular dynamics of neurotrophin and its receptors. Implications for neurotrophin signaling and neuronal function. In *Neurotrophic Factors* (pp. 33-65). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Bueno-Nava, A., González-Piña, R., Ávila-Luna, A., & Alfaro-Rodríguez, A. (2011). Paradigma de retroalimentación negativa vía circuito largo en la modulación de la liberación de dopamina en el estriado dorsal de la rata. *Rev. neurol.(Ed. impr.)*, 371-377.
- Calabresi, P., Maj, R., Mercuri, N. B., & Bernardi, G. (1992)<sup>1</sup>. Coactivation of D1 and D2 dopamine receptors is required for long-term synaptic depression in the striatum. *Neuroscience letters*, 142(1), 95-99.
- Calabresi, P., Maj, R., Pisani, A., Mercuri, N. B., & Bernardi, G. (1992)<sup>2</sup>. Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *Journal of Neuroscience*, 12(11), 4224-4233.
- Calabresi, P., Saiardi, A., Pisani, A., Baik, J. H., Centonze, D., Mercuri, N. B., ... & Borrelli, E. (1997). Abnormal synaptic plasticity in the striatum of mice lacking dopamine D2 receptors. *Journal of Neuroscience*, 17(12), 4536-4544.
- Camargo-Mendoza, M., Castillo-Triana, N., Fandiño-Cardona, J. M., Mateus-Moreno, A., & Moreno-Martínez, M. (2017). Características del habla, el lenguaje y la deglución en la enfermedad de Huntington. *Revista de la Facultad de Medicina*, 65(2), 343-348.
- Carasatorre, M., Ramírez-Amaya, V., & Cintra, S. D. (2016). Plasticidad sináptica estructural en el hipocampo inducida por la experiencia espacial y sus implicaciones en el procesamiento de información. *Neurología*, 31(8), 543-549.
- Carta, G., Poddighe, L., Serra, M. P., Boi, M., Melis, T., Lisai, S., ... & Quartu, M. (2018). Preventive effects of resveratrol on endocannabinoid system and synaptic protein modifications in rat cerebral cortex challenged by bilateral common carotid artery occlusion and reperfusion. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 426.

- Carvalho, N. A., Firuzi, O., Gama, J. M., Horssen, J., y Saso, L. (2017). Oxidative stress and antioxidants in neurological diseases: is there still hope? *Current drug targets*, 18(6), 705-718.
- Cepeda, C., Hurst, R. S., Calvert, C. R., Hernández-Echeagaray, E., Nguyen, O. K., Jocoy, E., & Levine, M. S. (2003). Transient and progressive electrophysiological alterations in the corticostriatal pathway in a mouse model of Huntington's disease. *Journal of Neuroscience*, 23(3), 961-969.
- Charpier, S., & Deniau, J. M. (1997). In vivo activity-dependent plasticity at cortico-striatal connections: evidence for physiological long-term potentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(13), 7036-7040.
- Chéron, G. (2018). Neurofisiología del movimiento. Oscilaciones neuronales y aprendizaje motor. *EMC-Kinesiterapia-Medicina Física*, 39(2), 1-11.
- Citri, A., y Malenka, R. C. (2008). Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 18.
- Colino, A., Muñoz, J., & Vara, H. (2002). Plasticidad sináptica a corto plazo. *Revista de Neurología*, 34(6), 593-599.
- Córdoba-Montoya, D. A., Albert, J., y López-Martín, S. (2010). Potenciación a largo plazo en la corteza humana. *Rev Neurol*, 51(6), 367-74.
- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., y Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 206-212.
- Dal-Pan, A., Dudonne, S., Bourassa, P., Bourdoulous, M., Tremblay, C., Desjardins, Y., & Calon, F. (2017). Cognitive-enhancing effects of a polyphenols-rich extract from fruits without changes in neuropathology in an animal model of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 55(1), 115-135.
- de Paula, B. M. F., Takeuchi, P. L., & Vannucchi, H. (2018). Efecto del resveratrol, la catequina y el gingerol en la obesidad; evidencias incompletas. *Nutrición Clínica*, 12(1-2018), 37-46.
- Deinhardt, K., & Chao, M. V. (2014). Trk receptors. In *Neurotrophic Factors* (pp. 103-119). Springer, Berlin, Heidelberg.
- DeLong, M. R., & Wichmann, T. (2007). Circuits and circuit disorders of the basal ganglia. *Archives of neurology*, 64(1), 20-24.
- Dias, G. P., Cocks, G., do Nascimento Bevilaqua, M. C., Nardi, A. E., y Thuret, S. (2016). Resveratrol: a potential hippocampal plasticity enhancer. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
- Diering, G. H., & Huganir, R. L. (2018). The AMPA receptor code of synaptic plasticity. *Neuron*, 100(2), 314-329.

- Do, J., Kim, J. I., Bakes, J., Lee, K., & Kaang, B. K. (2013). Functional roles of neurotransmitters and neuromodulators in the dorsal striatum. *Learning & memory*, 20(1), 21-28.
- Dupuis, J. P., Bioulac, B. H., y Baufreton, J. (2014). Long-term depression at distinct glutamatergic synapses in the basal ganglia. *Reviews in the Neurosciences*, 25(6), 741-754.
- Dwyer, T.M. (2018). Base electroquímica de la función nerviosa. En Principios de neurociencia: aplicaciones básicas y aplicadas (34-53). Brcelona, España: Elsevier.
- Fan, Y., Chiu, J. F., Liu, J., Deng, Y., Xu, C., Zhang, J., & Li, G. (2018). Resveratrol induces autophagy-dependent apoptosis in HL-60 cells. *BMC cancer*, 18(1), 1-10.
- Fernández-Espejo, E. (2006). Neurobiología de la adicción a psicoestimulantes. *Revista de neurología*, 43 (3), 147-154.
- Floyd, R. A. (1999). Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders (44448). *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 222(3), 236-245.
- Galiniak, S., Aebisher, D., y Bartusik, A. D. (2019). Health benefits of resveratrol administration. *Acta Biochimica Polonica*, 66(1), 13-21.
- Garcés, M. V., y Suárez, E. J. C. (2014). Neuroplasticity: Biochemical and neurophysiological aspects. *CES Medicina*, 28(1), 119-132.
- Gomez, S. S., Gacar, N., Utkan, T., Gacar, G., Scarpace, P. J., & Tumer, N. (2016). Protective effects of resveratrol on aging-induced cognitive impairment in rats. *Neurobiology of learning and memory*, 131, 131-136.
- González-Tapia, D., González-Ramírez, M. M., Vázquez-Hernández, N., & González-Burgos, I. (2017). El aprendizaje motor induce cambios plásticos en las espinas dendríticas de las células de Purkinje del cerebelo de ratas. *Neurología*.
- Gopinath, K., & Sudhandiran, G. (2012). Naringin modulates oxidative stress and inflammation in 3-nitropropionic acid-induced neurodegeneration through the activation of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 signalling pathway. *Neuroscience*, 227, 134-143.
- Haines, D.E. y Terrell, A.C.. (2018). Introducción a la estructura e imagen del sistema nervioso central. En Principios de Neurociencia: aplicaciones básicas y aplicadas. (3-14). Barcelona, España: ELSEVIER.
- Hajjeva, P. (2017). The effect of polyphenols on protein degradation pathways: implications for neuroprotection. *Molecules*, 22(1), 159.

- Hanssen, H., Prasuhn, J., Heldmann, M., Diesta, C. C., Domingo, A., Göttlich, M., ... & Klein, C. (2019). Imaging gradual neurodegeneration in a basal ganglia model disease. *Annals of neurology*, 86(4), 517-526.
- Harkous, A. Y. (2019). Efectos de los polifenoles en el tratamiento de la esclerosis múltiple. *Terapeía*, (11), 121-154.
- Hernández Espinosa, D. R., Barrera Morín, V., Briz Tena, O., González Herrera, E. A., Laguna Maldonado, K. D., Jardínez Díaz, A. S., ... & Matuz Mares, D. (2019). El papel de las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno en algunas enfermedades neurodegenerativas. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 62(3), 6-19.
- Hernández-Echeagaray, E. 2010. "Advances in the neurobiology of Huntington's disease". The Neurobiological Sciences Applied to Psychiatry: From Genes, Proteins and Neurotransmitters to Behaviour. Research Signpost. pp.43-65.
- Hernández-Muela, S., Mulas, F., y Mattos, L. (2004). Plasticidad neuronal funcional. *Rev Neurol*, 38(1), 58-68.
- Higueruela Ahijado, L. M. (2016). Efecto Cardioprotector del Resveratrol: Mecanismos Implicados.
- Hsieh, C. P., Chang, W. T., Chen, L., Chen, H. H., & Chan, M. H. (2019). Differential inhibitory effects of resveratrol on excitotoxicity and synaptic plasticity: involvement of NMDA receptor subtypes. *Nutritional Neuroscience*, 1-16.
- Huganir, R. L., & Nicoll, R. A. (2013). AMPARs and synaptic plasticity: The last 25 years. *Neuron* 80, 704–717
- Imamura, Y., Yoshikawa, N., Murkami, Y., Mitani, S., Matsumoto, N., Matsumoto, H., ... & Shimazu, T. (2016). Effect of histone acetylation on N-Methyl-D-Aspartate 2B receptor subunits and interleukin-1 receptors in association with nociception-related somatosensory cortex dysfunction in a mouse model of sepsis. *Shock*, 45(6), 660-667.
- Jin, F., Wu, Q., Lu, Y. F., Gong, Q. H., & Shi, J. S. (2008). Neuroprotective effect of resveratrol on 6-OHDA-induced Parkinson's disease in rats. *European journal of pharmacology*, 600(1-3), 78-82.
- Johnston, D., & Miao-Sin, S. (1995). Foundations of cellular neurophysiology The MIT Press Cambridge.
- Johnston, D., & Wu, S. M. S. (1994). *Foundations of cellular neurophysiology* (pp.423-430). MIT press.

- Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M., Siegelbaum, S.A. y Hudspeth, A.J. (2013). Principles of Neural Science. McGraw Hill.
- Karpova, N. N. (2014). Role of BDNF epigenetics in activity-dependent neuronal plasticity. *Neuropharmacology*, 76, 709-718.
- Karthick, C., Periyasamy, S., Jayachandran, K. S., & Anusuyadevi, M. (2016). Intrahippocampal administration of ibotenic acid induced cholinergic dysfunction via NR2A/NR2B expression: implications of resveratrol against Alzheimer disease pathophysiology. *Frontiers in molecular neuroscience*, 9, 28.
- Katz, B., & Miledi, R. (1968). The role of calcium in neuromuscular facilitation. *The Journal of physiology*, 195(2), 481-492.
- Kim, Y. H., Kim, Y. S., Kang, S. S., Cho, G. J., & Choi, W. S. (2010). Resveratrol inhibits neuronal apoptosis and elevated Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II activity in diabetic mouse retina. *Diabetes*, 59(7), 1825-1835.
- Krebs, C., Akesson, E. J., & Weinberg, J. (2012). *Lippincott's Illustrated Reviews: Neuroscience*. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health.
- Ladesma Corvi, S. (2018). Análisis de los niveles de los enzimas acetilasa RBBP4 y deacetilasa SIRT1 en el hipocampo de rata vieja tras la administración crónica de extracto de te verde (polifenon 60) o del principio activo catequina.
- Levin, S. G., & Godukhin, O. V. (2017). Modulating effect of cytokines on mechanisms of synaptic plasticity in the brain. *Biochemistry (Moscow)*, 82(3), 264-274.
- Li, H., Wang, J., Wang, P., Rao, Y., & Chen, L. (2016). Resveratrol reverses the synaptic plasticity deficits in a chronic cerebral hypoperfusion rat model. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 25(1), 122-128.
- Lin, Y. T., Wu, Y. C., Sun, G. C., Ho, C. Y., Wong, T. Y., Lin, C. H., ... & Cheng, P. W. (2018). Effect of resveratrol on reactive oxygen species-induced cognitive impairment in rats with angiotensin II-induced early Alzheimer's disease. *Journal of clinical medicine*, 7(10), 329.
- Liu, L., Zhang, Q., Cai, Y., Sun, D., He, X., Wang, L., ... & Yang, Q. (2016). Resveratrol counteracts lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviors via enhanced hippocampal neurogenesis. *Oncotarget*, 7(35), 56045
- Liu, Q., Zhu, D., Jiang, P., Tang, X., Lang, Q., Yu, Q., & Feng, X. (2019). Resveratrol synergizes with low doses of L-DOPA to improve MPTP-induced Parkinson disease in mice. *Behavioural brain research*, 367, 10-18.

- López, Q. M. M. (2017). Efecto de la modulación del receptor para cannabinoide 1 (RCB1) Sobre marcadores bioquímicos y conductuales de neurotoxicidad estriatal inducidos por el ácido 3-nitropropiónico (3-NP) En Ratas.
- Lorigados, L. P., Pavón, F.N., Serrano, S. T., Blanco, L. L., Almaguer, M.W., Fernández, V.I., Macías, G.R., de la Cuétara, B.K., Castillo, D.L., Martínez, M.L., Robinson, A.M.A. y Bergado, R.J. (2009). Modelos experimentales de neurodegeneración: Tratamiento restaurativo y factor de crecimiento nervioso. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 10(4), 264-273.
- Lu, K. T., Ko, M. C., Chen, B. Y., Huang, J. C., Hsieh, C. W., Lee, M. C., ... & Yang, Y. L. (2008). Neuroprotective effects of resveratrol on MPTP-induced neuron loss mediated by free radical scavenging. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(16), 6910-6913.
- Ma, X., Sun, Z., Han, X., Li, S., Jiang, X., Chen, S., ... & Lu, H. (2019). Neuroprotective effect of resveratrol via activation of Sirt1 signaling in a rat model of combined diabetes and Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*, 13.
- Machado, S., Portella, C. E., Silva, J. G., Velasques, B., Bastos, V. H., Cunha, M., y Ribeiro, P. (2008). Aprendizaje y memoria implícita: mecanismos y neuroplasticidad. *Rev Neurol*, 46(9), 543-549.
- Mahdy, H. M., Tadros, M. G., Mohamed, M. R., Karim, A. M., & Khalifa, A. E. (2011). The effect of Ginkgo biloba extract on 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rats. *Neurochemistry international*, 59(6), 770-778.
- Martínez-Lazcano, J. C., Boll-Woehrlen, M. C., Hernández-Melesio, M. A., Rubio-Osornio, M., Sánchez-Mendoza, M. A., & Ríos, C. (2010). Radicales libres y estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas. *Mensaje Bioquim*, 34, 43-59.
- Menard, C., Bastianetto, S., & Quirion, R. (2013). Neuroprotective effects of resveratrol and epigallocatechin gallate polyphenols are mediated by the activation of protein kinase C gamma. *Frontiers in cellular neuroscience*, 7, 281.
- Méndez, N.T., Ortiz-Muñiz, R. A., Mendoza-Núñez, M. V., & García-Rodríguez, C.M. (2020). El papel del resveratrol sobre el estrés oxidante inducido por metales pesados. *Nutricion Hospitalaria*, 37(2).
- Mihailoff, G.A. & Haines, D.E.. (2018). Biología celular de las neuronas y glía. En Principios de neurociencia: aplicaciones básicas y aplicadas (20-33). Barcelona, España: Elsevier.
- Miranda, B. J. A. (2015). Papel de cdk5 en la modulación dopaminérgica de la plasticidad estriatal en un modelo murino de la enfermedad de Huntington.

- Miranda, R., Adrover-Adrover, D., Sánchez-Cubillo, I., & Muñoz, M. (2013). Mecanismos sinápticos y moleculares del aprendizaje y la memoria. *Neurociencia cognitiva*, 439-462.
- Mitre, M., Mariga, A., y Chao, M. V. (2017). Neurotrophin signalling: novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clinical Science*, 131(1), 13-23.
- Modaberi, S., Shahbazi, M., Dehghan, M., & Naghdi, N. (2018). The role of mild treadmill exercise on spatial learning and memory and motor activity in animal models of ibotenic acid-induced striatum lesion. *Sport Sciences for Health*, 14(3), 587-596.
- Mohan, S., Gobinath, T., Salomy, A., Nisha, M., Kandasamy, M., Mohamed Essa, M., y Anusuyadevi, M. (2018). Biophysical interaction of resveratrol with sirtuin pathway: significance in Alzheimer's disease. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 23, 1380-1390.
- Moreno, H., & Moreno, C. B. (2005). Transmisión sináptica-canales de calcio y liberación de neurotransmisores. *Revista Ciencias de la Salud*, 3(1), 47-61.
- Morera-Herrerías, T., Miguez, C., Aristieta, A., Torrecilla, M., Ruiz-Ortega, J. A., & Ugedo, L. (2016). Cannabinoids and motor control of the basal ganglia: therapeutic potential in movement disorders. *Cannabinoids in Health and Disease. InTech*, 59-92.
- Morgado, I. (2005). Psicobiología del aprendizaje y la memoria: fundamentos y avances recientes. *Rev Neurol*, 40(5), 289-297.
- Nanou, E., & Catterall, W. A. (2018). Calcium channels, synaptic plasticity, and neuropsychiatric disease. *Neuron*, 98(3), 466-481.
- Navarro, G., Martínez-Pinilla, E., Ortiz, R., Noé, V., Ciudad, C. J., & Franco, R. (2018). Resveratrol and Related Stilbenoids, Nutraceutical/Dietary Complements with Health-Promoting Actions: Industrial Production, Safety, and the Search for Mode of Action. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 808-826.
- Neher, E., & Brose, N. (2018). Dynamically primed synaptic vesicle states: key to understand synaptic short-term plasticity. *Neuron*, 100(6), 1283-1291.
- Nicholson, E., y Kullmann, D. M. (2014). Long-term potentiation in hippocampal oriens interneurons: postsynaptic induction, presynaptic expression and evaluation of candidate retrograde factors. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 369(1633), 20130133.
- Nishiyama, J. (2019). Plasticity of dendritic spines: Molecular function and dysfunction in neurodevelopmental disorders. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 73(9), 541-550.



- Ospina-García, N., Pérez-Lohman, C., Vargas-Jaramillo, J. D., Cervantes-Arriaga, A., & Rodríguez-Violante, M. (2017). Basal Ganglia and Behavior. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 18(6), 74-86.
- Palacios-Filardo, J., & Mellor, J. R. (2019). Neuromodulation of hippocampal long-term synaptic plasticity. *Current opinion in neurobiology*, 54, 37-43.
- Pallàs, M., Casadesús, G., Smith, M. A., Coto-Montes, A., Pelegri, C., Vilaplana, J., & Camins, A. (2009). Resveratrol and neurodegenerative diseases: activation of SIRT1 as the potential pathway towards neuroprotection. *Current neurovascular research*, 6(1), 70-81.
- Pallàs, M., Porquet, D., Vicente, A., & Sanfeliu, C. (2013). Resveratrol: new avenues for a natural compound in neuroprotection. *Current pharmaceutical design*, 19(38), 6726-6731.
- Pannu, N., & Bhatnagar, A. (2019). Resveratrol: From enhanced biosynthesis and bioavailability to multitargeting chronic diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 2237-2251.
- Pany, S., Ghosh, A., You, Y., Nguyen, N., & Das, J. (2017). Resveratrol inhibits phorbol ester-induced membrane translocation of presynaptic Munc13-1. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1861(11), 2640-2651.
- Prius Mengual, J. (2019). Mecanismos celulares y moleculares involucrados en los cambios de plasticidad sináptica que ocurren durante el desarrollo juvenil en el hipocampo de ratón.
- Purves, D., Fitzpatrick, D., Augustine, J., & Katz, L. (2004). Neurociencia
- Ramírez-Garza, S. L., Laveriano-Santos, E. P., Marhuenda-Muñoz, M., Storniolo, C. E., Tresserra-Rimbau, A., Vallverdú-Queralt, A., & Lamuela-Raventós, R. M. (2018). Health effects of resveratrol: Results from human intervention trials. *Nutrients*, 10(12), 1892.
- Rebolledo, F. A. (2003). ¿Es posible la restauración cerebral? Mecanismos biológicos de la plasticidad neuronal. *Plasticidad y Restauración Neurológica*, 2(2), 143-152.
- Rodríguez, E., Rivera, I., Astorga, S., Mendoza, E., García, F., & Hernández-Echeagaray, E. (2010). Uncoupling oxidative/energy metabolism with low sub chronic doses of 3-nitropropionic acid or iodoacetate in vivo produces striatal cell damage. *International journal of biological sciences*, 6(3), 199-212.
- Roig, D. A., Marrón, E. M., Sánchez-Cubillo, I., & Miranda, R. (2013). Neurobiología de los sistemas de aprendizaje y memoria. In *Neurociencia cognitiva* (pp. 411-438). Editorial Médica Panamericana.



- Rosales-Reynoso, M. A., Ochoa-Hernández, A. B., Juárez-Vázquez, C. I., & Barros-Núñez, P. (2016). Mecanismos epigenéticos en el desarrollo de la memoria y su implicación en algunas enfermedades neurológicas. *Neurología*, *31*(9), 628-638.
- Roseberry, T. K., Lee, A. M., Lalive, A. L., Wilbrecht, L., Bonci, A., & Kreitzer, A. C. (2016). Cell-type-specific control of brainstem locomotor circuits by basal ganglia. *Cell*, *164*(3), 526-537.
- Rosenzweig, M. R., Aliaga, E., Leiman, A. L., & Pérez Pamies, M. (1992). *Psicología fisiológica*. McGraw-Hill Interamericana, P. 205
- Rouviere, H., & Delmas, A. (2005). Sistema nervioso central, vías y centros nerviosos. En *Anatomía Humana*. 4(4-18). París, Francia: MASSON.
- Sahu, S. S., Madhyastha, S., & Rao, G. M. (2013). Neuroprotective effect of resveratrol against prenatal stress induced cognitive impairment and possible involvement of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *103*(3), 520-525.
- Sancho, M., & Mach, N. (2015). Efecto de los polifenoles del vino sobre la prevención del cáncer. *Nutrición Hospitalaria*, *31*(2), 535-551.
- Sarubbo, F., Ramis, M. R., Aparicio, S., Ruiz, L., Esteban, S., Miralles, A., y Moranta, D. (2015). Improving effect of chronic resveratrol treatment on central monoamine synthesis and cognition in aged rats. *Age*, *37*(3), 37.
- Shen, J. D., Zhang, Y. W., Wang, B. Y., Bai, L., Lu, S. F., Zhu, L. L., ... & Xu, E. P. (2020). Effects of resveratrol on the levels of ATP, 5-HT and GAP-43 in the hippocampus of mice exposed to chronic unpredictable mild stress. *Neuroscience Letters*, 135232.
- Shimazu, Y., Shibuya, E., Takehana, S., Sekiguchi, K., Oshima, K., Kamata, H., ... & Takeda, M. (2016). Local administration of resveratrol inhibits excitability of nociceptive wide-dynamic range neurons in rat trigeminal spinal nucleus caudalis. *Brain research bulletin*, *124*, 262-268.
- Sibarov, D. A., & Antonov, S. M. (2018). Calcium-dependent desensitization of NMDA receptors. *Biochemistry (Moscow)*, *83*(10), 1173-1183.
- Suárez-Revelo, X., Ochoa-Gomez, J. F., Tobón-Quintero, C. A., & Duque-Grajales, J. E. (2014). Conectividad funcional en adultos mayores a partir de resonancia magnética funcional como un posible indicador para la enfermedad de Alzheimer. *Acta Neurol Colomb*, *30*(4), 273-281.
- Takehana, S., Kubota, Y., Uotsu, N., Yui, K., Iwata, K., Shimazu, Y., & Takeda, M. (2017). The dietary constituent resveratrol suppresses nociceptive neurotransmission via the NMDA receptor. *Molecular Pain*, *13*, 1744806917697010.

- Tasset, I., Sánchez, F., & Túnez, I. (2009). Bases moleculares de la enfermedad de Huntington: papel del estrés oxidativo. *Rev Neurol*, *49*, 424-429.
- Tian, X., Liu, Y., Ren, G., Yin, L., Liang, X., Geng, T., y An, R. (2016). Resveratrol limits diabetes-associated cognitive decline in rats by preventing oxidative stress and inflammation and modulating hippocampal structural synaptic plasticity. *Brain research*, *1650*, 1-9.
- Tian, Z., Wang, J., Xu, M., Wang, Y., Zhang, M., & Zhou, Y. (2016). Resveratrol improves cognitive impairment by regulating apoptosis and synaptic plasticity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *40*(6), 1670-1677.
- Todorova, V., & Blokland, A. (2017). Mitochondria and synaptic plasticity in the mature and aging nervous system. *Current neuropharmacology*, *15*(1), 166-173.
- Torres-Pérez, M., Tellez-Ballesteros, R. I., Ortiz-López, L., Ichwan, M., Vega-Rivera, N. M., Castro-García, M., y Ramirez-Rodriguez, G. B. (2015). Resveratrol enhances neuroplastic changes, including hippocampal neurogenesis, and memory in Balb/C mice at six months of age. *PLoS One*, *10*(12), e0145687.
- Túnez, I., Tasset, I., Pérez-De La Cruz, V. y Santamaría, A. 2010. “3-Nitropropionic Acid as a Tool to Study the Mechanisms Involved in Huntington’s Disease: Past, Present and Future”. *Mol*, *15*, pp.878-916.
- Valenti, D., de Bari, L., de Rasmio, D., Signorile, A., Henrion-Caude, A., Contestabile, A., & Vacca, R. A. (2016). The polyphenols resveratrol and epigallocatechin-3-gallate restore the severe impairment of mitochondria in hippocampal progenitor cells from a Down syndrome mouse model. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, *1862*(6), 1093-1104.
- Vinet, R., Álvarez, R., Knox, M., & Guzman, L. (2015). Bioactividad y potencial terapéutico de resveratrol y derivados sobre el sistema cardiovascular. *Rev. Farmacol*, *8*, 52-61.
- Wang, B., Ge, S., Xiong, W., & Xue, Z. (2018). Effects of resveratrol pretreatment on endoplasmic reticulum stress and cognitive function after surgery in aged mice. *BMC anesthesiology*, *18*(1), 141.
- Wang, G., Chen, L., Pan, X., Chen, J., Wang, L., Wang, W., ... & Zhang, H. T. (2016). The effect of resveratrol on beta amyloid-induced memory impairment involves inhibition of phosphodiesterase-4 related signaling. *Oncotarget*, *7*(14), 17380.
- Warburton, E. C., Barker, G. R., y Brown, M. W. (2013). Investigations into the involvement of NMDA mechanisms in recognition memory. *Neuropharmacology*, *74*, 41-47.
- Wiciński, M., Domanowska, A., Wódkiewicz, E., & Malinowski, B. (2020). Neuroprotective Properties of Resveratrol and Its Derivatives—Influence on Potential Mechanisms Leading to the Development of Alzheimer’s Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(8), 2749.

- Wunsch, K., Weigelt, M., & Stöckel, T. (2017). Anticipatory motor planning in older adults. *The Journals of Gerontology: Series B*, 72(3), 373-382.
- Xia, D., Sui, R., & Zhang, Z. (2019). Administration of resveratrol improved Parkinson's disease-like phenotype by suppressing apoptosis of neurons via modulating the MALAT1/miR-129/SNCA signaling pathway. *Journal of cellular biochemistry*, 120(4), 4942-4951.
- Yu, L., Wang, S., Kogure, Y., Yamamoto, S., Noguchi, K., & Dai, Y. (2013). Modulation of TRP channels by resveratrol and other stilbenoids. *Molecular pain*, 9, 1744-8069.