



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**Evaluación del efecto antioxidante de la carnosina y
la vitamina E en la región CA1 del hipocampo en un
modelo murino por inhalación de pentóxido de
vanadio**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

DANIELA ALTAMIRA SÁNCHEZ

**DIRECTORA DE TESIS: DRA. LAURA COLÍN BARENQUE
ASESOR INTERNO: DR. MARIO AGUSTIN ALTAMIRANO LOZANO**

Ciudad de México., 2017



**FES
ZARAGOZA**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está 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.

DATOS DEL JURADO

1. Datos del alumno	
Apellido paterno:	Altamira
Apellido materno:	Sánchez
Nombre:	Daniela
Teléfono:	5537202239
Universidad:	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad:	Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Carrera:	Biología
Número de cuenta:	30800253-3
2. Datos del tutor	
Grado:	Dra.
Nombre:	Laura
Apellido paterno:	Colín
Apellido materno:	Barenque
3. Datos del asesor interno	
Grado:	Dr.
Nombre:	Mario Agustín
Apellido paterno:	Altamirano
Apellido materno:	Lozano
4. Datos del sinodal 1	
Grado:	M. en IBSH.
Nombre:	Angélica
Apellido paterno:	Flores
Apellido materno:	Ramírez
5. Datos del sinodal 2	
Grado:	Dra.
Nombre:	María Del Carmen
Apellido paterno:	García
Apellido materno:	Rodríguez
6. Datos del sinodal 3	
Grado:	Dr.
Nombre:	Octavio Daniel
Apellido paterno:	Reyes
Apellido materno:	Hernández
7. Datos del trabajo escrito:	
Título:	Evaluación del efecto antioxidante de la carnosina y la vitamina E en la región CA1 del hipocampo en un modelo murino por inhalación de pentóxido de vanadio.
Año:	2017

AGRADECIMIENTOS

Primero y como más importante, me gustaría agradecer sinceramente a mi asesora de Tesis, la Dra. Laura Colín, por su esfuerzo y dedicación, sus conocimientos, su paciencia y su motivación, han sido fundamentales para mi formación como investigadora.

A la M. en C. Patricia Bizarro, por brindarme su ayuda durante todo el tiempo que estuve en el laboratorio.

A Paco y Armando, gracias por su apoyo en la toma de fotos y por sus comentarios alentadores.

A la Dra. Teresa I. Fortoul, por abrirme las puertas en el laboratorio y permitirme ser parte de este gran grupo de trabajo, así como por sus valiosos comentarios.

Agradezco a cada uno de los miembros del jurado por sus atinados comentarios que enriquecieron de manera sustancial mi tesis.

Dra. Laura Colín Barenque
Dr. Mario A. Altamirano Lozano
M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez
Dra. María Del Carmen García Rodríguez
Dr. Octavio Daniel Reyes Hernández

De igual forma, hago un agradecimiento especial a mi hermana Paulina, por sus diversas aportaciones que enriquecieron el trabajo.

Y a Dios.

Este trabajo fue apoyado por el proyecto DGAPA PAPIIT IN220414.

DEDICATORIAS

Este trabajo esta dedicado de manera especial a mis padres Gerardo y Lilia, pues ellos fueron el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, sentando en mí, las bases de responsabilidad y deseos de superación, en ellos, tengo el espejo en el cual me quiero reflejar, pues sus virtudes infinitas me llevan a admirarlos cada día más, les agradezco por su paciencia y apoyo incondicional, los amo.

A mi hermanita Pauly, por ser mi confidente y mí mejor amiga, gracias por estar presente no solo en esta etapa tan importante de mi vida, sino en todo momento, brindándome tus palabras de aliento cuando más las necesito, te amo.

A mis queridos amigos Jes, Tefy, Sol, Maik, Katy, Chucho, Osvan, Mony, Claudina y Angel, por apoyarme, por brindarme su amistad y su confianza, con ustedes he pasado momentos muy felices, han estado a mi lado tanto en las buenas como en las malas, por ello valoro mucho nuestra amistad, gracias por todos los momentos que vivimos juntos, los quiero.

A Eduardo, por estar a mi lado y ayudarme siempre, has sido muy importante para mi en este proceso y en mi vida, te agradezco tu apoyo y cariño en todo momento, te amo.

Evaluación del efecto antioxidante de la carnosina y la vitamina E en la región CA1 del hipocampo en un modelo murino por inhalación de pentóxido de vanadio

ÍNDICE

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	1
RESUMEN.....	2
I. INTRODUCCIÓN	4
1.1 Contaminación atmosférica.....	4
1.1.2 Partículas suspendidas	4
1.1.3 Contaminación atmosférica en la Zona metropolitana del Valle de México.....	6
1.1.4 Contaminación por metales	8
1.2 VANADIO.....	8
1.2.1 Generalidades	8
1.2.2 Usos	9
1.2.3 Fuentes de emisión	10
1.2.4 Toxicocinética.....	10
1.2.5 Estrés oxidante inducido por vanadio	12
1.2.6 Toxicodinamia.....	13
1.2.7 Efectos del vanadio en la salud.....	13
1.2.8 Efectos del vanadio en el Sistema Nervioso Central.....	14
1.2.9 Implicaciones del estrés oxidante en las enfermedades neurodegenerativas.....	14
1.3 ANTIOXIDANTES	15
1.4 CARNOSINA.....	16
1.4.1 Generalidades	16
1.4.2 Carnosina y SNC	18
1.5 VITAMINA E.....	19
1.5.1 Generalidades	19
1.5.2 Vitamina E y SNC	23
1.6 TRATAMIENTOS CON CARNOSINA Y VITAMINA E	24
1.7 HIPOCAMPO	25
1.8 ESPINAS DENDRÍTICAS	28
II. JUSTIFICACIÓN.....	32
III. HIPÓTESIS.....	32
IV. OBJETIVOS.....	32
4.1 Objetivo general.....	32
4.2 Objetivo particular.....	32
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33

5.1 Animales	33
5.2 Tratamientos	33
5.3 Sacrificio y fijación.....	34
5.4 Técnica rápida de Golgi	34
5.5 Análisis citológico.....	35
VI. RESULTADOS	35
VII. DISCUSIÓN	39
VIII. CONCLUSIÓN.....	49
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
X. ANEXO	65

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucléico
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
ANOVA	Análisis de Varianza
APoE	Apolipoproteína E
CA	Cuerno de Amón
CN	Carnosinasa
CS	Carnosina sintetasa
DC	Dienos Conjugados
EA	Enfermedad de Alzheimer
ED	Espinas dendríticas
EP	Enfermedad de Parkinson
ERN	Especies reactivas de nitrógeno
ERO	Especies reactivas de oxígeno
GPX	Glutación peroxidasa
GSH	Glutación
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
IL-6	Interleucina-6
LDL	Lipoproteína de baja densidad
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógeno
MDA	Malondialdehído
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NT	Nitrotirosina
O₂⁻	Radical superóxido
O₂	Oxígeno
OH[·]	Radical hidroxilo
PM	Partículas suspendidas o material particulado
RL	Radicales libres
SNC	Sistema nervioso central
SO₂	Dióxido de azufre
SOD	Superóxido dismutasa
TG	Triglicéridos
TH	Tirosina hidroxilasa
V	Vanadio
V₂O₅	Pentóxido de vanadio
V^{IV}	Vanadil
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
VO²⁺	Iones vanadil
V^V	Vanadato
ZMVM	Zona Metropolitana del Valle de México

RESUMEN

La contaminación atmosférica se ha convertido en un problema de salud en todo el mundo. Debido a que los contaminantes ambientales han repercutido de forma dañina en la salud, teniendo un impacto negativo sobre el sistema nervioso central (SNC) provocando neuroinflamación y neurodegeneración.

En la Zona Metropolitana del Valle de México el uso desmedido de combustibles fósiles, ha favorecido la emisión y acumulación de contaminantes atmosféricos. Dentro de estos contaminantes se encuentran las partículas suspendidas a las cuales pueden ir adosados metales, como el vanadio (V) que es un metal de transición ampliamente distribuido en el ambiente, en los últimos años los niveles de V han aumentado en la atmósfera, esto como consecuencia del incremento de la quema de combustibles fósiles con un alto contenido de V.

Uno de los efectos adversos que provoca el V, es que promueve la formación endógena de especies reactivas de oxígeno (ERO) y por consiguiente, produce estrés oxidante, siendo un factor de riesgo en el desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas tales como el Parkinson y el Alzheimer. Por ende una manera de inhibir o retrasar la tasa de oxidación provocada por las ERO, es a través de antioxidantes como la carnosina y vitamina E, se ha documentado que estos antioxidantes al ser administrados de forma simultánea aumentan su eficacia antioxidante.

En un modelo de inhalación a pentóxido de vanadio (V_2O_5), se ha documentado pérdida de espinas dendríticas (ED) en las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo, que se correlaciona con el deterioro en la memoria espacial. A su vez, en el mismo modelo se evidenció que la administración de la carnosina no tuvo efecto neuroprotector en ésta región del hipocampo.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto antioxidante de la carnosina y la vitamina E, en la región CA1 del hipocampo de ratones expuestos a vanadio por vía inhalada.

Se utilizaron 30 ratones machos de la cepa CD-1, los cuales se dividieron en 6 grupos, cada uno de 5 ratones: 1) control, 2) expuestos a V_2O_5 , 3) tratados con carnosina, 4) tratados con vitamina E, 5) tratados con carnosina y vitamina E, 6) expuestos a V_2O_5 y tratados con carnosina y vitamina E, lo anterior con base en los estudios realizados por Giris M. y colaboradores en el 2014. Al concluir las cuatro semanas, los ratones fueron anestesiados con una dosis letal de Pentobarbital Sódico y perfundidos por vía intracardíaca con solución salina y paraformaldehído al 4%, posteriormente se extrajeron los cerebros y se procesaron con la técnica rápida de Golgi. El análisis citológico consistió en contar el número de ED en 10 μm de 4 dendritas secundarias por neurona, en 20 neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo, por individuo de cada grupo.

Los resultados obtenidos en el análisis citológico de las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo, mostraron disminución significativa en la cantidad de ED del grupo expuesto a V en comparación con el grupo control. A diferencia de lo esperado, los ratones expuestos a V y tratados con carnosina y vitamina E, presentaron mayor pérdida de ED en comparación con el grupo expuesto a V.

Asimismo, el grupo tratado con vitamina E presento mayor pérdida en el número de ED en comparación con el grupo tratado con carnosina, a su vez ambos grupos presentaron menor cantidad de ED en comparación con el grupo control. Por otro lado el grupo tratado con carnosina y vitamina E de forma simultánea no presentó diferencia significativa en la densidad espinosa en comparación con el grupo control

Con base en los resultados se puede decir que la administración simultánea de vitamina E y carnosina no atenúa la pérdida de ED de las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo provocada por la inhalación de V_2O_5 , de hecho, es el grupo que presentó mayor pérdida de espinas, posiblemente por el efecto prooxidante de la vitamina E que probablemente potenció el estado de estrés oxidante iniciado por las ERO generadas por el V.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Contaminación atmosférica

La contaminación atmosférica se caracteriza por la presencia de cualquier tipo de sustancias en el aire, ya sean químicas, físicas o biológicas que en ciertas cantidades pueden ser perjudiciales para la vida, estas sustancias modifican las características naturales de la atmósfera, lo que ocasiona daños en la salud (Valencia-Moulton y Yang, 2012). Asimismo, según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2001) constituye uno de los principales riesgos a la salud, puesto que se ha comprobado que existe una relación estrecha entre los niveles elevados de contaminación y el aumento en la mortalidad y morbilidad tanto en países desarrollados como en desarrollo. Por lo que se considera un problema complejo, debido a que la calidad del aire es el resultado de profundas implicaciones estructurales, funcionales y territoriales que tienen que ver con el volumen de contaminantes emitidos, con el comportamiento fisicoquímico de las partículas producidas y de la dinámica meteorológica, que determinan la velocidad de dispersión y transformación de los contaminantes atmosféricos (Vallejo et al., 2003).

Los contaminantes atmosféricos pueden ser originados por fuentes naturales, como son las emisiones resultantes de incendios forestales, emisiones liberadas en erupciones volcánicas o durante la combustión de la madera, o bien pueden ser producidos por fuentes antropogénicas, como son los residuos producidos por la quema de combustible de vehículos automotores, industrias, así como la incineración de basura (Gómez-Gómez y Danglot-Banck., 1998). Una de las clasificaciones de contaminantes es aquella que diferencia a los contaminantes según su origen, clasificándolos como primarios y secundarios. Los contaminantes primarios son aquellos producidos directamente por alguna fuente contaminante, originándose en los procesos de combustión principalmente de los derivados del petróleo (HC, CO, NO, SO₂). En cuanto a los contaminantes secundarios, éstos se forman en la atmósfera, como resultado de la interacción química entre gases y contaminantes primarios, con la ayuda de la radiación solar, formando así gran cantidad de contaminantes, siendo generalmente más nocivos que los primarios como son el ozono (O₃), el nitrato de peroxiacetilo y las partículas suspendidas (Poljsak y Fink., 2014).

1.1.2 Partículas suspendidas

Las partículas suspendidas (PM) por sus siglas en inglés (Figura 1) forman una mezcla compleja de materiales sólidos y líquidos suspendidos en el aire por periodos variables. Las PM pueden variar significativamente en tamaño, forma y composición, dependiendo fundamentalmente de su origen (Englert, 2004).

Pueden ser de origen natural o bien formarse por reacciones fotoquímicas en la atmósfera por lo que pueden proceder de la emisión de polvos, gases y vapores de vehículos automotores y fábricas. Las PM están formadas por un núcleo de carbono y por compuestos orgánicos e inorgánicos, adheridos a su superficie, se clasifican respecto a su tamaño en:

- **Partículas ultra finas:** se caracterizan por tener un diámetro aerodinámico menor de $1 \mu\text{m}$, son generadas directamente por combustión (quemadas forestales y quema de combustibles como la gasolina y el diésel) y actividad fotoquímica. Tienden a unirse a partículas de mayor tamaño.
- **Partículas finas:** poseen un diámetro aerodinámico igual o menor a $2.5 \mu\text{m}$ (PM 2.5), están formadas primordialmente por gases y por material proveniente de la combustión, una gran proporción de esta fracción, son secundarias., entre los cuales destacan metales como el plomo, magnesio, carbono, níquel, vanadio entre otros. Estas partículas suelen ser más tóxicas que las gruesas.
- **Partículas gruesas:** poseen un diámetro menor de $10 \mu\text{m}$ (PM 10) y mayor de $2.5 \mu\text{m}$, contienen principalmente materiales de la corteza terrestre y se originan en su mayoría por procesos de desintegración de partículas más grandes. También pueden contener material biológico como polen, esporas, virus o bacterias o provenir de la combustión incompleta de combustibles fósiles.

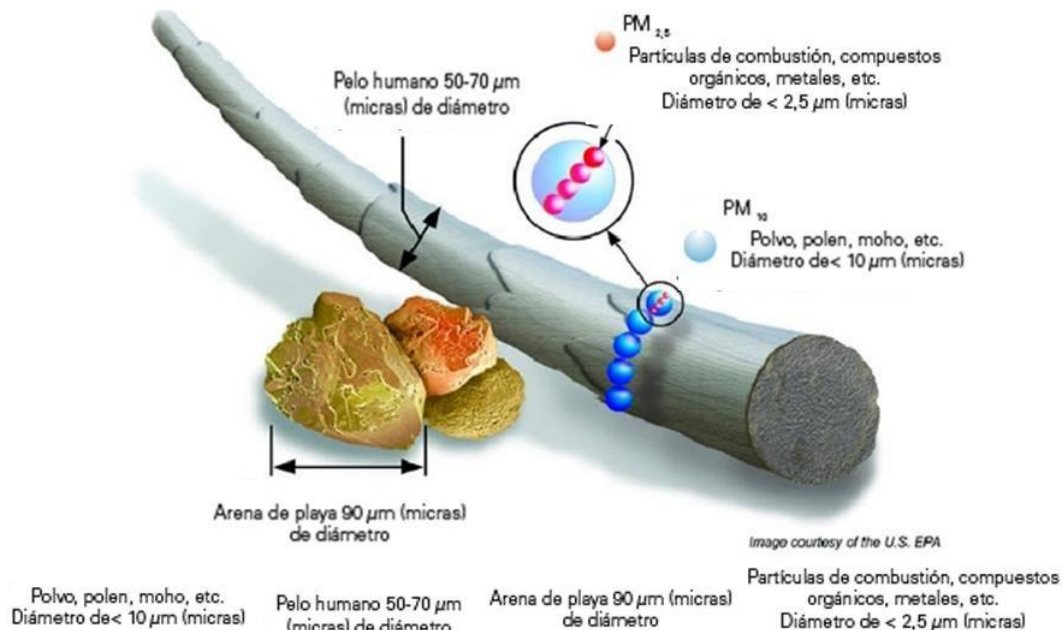


Figura 1. Partículas suspendidas (Tomado y modificado de Gómez-Gómez y Danglot-Banck, 1998).

El tamaño de las PM es un parámetro importante para caracterizar su comportamiento en la atmósfera y por ende, la concentración a la que puede estar expuesta la población.

En términos de sus efectos en la salud, se sabe que entre más pequeñas sean las PM, pueden penetrar con mayor facilidad hasta las vías bajas del aparato respiratorio, con posibles efectos tóxicos debido a sus características fisicoquímicas. Las PM 10 pueden entrar directamente al aparato respiratorio y depositarse en la región extratorácica del tracto respiratorio (nariz, boca, nasofaringe, orofaringe y laringofarínge), mientras que las PM 2.5 conocidas también como fracción respirable, penetran hasta vías respiratorias inferiores fundamentalmente en la región traqueobronquial (tráquea hasta bronquiolo terminal), aunque pueden ingresar a los alvéolos y las partículas ultrafinas PM 0.1 se depositan mayoritariamente en la región alveolar, incrementando la posibilidad de atravesar la membrana alvéolo capilar hacia el torrente sanguíneo y migrar hacia otros órganos (Vallejo et al., 2003).

Así, las PM son capaces de interferir con uno o más mecanismos de defensa del aparato respiratorio, o actuar como vehículo de sustancias tóxicas absorbidas o adheridas a la superficie de la partícula. La prolongada exposición de las PM se asocia con enfermedades respiratorias, cardiovasculares y neurodegenerativas debido a que las PM también causan estrés oxidante a través de generación directa de ERO en las superficies de los compuestos solubles (Englert, 2004; Calderón-Garcidueñas et al., 2008; Chirino et al., 2010; Vallejo et al., 2003). Por lo que, la composición química de las partículas juega un papel importante en relación a los daños específicos a la salud y varía de un sitio a otro, dependiendo de la fuente de emisión, así como de las condiciones geográficas y meteorológicas en las que se encuentran, éstas últimas favorecen el incremento de la contaminación en varias ciudades entre las cuales destaca la Zona Metropolitana del Valle de México.

1.1.3 Contaminación atmosférica en la Zona metropolitana del Valle de México

En la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), la contaminación atmosférica se ha incrementado sobrepasando por mucho los niveles permisibles por las normas nacionales e internacionales (Figura 2) debido a que presenta varias peculiaridades, las cuales lo afectan negativamente con respecto a la contaminación. Una de ellas es que la ZMVM es una cuenca cerrada, ya que está rodeada de montañas de las sierras del Ajusco, Chichinautzin, Nevada, Las Cruces, Guadalupe y Santa Catarina, las cuales forman una barrera física natural para la circulación del aire, impidiendo así que existan vientos laminares que puedan barrer los contaminantes.

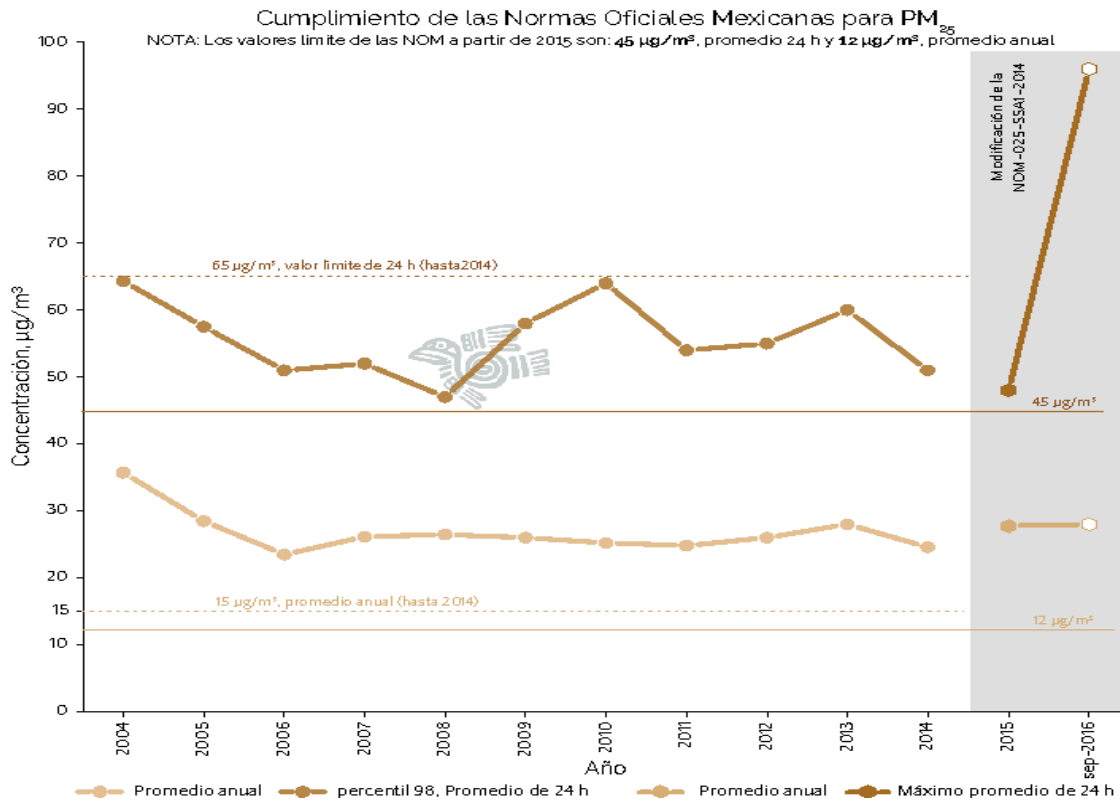


Figura 2. Concentración media anual de $PM_{2.5}$ en la ZMVM (SIMAT, 2015)

La Norma Oficial Mexicana indica que la concentración media anual máxima permitida de $PM_{2.5}$ es de $12 \mu\text{g}/\text{m}^3$, mientras que la OMS indica que el límite son $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$. No obstante ninguno de los estándares se cumple (el valor promedio anual en 2015 fue $27.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$) (Tomado de <http://www.aire.cdmx.gob.mx>).

Además, debido a su localización geográfica a una latitud de 19°N hace que reciba una abundante radiación solar lo que hace que su atmósfera sea altamente fotorreactiva, lo cual facilita la formación de ozono y otros oxidantes debido a que en presencia de la luz solar los hidrocarburos y los óxidos de nitrógeno reaccionan fácilmente para formar compuestos oxidantes. Sin embargo, el factor más importante (responsable de 80 % de la contaminación) es el parque vehicular, con más de cuatro millones de unidades, de las cuales 60% tienen más de diez años de uso, aunado a esto se consumen diariamente (en millones de litros) 20 de gasolinas, nueve de gas licuado, cinco de diesel y cinco de combustible pesado. Las gasolinas (41%) y el diesel (12%) constituyen la fuente principal de los combustibles quemados y se consumen principalmente en los vehículos (Gómez et al., 1998; Vallejo et al., 2003), siendo la quema de combustible una de las principales fuentes de contaminación por metales.

1.1.4 Contaminación por metales

Los metales son elementos de origen natural y presentan una composición química característica (Chang, 1999). Los metales pesados son elementos de transición que se encuentran en la corteza terrestre y pueden llegar a convertirse en contaminantes, si su distribución en el ambiente se altera mediante actividades antropogénicas (Tan et al., 1998). En general, esto puede ocurrir durante la extracción minera, el refinamiento de productos mineros o por la liberación al ambiente de efluentes industriales y emisiones vehiculares. Entre los metales que destacan están el cobre, hierro, níquel, cromo, cobalto, cadmio, manganeso y vanadio entre otros (Chang, 1999).

Como resultado de la combustión, los metales pesados se transportan hacia la atmósfera, adosados a PM (Fernández, 2008). La mayoría de los estudios apuntan a que el mayor impacto en la salud por partículas está dado por los efectos tóxicos de los metales que se adosan a ellas, debido a que se ha comprobado que los metales presentes en la superficie de las partículas son una fuente potencial de ERO e incluso se ha descrito que los metales de transición generan inflamación crónica, al producir estrés oxidante (Tan et al., 1998). Como prueba de ello un estudio realizado en niños y adultos por Calderón-Garcidueñas y colaboradores en 2008 en la Ciudad de México, señala que la prolongada exposición a la contaminación atmosférica, genera neuroinflamación, la cual se vio evidenciada por alteración de la barrera hematoencefálica, aumento de células inflamatorias, acumulación de β -42 y α -sinucleína amiloidea, así como acumulación de PM en el bulbo olfatorio.

A su vez, las enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer (EA) y Parkinson (EP) se han asociado a la contaminación por metales, debido a que se ha evidenciado que el mayor número de personas que padecen estas enfermedades se encuentran en las megaciudades (Valko et al., 2005). Asimismo, debido al aumento de la concentración de metales en la atmósfera de la Ciudad de México, Fortoul y colaboradores en 2002, compararon las concentraciones de vanadio en tejido pulmonar de personas que vivieron en los 60's y 90's., observando mayor concentración de dicho metal en las personas de los 90's, destacando que el vanadio se ha incrementado en los últimos años.

1.2 VANADIO

1.2.1 Generalidades

El vanadio (V) es un metal de color grisáceo con densidad de 6.11 g/cm³. En la tabla periódica se ubica como el primer elemento de transición del grupo VB, tiene como número atómico 23 (Migliore et al., 1993). Existe en diferentes estados de oxidación que van de -1 a +5 y generalmente pasa de un estado a otro por

la transferencia de un electrón a través de procesos de óxido-reducción. El estado de valencia puede cambiar dependiendo del pH y de otros factores (IPCS 1988; Rehder, 1991; Hirao, 2000; EFSA, 2004).

Sin embargo, sólo los tres estados más altos, V^{III} , V^{IV} y V^V , tienen funciones biológicas reconocidas, siendo los estados de oxidación V^{III} y V^{IV} los que predominan en los tejidos corporales, mientras que el V^V predomina en el plasma (IPCS, 2001; Rehder, 1991; Hirao, 2000; EFSA, 2004).

En condiciones fisiológicas el V^V predomina como anión vanadato ($H_2VO_4^-$) y V^{IV} como catión vanadil (VO^{2+}); aunque, pueden presentarse otras especies de cationes (VO^{3+} , VO_2^+) y aniones (HVO_4^{2-} , $V_4O_{12}^{4-}$ y $V_{10}O_{28}^{6-}$) de V^V y de aniones ($[(VO)_2(OH)_5]^-$) para V^{VI} (Baran, 2000; Rehder, 2003; Crans et al., 2004). Aunado a esto se conocen diversos compuestos inorgánicos de vanadio (Metavanadato de sodio, Metavanadato de amonio, Tetróxido de vanadio, etc), siendo el pentóxido de vanadio (V_2O_5) (Figura 3) el compuesto más comercial, existe en estado penavalente como una sal de color amarillo-rojizo, soluble en agua 8 g/L (20 °C), con punto de fusión de 1750 °C y punto de ebullición de 690 °C, es un agente químico peligroso, su límite de exposición ocupacional a polvos y humos es de 0.05 mg/m³ (Barceloux, 1999).

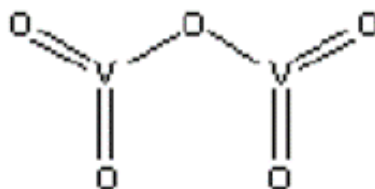


Figura 3. Estructura de Pentóxido de vanadio
(Tomado de <http://enciclopedia.us.es/index.php/Vanadio>).

1.2.2 Usos

El V se emplea para el refinamiento final en la fabricación de acero, aleaciones ferrovanadio, magnetos y aleaciones no ferrosas, además se utiliza como colorante en pigmentos y tintas de colores café, verde o amarillo, para dar color y filtrar rayos ultravioleta en vidrios y en la elaboración de reveladores fotográficas (Barceloux, 1999; OMS, 2001). Asimismo, es empleado en la elaboración de fungicidas e insecticidas y como micronutriente en fertilizantes, en la industria química en la producción de ácido sulfúrico y caucho sintético (Stokinger 1981; Baroch 1983, Lagerkvist et al., 1986; Carson et al., 1987; Alessio et al., 1988; IPCS 1988, 2001).

Además, se ha utilizado como medicamento contra la diabetes y la obesidad, debido a que puede reducir las concentraciones de colesterol, triglicéridos

y niveles de glucosa, también se ha observado que tiene efectos diuréticos (Etcheverry et al., 2012).

1.2.3 Fuentes de emisión

El V es un metal ampliamente distribuido tanto en la naturaleza como en los sistemas biológicos, las fuentes naturales de exposición al V son incendios forestales, emisiones volcánicas, aerosoles marinos, erosión del suelo y otros procesos biogénicos (Barceloux, 1999; IPCS, 2001). De igual forma, el V se encuentra en algunos alimentos como: hongos, cerveza, vino y en pescados y mariscos (OMS, 1995).

Sin embargo, la quema de combustibles fósiles es la fuente principal de V en el ambiente, debido a que es uno de los elementos traza presente en forma de complejos metálicos y organometálicos en todos los petróleos crudos y materiales de origen fósil (Baroch 1983; IPCS 1988, 2001). Su concentración en los petróleos del mundo es muy variable y depende del lugar de origen. Los petróleos de América son los que contienen mayor cantidad de V, por ejemplo en los crudos provenientes de Venezuela las concentraciones van de 282 a 1,180 $\mu\text{g/g}$, mientras que, en la variedad atabasca de Canadá y la maya de México el contenido es de 640 y 243 $\mu\text{g/g}$, respectivamente (IPCS 1988; Crans et al., 2004).

Asimismo, su liberación en la atmósfera es principalmente ocasionada por la actividad antropogénica, debido a que se ha estimado que de las 64 mil toneladas de V descargadas anualmente, alrededor del 91% son producto de la actividad industrial, de la combustión de petróleo, de carbón y de aceites pesados y el resto son derivadas de las fuentes de emisiones naturales, considerándose así como un contaminante ambiental (IPCS, 2001).

Se ha observado que la concentración de V en la atmósfera es de 20-300 ng/m^3 en las grandes ciudades, aunque se han alcanzado niveles más altos (10 $\mu\text{g/m}^3$) en Nueva York y otras grandes urbes. En la Ciudad de México se han reportado concentraciones de 0.114 $\mu\text{g/m}^3$ en aeropartículas de 10 μm y 0.093 $\mu\text{g/m}^3$ en las de 2.5 μm (Gutiérrez-Castillo et al., 2006).

1.2.4 Toxicocinética

La entrada de V al organismo ocurre principalmente por medio de tres vías de exposición, que son: inhalación, ingestión y exposición dérmica (Barceloux, 1999). Además, otra posible vía por la que el V ingresa al organismo sería, a través del transporte transneuronal, el cual consiste en que, diversos materiales y sustancias que penetran en la cavidad nasal son transportados desde la mucosa olfatoria hacia el bulbo olfatorio. Sin embargo, la vía más importante es la inhalada, debido a que mediante ésta, se absorbe una mayor cantidad de V (25%), en comparación con

cualquier otra vía de exposición (Figura 4) (Barceloux, 1999). Una vez absorbido, el V puede encontrarse en estados de oxidación V^{III} , V^{IV} y V^{V} , éste último es reducido a la forma V^{IV} por la glutatión de los eritrocitos o por el ácido ascórbico, las catecolaminas y otras sustancias reductoras del plasma., después de que el V^{V} es reducido a vanadil, éste se adosa a la transferrina (principalmente) o a la albúmina, trasportándose así por el torrente sanguíneo hacia los diferentes órganos (Elinder et al., 1988; Mukherjee et al., 2004; Rehder, 2003). Independientemente de la forma en que ingrese el V al organismo, éste se acumula como V^{IV} (VO^{2+}). Los órganos que lo acumulan son hígado, riñón, hueso y bazo, mientras que en pulmones y testículos se concentra en menor cantidad, también se ha detectado en corazón, tiroides, cerebro, músculo esquelético, médula ósea y tejido graso. Los órganos que no remueven con facilidad el metal son, hueso, músculo y pulmón, donde permanece por un tiempo prolongado (Sharma et al., 1987; Alessio et al., 1988; Elinder et al., 1988; French y Jones, 1993).

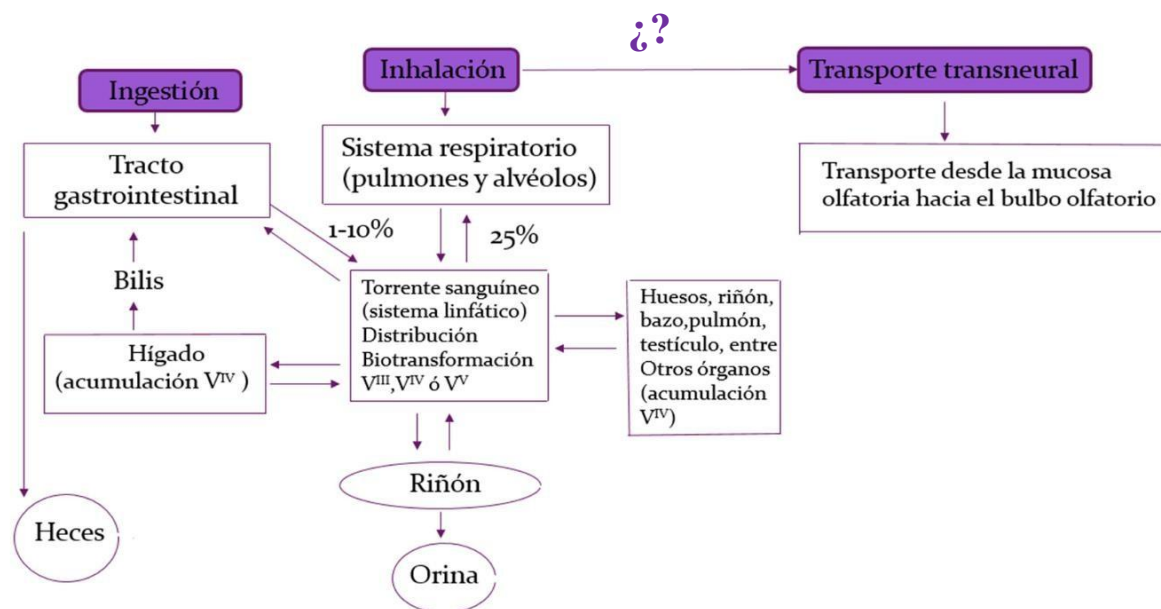


Figura 4. Toxicocinética del vanadio
(Tomado y Modificado de Elinder et al., 1988).

Por otro lado, se tiene bien establecido que el V^{V} ingresa a la célula por mecanismos de transporte aniónico, principalmente por los canales de fosfato. Una vez en el interior de la célula se reduce a V^{IV} , éste provoca estrés oxidante dentro de la célula, ocasionando alteraciones en el sistema antioxidante, lo que puede producir peroxidación lipídica y/o apoptosis (Cantley et al., 1978; Yang et al., 2003, 2004). En cuanto al V que no es acumulado, éste se desecha en forma bifásica, es decir, un alto porcentaje se elimina rápidamente en aproximadamente 20 horas y el resto se elimina en un lapso de 40 a 50 días, el 90% de V no acumulado se desecha mediante la orina, en cambio solo el 10% es excretado por las heces (Elinder et al., 1988).

1.2.5 Estrés oxidante inducido por vanadio

El cuerpo humano mantiene un balance de óxido-reducción constante, preservando el equilibrio entre la producción de pro-oxidantes que se generan como resultado del metabolismo celular y los sistemas de defensa antioxidantes. La pérdida en este balance de óxido-reducción lleva a un estado de estrés oxidante y este estado se caracteriza por un aumento en los niveles de RL y especies reactivas, que no alcanza a ser compensado por los sistemas de defensa antioxidantes induciendo en la célula efectos tóxicos por oxidación de lípidos, proteínas, carbohidratos y nucleótidos, lo cual produce acumulación de agregados intracelulares, disfunción mitocondrial, excitotoxicidad y apoptosis (Dorado et al., 2003).

Un RL es una molécula que tiene en su último orbital un electrón desapareado, lo que la hace inestable. Para la molécula de oxígeno se conocen los radicales anión superóxido (O_2^-) y radical hidroxilo (OH^\bullet), mientras que en las ERO se encuentran el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno singlete (O_2). Una vez que el V entra a la célula produce ERO mediante la reacción tipo Fenton, la cual se basa en la transferencia de un electrón entre el peróxido de hidrógeno y un metal que actúa como catalizador produciendo así radical hidroxilo, anión superóxido y peróxido de hidrógeno, lo que genera estrés oxidante. Ésto se puede apreciar en la Figura 5, en la cual se observa, que el V^V entra a la célula a través de canales aniónicos, mientras que el V^{IV} atraviesa la membrana por difusión. Una vez dentro, el V en sus diferentes estados de oxidación, sufre modificaciones en presencia de antioxidantes intracelulares, no obstante predomina dentro de la célula el V^{IV} , el cual es oxidado al entrar en contacto con el oxígeno (O_2), generando así V^V y un radical anión superóxido (O_2^-). Asimismo, este radical es reducido por el NAD(P)H, produciendo así peróxido de hidrógeno y V^{IV} , el cual puede ser oxidado nuevamente por la reacción de tipo Fenton, generando un radical hidroxilo y V^V (Korbecki et al., 2012).

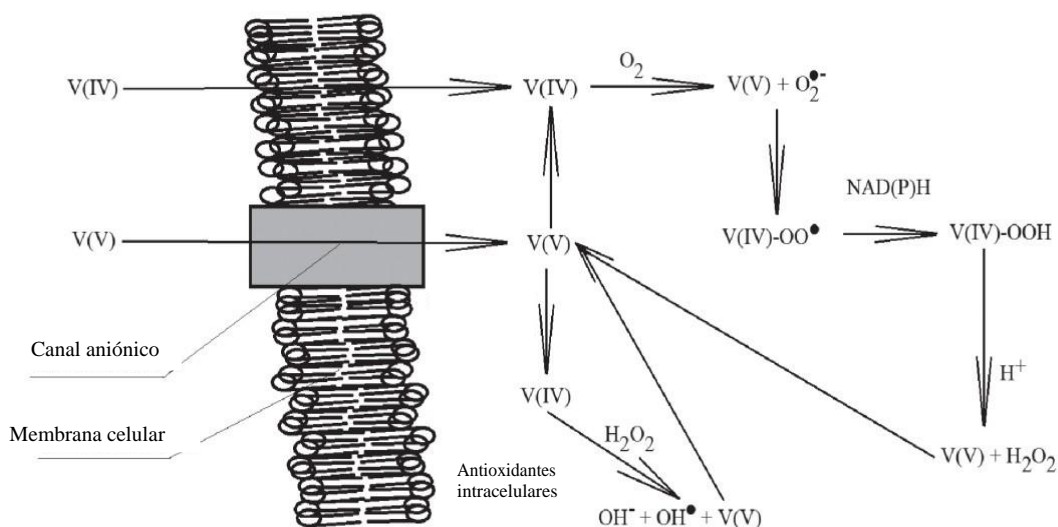


Figura 5. Transformación química de compuestos inorgánicos de vanadio en el citoplasma (Tomado y modificado de Korbecki et al., 2012).

1.2.6 Toxicodinamia

Se ha demostrado que las alteraciones generadas por V en el organismo, se deben principalmente a su capacidad de producir estrés oxidante (Barceloux, 1999). Como se vio con anterioridad, el V genera ERO y el exceso de éstas, causa peroxidación de lípidos en la membrana, por consiguiente daña a la célula. Por otro lado, permite la liberación de citocromo C de la mitocondria, lo que inicia la vía de apoptosis mediada por las caspasas 3 y 9, activando las proteínas cinasas C (PKC) (Afeseh et al., 2009). Aunado a esto, las ERO son inhibidoras de tirosinas fosfatasa y de la bomba ATPasa $\text{Na}^+ \text{K}^+$, del mismo modo, interfiere con otras enzimas como las ATP-hidrolasas, adenilatocinasa, ribonucleasa y gliceraldehidos-3-fosfato hidrolasa (Korbecki et al., 2012). Asimismo, el V activa las proteínas cinasas activadoras de mitógenos (MAPKs) (Fortoul et al., 2011). Por otra parte, el V también daña el citoesqueleto, principalmente a la proteína γ -tubulina (Fortoul et al., 2011), la cual forma unos anillos denominados anillos de γ -tubulina. Estos anillos actúan como molde y lugar de nucleación y anclaje de nuevos microtúbulos (Megías et al., 2015). Otro efecto que causa el V, es que daña al ADN, ya que genera la oxidación de bases pirimícas, rompimientos de cadena sencilla y de micronúcleos, lo que tendría como consecuencia, el arresto mitótico, inducción de la transcripción, errores de replicación e inestabilidad genética (Korbecki et al., 2012; Fortoul et al., 2011).

1.2.7 Efectos del vanadio en la salud

La exposición a V, se asocia con diferentes daños a la salud humana y la magnitud de los efectos depende de las concentraciones que se encuentran en el aire, de la dosis que se inhala, del tiempo, la frecuencia de exposición y el tipo de compuesto, por ejemplo, la exposición crónica por inhalación en ambientes laborales induce cambios en el sistema respiratorio como la aparición de bronquitis, rinitis, laringitis y faringitis, en algunos casos produce cambios en el ritmo cardíaco (IPCS 1988, 2001; Woodin et al., 2000; OMS 2001).

Asimismo, se ha reportado que la exposición aguda (de 0.2 a 1 mg/m^3) a polvos de V en personas, induce síntomas como tos, irritación en nariz y mucosa oral, mientras que una fuerte exposición aguda causa irritación sensorial, fiebre, conjuntivitis, aumento del movimiento intestinal, dermatitis, vómito, diarrea, problemas respiratorios, temblores y daño renal. En estudios de los efectos de diversos metales dispersos en el aire urbano sobre la población, se encontraron ligeras correlaciones entre los niveles de V y la mortalidad producida por ciertos cánceres, neumonía y bronconeumonía (IPCS 1988, 2001). Aunado a esto, en un modelo murino por inhalación de V_2O_5 , se reportó incremento de citosinas como IL-6 y TNF- α en el epitelio bronquiolar, engrosamiento de la capa muscular de los bronquios y disminución de las células bronquiales no ciliadas, diversas alteraciones en diferentes sistemas, por ejemplo en el sistema nervioso, hematopoyético, inmunológico, reproductor femenino (Fortoul et al., 2014). En el sistema reproductor masculino, se ha demostrado que la inhalación de V causa

disminución en la presencia de γ -tubulina y actina en el testículo de ratón, lo cual se ve reflejado en alteraciones en la espermatogénesis (Mussali-Galante et al., 2005).

1.2.8 Efectos del vanadio en el Sistema Nervioso Central

El Sistema Nervioso Central (SNC) es particularmente susceptible al estrés oxidante por su elevado consumo de oxígeno, por su alta demanda de energía, abundancia de ácidos grasos poliinsaturados y lípidos y sus bajos niveles de antioxidantes, lo cual lo hace vulnerable a la acción nociva de las ERO generadas por el V (Cooper y Lowenstein, 2002). Uno de los efectos del V en el SNC, es el decremento de la mielina en el cuerpo calloso y en el cerebelo, así como alta peroxidación lipídica en el cerebelo y en el hipocampo, ésto fue demostrado en un estudio, donde el metavanadato de sodio fue administrado por vía intraperitoneal a ratas (García et al., 2004). Asimismo, en un modelo murino por inhalación de V_2O_5 al 0.02 M, se evidenció pérdida de neuronas inmunoreactivas a la tirosina hidroxilasa (TH) en la sustancia nigra, decremento de ED en las neuronas espinosas medianas del estriado, alteraciones de la barrera hematoencefálica como: pérdida de cilios en el epitelio endodimial del cuarto ventrículo, desprendimiento de la membrana basal y la ruptura de las uniones entre las células endodimiales (Ávila-Costa et al., 2004, 2005). Además, se observó alteración de la función olfatoria, disminución en la densidad de ED, aumento de lipofuscina, así como en la actividad de las enzimas la glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión reductasa (GR) en el bulbo olfatorio, también se reportó aumento de la actividad de las metaloproteinasas 2 y 9 (MMP-2) (MMP-9), en el cuerpo estriado, bulbo olfatorio, corteza prefrontal e hipocampo (Colín-Barenque et al., 2008, 2015).

Aunado a lo anterior, se observó alteración de la memoria espacial, pérdida de ED en las neuronas piramidales de la región CA1, necrosis y vacuolización del neuropilo en el hipocampo (Ávila-Costa et al., 2006).

1.2.9 Implicaciones del estrés oxidante en las enfermedades neurodegenerativas

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan morfológicamente por la pérdida progresiva de células en poblaciones neuronales. Entre los factores desencadenantes de neurodegeneración y muerte cerebral, se encuentra el estrés oxidante, producido por la generación de ERO, por lo que, existe una estrecha relación entre el estrés oxidante y la patogenia de las enfermedades neurodegenerativas (Ha Kim et al., 2015; Angoa-Pérez y Rivas-Arancibia., 2007).

Aunado a lo anterior existen estudios que relacionan la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas como la EP, EA, esclerosis múltiple, etc, con la generación de ERO y especies reactivas de nitrógeno (ERN) asociadas con

disfunción mitocondrial (Ha Kim et al., 2015; Li et al., 2013). El daño por estrés oxidante, puede ser reversible o irreversible dependiendo de factores como el tiempo que dure el estrés, la efectividad de las defensas antioxidantes, la edad del organismo, el estado nutricional y factores genéticos que codifican sistemas antioxidantes (Dorado et al., 2003).

1.3 ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son moléculas capaces de inhibir o retrasar la tasa de oxidación provocada por los RL y las ERO, su función homeostática es de gran importancia, ya que mantienen a las especies reactivas por debajo de sus umbrales citotóxicos (Birben et al., 2012; Ha Kim et al., 2015).

Pueden actuar en las siguientes formas:

- Disminuyendo la concentración de oxidantes.
- Evitando la iniciación de la reacción en cadena al “barrer” (cubrir o detener una reactividad química muy alta), los primeros RL que se forman.
- Uniéndose a iones metálicos para evitar la formación de especies reactivas.
- Transformando los peróxidos en productos menos reactivos.
- Deteniendo la propagación y el aumento de RL.

Se sabe que existen dos vías fundamentales para proteger al organismo de los RL., los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (endógenos y exógenos) (Tabla 1). La vía endógena requiere apoyo externo y por ello se recomiendan los antioxidantes exógenos cuyo papel es relevante, dado que son los que pueden formar parte de la dieta (Coronado et al., 2015). Algunos de estos antioxidantes son la carnosina y la vitamina E.

Tabla 1
Clasificación de antioxidantes

Antioxidantes		
Endógenos		Exógenos
Enzimáticos	No enzimáticos	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Superóxido dismutasa (SOD) ▪ Catalasa (CAT) ▪ Glutación reductasa (GRx) ▪ Glutación peroxidasa (GPx) 	vitamina C	
	Carnosina	
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ácido lipóide ▪ L-arginina ▪ Coenzima Q-10 ▪ Melatonina ▪ Proteínas quelantes de metales ▪ Transferrina 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Vitamina E ▪ Metales traza ▪ Carotenoides ▪ Flavonoides ▪ Ácidos grasos omega 3 y 6

(Tomada y modificada de Hipkiss, 2009).

1.4 CARNOSINA

1.4.1 Generalidades

La carnosina fue descubierta en Rusia en 1900 y fue aislada por primera vez de un extracto de carne Liebig, es un dipéptido citoplasmático sintetizado a partir de β -alanina e L-histidina (Figura 6), es un compuesto muy soluble en agua (1g en 3.1 mL de agua a 25°C), caracterizado por tres grupos ionizables: el grupo carboxílico, el grupo amino y los nitrógenos del anillo de imidazol (Boldyrev et al., 2013). Se presenta en los tejidos de mamíferos como son el músculo esquelético, el estómago, el riñón, músculo cardíaco y el cerebro. Aunque solo en dos tejidos se encuentra en concentraciones elevadas, como son el músculo esquelético y el cerebro (Boldyrev et al., 2013).

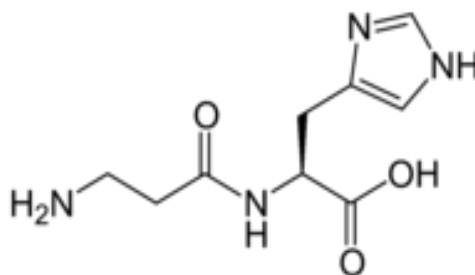


Figura 6. Estructura de la carnosina
(Tomado de Boldyrev et al., 2013).

La carnosina se sintetiza por medio de la enzima carnosina sintetasa (CS) y se degrada por las enzimas hidrolíticas denominadas carnosinasas (CN) presentes en el suero o el líquido intracelular, se han identificado molecularmente dos formas desde CN1 o carnosinasa sérica y CN2 o Carnosinasa tisular o dipeptidasa citosólica no específica (Figura 7) (Lenney, 1990; Teufe et al., 2003). Se sabe que además de ser un dipéptido endógeno, la carnosina ingresa al organismo de forma exógena, siendo la principal fuente a través del consumo de carne y pescado (Abe, 2000). Dada la diversidad de la dieta humana, el rango potencial de la ingestión de carnosina en la dieta, es relativamente amplio y puede variar entre 50 y 500 mg^{d-1} en la dieta omnívora (Baguet et al., 2009). Una vez que la carnosina ingresa al organismo, se degrada en β -alanina y L-histidina debido a la alta actividad de la carnosinasa CN2 (citosólica) en los enterocitos, después pasa al torrente sanguíneo (Sadikali et al., 1975). Sin embargo, cuando el dipéptido no es degradado en el intestino delgado, entra intacto a la sangre, donde es hidrolizado rápidamente en el plasma por la carnosinasa CN1 (suero), aunque pequeñas cantidades de carnosina intacta pueden encontrarse en la orina 4 horas después de su ingestión (Gardner et al., 1991).

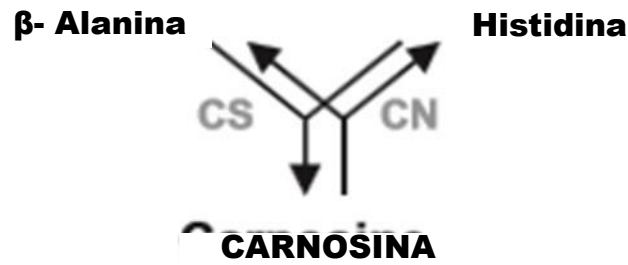


Figura 7. Esquema de síntesis/degradación de la carnosina; CS (carnosina sintetasa), CN (carnosinasa) (Tomado y Modificado de Boldyrev et al., 2013).

Asimismo, la carnosina puede ser transportada a través de una serie de transportadores oligopéptidos, los cuales son PepT1 y PepT2 (Boldyrev et al., 2013). Debido a que la carnosina está presente en algunas regiones cerebrales, entre las que destacan la mucosa y el bulbo olfatorio (Aydin et al., 2010), lo anterior sugiere que algunas células neuronales expresan el transportador de carnosina PepT2, lo cual ya se ha demostrado en ratas (Shu et al., 2002; Wang et al., 1998), facilitando así que la carnosina atraviese la barrera hematoencefálica (Figura 8).

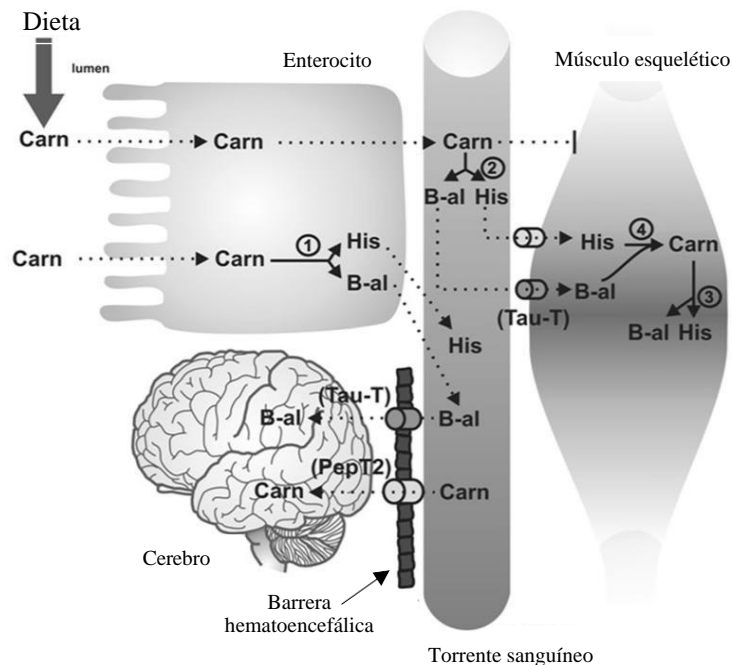


Figura 8. Esquema de la biodisponibilidad y metabolismo de la carnosina (Tomado y modificado de Sale-Craig et al., 2013).

La carnosina tiene diversas funciones de las que destacan: inhibe la formación de productos avanzados de glicación, evita la oxidación de proteínas y aldehídos productos de la peroxidación lipídica, lo que le confiere la función de agente antienviejimiento, tiene capacidad tampón de pH, además es un neuromodulador (Trombley et al., 1998) y protege a las neuronas contra efectos de excitotoxicidad del glutamato, aunque su función principal es que posee un potente efecto

antioxidante, el cual es mediado por diferentes mecanismos que implican la quelación de metales, ya que la carnosina en presencia de metales de transición como el Zn, Cu y V entre otros, llega a formar compuestos, es un atrapador de RL especialmente del radical $\cdot\text{OH}$ (Kohen et al., 1988; Boldyrev et al., 1997; Corona et al., 2011) y actúa como barredor de ERO y de radicales peróxido. Este dipéptido actúa directamente con el anión superóxido mediante la habilidad de la carnosina de formar un complejo de transferencia de carga con el radical superóxido cambiando la reactividad del $\text{O}_2^{\cdot-}$ (Figura 9). En estudios previos, se ha demostrado que en organelos como las mitocondrias y el retículo sarcoplásmico, así como en hígado, corazón y cerebro, la carnosina y sus péptidos relacionados como la anserina y la homocarnosina, previenen la peroxidación de la membrana, lo que sugiere que aparte de ser un antioxidante soluble en agua, tiene un dominio liposoluble (Betül-Kalaz et al., 2012; Boldyrev et al., 2013). Asimismo, se sabe que los compuestos de imidazol reaccionan con productos endoperóxidos formadores de oxígeno singlete, cuando la carnosina se encuentra en concentraciones similares a las encontradas en tejidos humanos, protege eficazmente la tirosina contra la nitración (Fontana M et al., 2002).

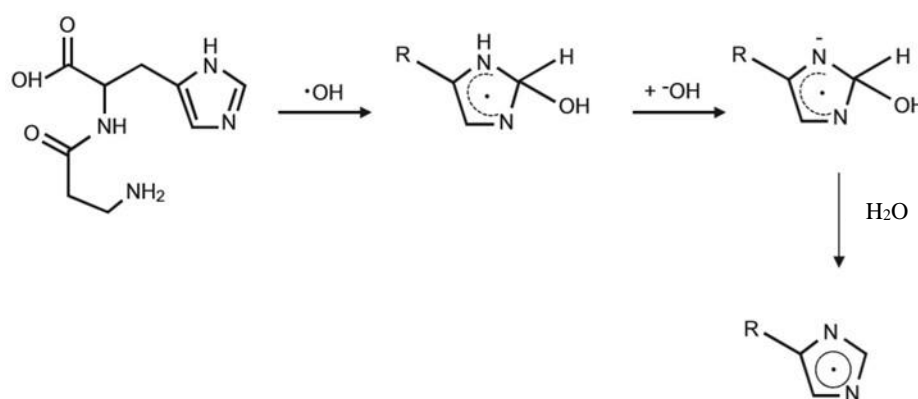


Figura 9. Mecanismo antioxidante de la carnosina como barredor de radicales libres (Tomado de Boldyrev et al., 2013).

1.4.2 Carnosina y SNC

En el SNC la carnosina se localiza en la corteza cerebral, el plexo coroideo, la mucosa y en las neuronas receptoras olfativas, incluyendo los axones y terminales sinápticas del bulbo olfatorio, en éste último se encuentran las concentraciones más altas de carnosina en el cerebro (0,5-1 mM), siendo comparables con las que se encuentran habitualmente en el músculo esquelético (Biffo et al., 1990).

La carnosina en el SNC actúa como neuromodulador, ya que protege contra la neurotoxicidad inducida por el receptor NMDA, inhibiendo la liberación de glutamato (Glut) (Guiotto et al., 2005). De igual forma, se ha sugerido que la carnosina está implicada indirectamente en la neurotransmisión, a través de su capacidad para quelar metales de transición como el cobre y el zinc, que en sí mismos han sido identificados como moduladores de la neurotransmisión (Boldyrev, 2001; Trombley

et al., 1998). Asimismo, modula la actividad de receptores como NMDA y AMPA que participan en la transmisión de estímulos olfatorios (Trombley et al., 1998).

Por otro lado, se ha propuesto que la carnosina tiene un efecto neuroprotector (Kozan et al., 2008), por lo que podría ayudar a prevenir las enfermedades neurodegenerativas, como la EP y/o a la moderación de sus síntomas neurológicos (Budzen y Rymaszewska., 2013; Hipkiss, 2009). Aunado a lo anterior, en un estudio realizado por Boldyrev y colaboradores en el 2008, se evidenció la eficacia de la suplementación de carnosina en pacientes con EP., en un ensayo a los pacientes tratados con dihidroxifenilalanina (L-DOPA), se les administró suplementos de carnosina (1.5 g/día), mostrando una mejoría clínica del 36%, debido a que los pacientes presentaron mejoría en los síntomas físicos, por ejemplo, en la rigidez de las extremidades y movimientos de las extremidades superiores. Los autores concluyeron que la combinación de carnosina con la terapia básica de pacientes con EP, podría ser una alternativa para mejorar los resultados del tratamiento de Parkinson y disminuir los posibles efectos tóxicos de la L-DOPA.

Por otro lado, se ha evidenciado que la administración de carnosina (250 mg/kg i.p) disminuye los niveles de malondialdehído (MDA) (indicador de peroxidación lipídica), dienos conjugados (DC) y nitrotirosina (NT) en el tejido nervioso, en contraste aumenta los niveles de antioxidantes en el mismo tejido, como la superóxido dismutasa (SOD), la glutatión (GSH), la glutatión peroxidasa (GPx) y las catalasas (CAT), lo anterior en comparación con los grupos expuestos al estrés inducido por envejecimiento o inmovilización (Aydin et al., 2010; Betül-Kalaz et al., 2012).

A su vez, en un modelo de inhalación de V_2O_5 (0.02M) con administración oral de carnosina (1mg/kg/día), se evidenció el efecto neuroprotector de este dipéptido, ya que, atenúo la pérdida de ED de las células granulosas del bulbo olfatorio en ratones expuestos al V (Reséndiz, 2014), al igual que en la corteza motora, donde redujo la pérdida de ED de neuronas piramidales, influyendo en la mejora de la actividad motora en ratones expuestos a la inhalación de V (Perete-Cortes, 2016). Sin embargo, en el mismo modelo Valencia-Segura y colaboradores en el 2013, observaron mayor pérdida de ED en el grupo de ratones con V y tratados con carnosina, en comparación con los ratones solo expuestos a V.

1.5 VITAMINA E

1.5.1 Generalidades

La vitamina E fue descubierta en 1922 por Evans y Bishop, quienes observaron que la deficiencia de ésta causaba incapacidad reproductiva, la sustancia activa fue aislada por primera vez del aceite de germen de trigo en 1936. Es una vitamina liposoluble, reconocida como un nutriente esencial para todas las especies animales incluyendo los seres humanos, a su vez, es una de las vitaminas

con más amplia distribución, siendo extremadamente resistente al calor y oxidándose con facilidad (McDowen-Russell, 2000).

Existen 8 formas de vitamina E entre las cuales se incluyen: cuatro tocoferoles (α -, β -, γ -, y δ) y cuatro tocotrienoles (α -, β -, γ -, y δ), siendo el más importante en la especie humana el RRR- α tocoferol, debido a que es la forma más activa biológicamente, por lo tanto predomina en los tejidos, la deficiencia de esta vitamina conduce a la ataxia en los seres humanos (Febles-Fernández et al., 2002). Se compone de 2 partes: un anillo 6- cromanol y una larga cadena lateral (Figura 10). Se encuentra en una gran variedad de alimentos, siendo los aceites de soya, el girasol, mani, algodón, chicharos, garbanzos, lentejas, avena, trigo y arroz integral.

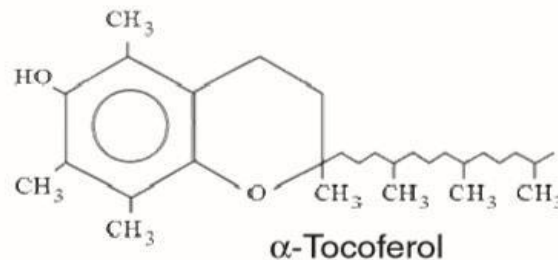


Figura 10. Estructura de la vitamina E
(Tomado de Sayago et al., 2007).

En cuanto a la asimilación de la vitamina E en el organismo, ésta ingresa en forma de ester y es absorbida en el intestino delgado de manera similar a la grasa ingerida en la dieta. La absorción es relativamente escasa, debido a que solo del 20 al 40% de la dosis ingerida es absorbida. Así pues, el α -tocoferol esterificado es previamente hidrolizado a α -tocoferol libre en el lumen del intestino y la mucosa. Su absorción se incrementa por la presencia de triglicéridos (TG) de cadena media y es inhibida por los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), a su vez, la absorción también depende de la capacidad de digerir y absorber las grasas, debido a que estudios previos han mostrado que la bilis es esencial para su absorción, ya que para que la lipasa pancreática pueda hidrolizar los TG, tiene que existir una excreción biliar normal que facilite su emulsión, además de una adecuada secreción pancreática (McDowen-Russell, 2000; Bjorneboe et al., 1990).

Una vez en el interior del enterocito, se incorpora a los quilomicrones y es transportada por la linfa hacia la circulación, dirigiéndose a tejidos periféricos, incluyendo el músculo, hígado, medula osea, piel y cerebro. Si bien el α -tocoferol circulante es acumulado lentamente por los tejidos. No hay un solo órgano de almacén de vitamina E, pero en términos de cantidad absoluta tienen mayor cantidad de esta vitamina, el tejido adiposo, el hígado y el músculo. Asimismo, a cualquier dosis que se administre, después de pocas semanas, hay una concentración constante o muy poca tasa de incremento de la vitamina E, en la mayoría de los tejidos, excepto en el tejido adiposo en el cual la concentración se incrementa linealmente (Borel P et al., 2001; Hacquebard y Carpentier, 2005). En cuanto a las concentraciones de α -tocoferol en organelos, se ha evidenciado que

es elevado el nivel de la vitamina en las microsomas y mitocondrias, a diferencia del plasma, en el cual se observan bajos niveles, ya que, al ser transportada por los quilomicrones, la concentración plasmática de esta, depende en gran medida de los niveles de lípidos plasmáticos (McDowen-Russell, 2000). Además de ser transportada por los quilomicrones, los eritrocitos también parecen ser un transporte importante, ya que hay relativamente gran cantidad de vitamina en sus membranas, la cual se mantiene en equilibrio con la vitamina E plasmática (Borel P et al., 2001).

Existen 2 mecanismos para su incorporación hística:

1.- Hidrólisis de los TG de quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) por la lipasa lipoprotéica.

2.- La vitamina E unida a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por medio de su receptor (McDowen-Russell, 2000; Hacquebard y Carpentier, 2005).

Asimismo, su retención hística es dependiente de la proteína de transferencia de α -tocoferol (α -TTP) y de su actividad biológica. La cual se encarga de la distribución de la vitamina en el organismo (Ulatowski y Manor, 2013). La α -TTP se expresa principalmente en el hígado, pero se ha detectado en varios tejidos incluyendo pulmón, bazo, riñón, cerebro, suprarrenales y útero (Yunsook y Maret, 2007). En cuanto a la vitamina E que no es asimilada en el organismo, se oxida, convirtiéndose en α -tocoferilquinona, siendo biológicamente inactiva la cual se puede reducir a α -tocoferilhidroquinona (Sayago et al., 2007). Los conjugados de la hidroquinona con ácido glucurónico se secretan por la bilis, lo que hace que la excreción por la heces sea la principal vía de eliminación de la vitamina, en cambio menos del 1% de la vitamina ingerida por la vía oral se excreta en la orina (Bjorneboe et al., 1990).

Ahora bien, se han descubierto diversas funciones de la vitamina E, evidenciando ser esencial para el funcionamiento óptimo de los sistemas reproductor, muscular, circulatorio, nervioso e inmunológico (McDowen-Russell, 2000). Por ejemplo, se ha visto que tres reacciones celulares son dependientes del α -tocoferol: la unión del factor de transcripción AP-1 al ADN, la inhibición de la proteína quinasa C y por lo tanto, la inhibición final de la proliferación celular, por lo que, el α -tocoferol parece actuar como mensajero del estado oxidante de la célula y como un transductor capaz de informar a las células de su situación (Azzi A et al., 1995). Asimismo, interviene en la síntesis de vitamina C y de ubiquinona, participa en el metabolismo de aminoácidos de azufre y de la vitamina B12, proporciona protección contra la toxicidad de metales pesados como el plomo, cadmio, mercurio, plata, arsénico entre otros, también tiene funciones neuroprotectoras, aunque su función principal es como antioxidante, de hecho, en el plasma y en los eritrocitos, la vitamina E, es el principal antioxidante liposoluble que protege los lípidos contra el daño oxidante (Febles-Fernández et al., 2002), elimina ERO, inhibe la ciclooxigenasa y eicosanoides catalizada 5-lipoxigenasa y suprime la señalización pro-inflamatorias tales como NF-kB y STAT3 / 6 (Jiang Q, 2014; Benítez-Zequira, 2006).

La vitamina E protege a los lípidos tisulares de la oxidación al actuar de manera directa con varios radicales, entre los que se incluyen el: HO^\bullet , el radical peroxilo, el triclametilo (radical producido a partir del tetracloruro de carbón), así como el anión superóxido (Sierra-Vargas et al., 2004). Representa un mecanismo antioxidante eficiente en contra del daño a membranas celulares, inducido por ERO, debido a que se incorpora como constituyente y estabilizador de la estructura de la membrana celular.

El mecanismo de acción antioxidante consiste en convertir al HO^\bullet y a los radicales lipo-peroxilo en moléculas menos reactivas. Este mecanismo inicia, cuando la molécula de α -tocoferol dona el hidrógeno del grupo fenólico, en el anillo cromanol a un RL, lo que ocasiona que se transforme en radical α -tocoperoxilo, este radical es relativamente estable, ya que, no reacciona con lípidos, debido a la estabilidad por resonancia que le confiere su anillo cromanol, disminuyendo así, la reactividad de su electrón no apareado, deteniendo así, la reacción en cadena de los RL. En cuanto al radical α -tocoperoxilo, éste es estabilizado, al aceptar un electrón proveniente del ascorbato (Vitamina C), restituyendo la estructura del α -tocoferol (Sierra-Vargas et al., 2004) (Figura 11).

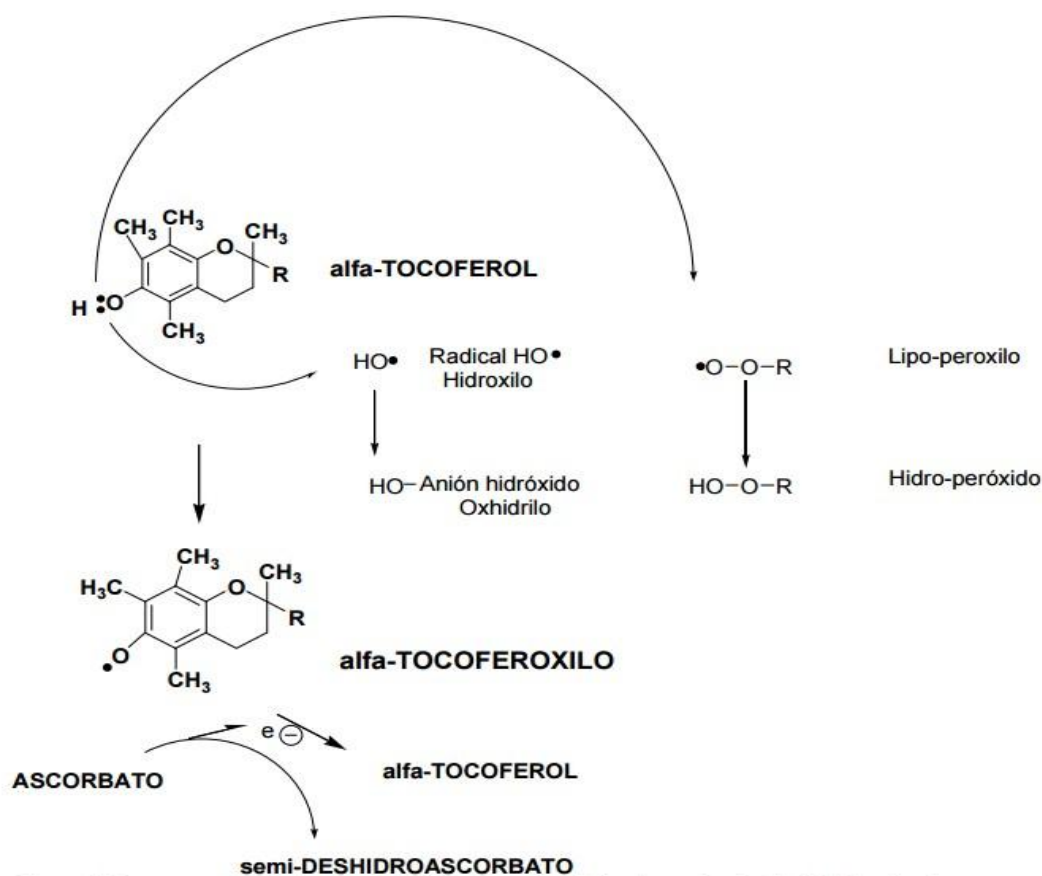


Figura 11. Mecanismo antioxidante de la vitamina E
(Tomado de Sierra-Vargas et al., 2004).

1.5.2 Vitamina E y SNC

Estudios previos han reportado la acción de la vitamina E en el SNC, los resultados mostraron que la vida media del α -tocoferol en el cerebro es 29 días (Ingold KU et al., 1987; Bourre JM y Clement M, 1991) y que a diferencia de otros tejidos, el cerebro retiene exclusivamente RRR- α -tocoferol (Clément M et al., 1995; Ingold KU et al., 1987; Podda M et al., 1996; Vatassery GT et al., 1984), además se sabe que la proteína α TTP se expresa notablemente en el cerebro (Hosomi A et al., 1998).

Aunque hay poca información sobre las vías por lo que α -tocoferol viaja a través del SNC y los mecanismos que regulan este proceso de transporte, se ha sugerido que el proceso por el cual las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y α -tocoferol atraviesan la barrera hematoencefálica, está mediado por una clase de receptores B1, lo anterior hace referencia únicamente a la especie humana (Balazs Z et al., 2004; Goti D et al., 2000; Mardones P et al., 2002). En cuanto al SNC en los murinos, se cree la apolipoproteína E (apoE) contiene partículas que hacen posible el transporte de α -tocoferol en el cerebro y en el líquido cefalorraquídeo (Vatassery GT et al., 2006, 2007). Asimismo, se ha realizado un estudio en el que se empleó la técnica de hibridación *in situ*, el cual reveló que el gen TTPA, el cual codifica la información para la síntesis de la proteína α -TTP, se expresa en las neuronas de Purkinje del cerebelo y en los astrocitos (Hosomi A et al., 1998). Estas observaciones sugieren que la focalización específica de α -tocoferol en el cerebro puede ser dirigida por la expresión localizada de α -TTP. Tomando en cuenta las funciones conocidas de los astrocitos en el soporte metabólico de las neuronas y el transporte de colesterol entre astrocitos y neuronas mediado por apoE, la localización de α -TTP en los astrocitos sugiere el siguiente modelo, en el que se muestra el transporte de α -tocoferol en el cerebelo (Yu C et al 2010; Pfrieger FW, 2003; Vance JE y Hayashi H, 2010) (Figura 12).

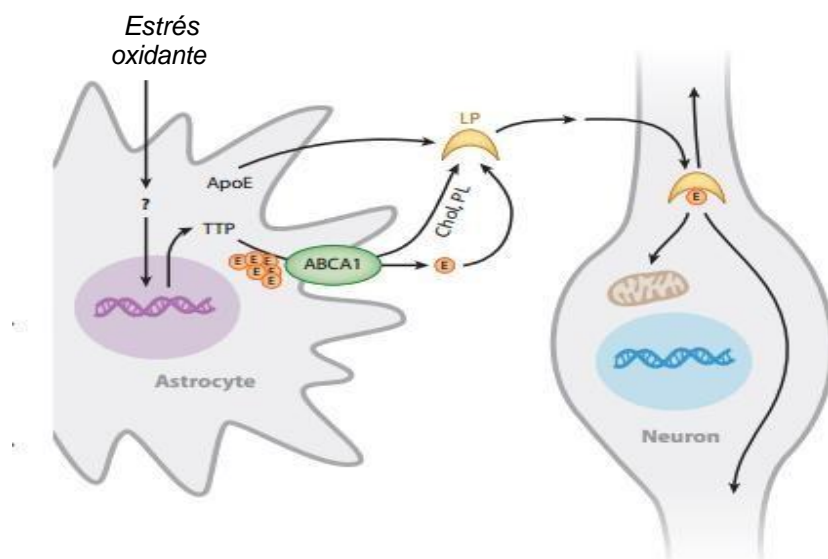


Figura 12. Modelo propuesto del transporte de α -tocoferol entre las neuronas y astrocitos en el cerebelo (Tomado y Modificado de Ulatowski y Manor, 2013).

En condiciones normales, los astrocitos almacenan α -tocoferol en vesículas perinucleares y la α -TTP regula mediante la apolipoproteína E (ApoE), la salida de la vitamina E a neuronas cercanas. Tras la inducción de estrés oxidante, la expresión de α -TTP aumenta en los astrocitos, facilitando así, la salida de la vitamina a través de ABCA1, al salir del astrocito, la vitamina se une a la nascente lipoproteína que contiene, la ApoE. Posteriormente, la lipoproteína es absorbida por las neuronas vecinas, lo que facilita el suministro de α -tocoferol en toda la neurona (cuerpo, axón y dendritas), inhibiendo así, la peroxidación lipídica, protegiéndolas de esta manera del estrés oxidante, evitando el daño neuronal (Ulatowski y Manor, 2013). Por lo tanto, la modulación de la expresión del gen TTPA proporciona una respuesta de retroalimentación homeostática que protege a las neuronas de Purkinje del daño oxidante (Ulatowski y Manor, 2013).

Recientemente, se ha evidenciado en diversos estudios el efecto neuroprotector de la vitamina E, por ejemplo Annaházi y colaboradores en el 2007, observaron en un modelo que se indujo hipoperfusión cerebral en ratas Wistar, que el α -tocoferol como post-tratamiento, administrado de manera intraperitoneal en una dosis de 100 mg/kg/día durante 5 días, atenuaba la pérdida de espinas en neuronas piramidales en la región CA1 del hipocampo. Asimismo, Omer-Batanci y colaboradores en el 2010, evaluaron el efecto de la vitamina E (100 mg/kg/día, durante 5 días) en el hipocampo y en la sustancia nigra en un modelo murino en el que se indujo el estrés mediante la administración de hierro, los resultados arrojaron, que la vitamina atenuó la pérdida de neuronas tanto en la sustancia nigra como en el hipocampo, aunque en este último, el efecto neuroprotector fue mayor.

En otro estudio, Essam-Eldin y colaboradores en el 2013, administraron una sola dosis de α -tocoferol (15 mg) durante una semana en ratas Wistar, a las cuales se les indujo hipoxia cerebral, los resultados evidenciaron disminución de las alteraciones ocasionadas por el estrés en las neuronas, debido a que disminuyeron tanto los daños en la estructura mitocondrial, la aglutinación de cromatina y la lipofuscina. A su vez, en un estudio realizado a pacientes con EA, se les administró 2000 UI de vitamina E al día durante 2 años, los resultados evidenciaron que el tratamiento con vitamina E en pacientes con alteración moderadamente grave de la enfermedad, retarda la progresión de la enfermedad (Sano et al., 1997).

1.6 TRATAMIENTOS CON CARNOSINA Y VITAMINA E

La carnosina al igual que la vitamina E son potentes antioxidantes que brindan neuroprotección bajo condiciones de estrés, por ende se han realizado diversos estudios en los que se evalúa la acción conjunta de la carnosina y vitamina E como antioxidantes, sugiriendo que su eficacia será potenciada, por ejemplo: En un modelo murino de esteatosis hepática y estrés oxidante, inducido con una dieta elevada en fructuosa, provocando resistencia a la insulina, lo cual producía RL., se evaluó el efecto antioxidante de carnosina (2 g/L/día en agua potable, durante 8 semanas) con vitamina E (200 mg/kg; i.m 2 veces por semana,

durante 8 semanas), en comparación con un tratamiento que solo utilizaba carnosina. Los resultados arrojaron, que el tratamiento más eficaz era en el que se empleaban los dos antioxidantes, debido a que, se observó una disminución en el estado oxidante, un aumento en los niveles de enzimas degradantes de los hidroperóxidos, como la glutatión peroxidasa (GPx) y la superóxido dismutasa (SOD), disminución en la peroxidación lipídica y en la esteatosis hepática (Giris M. et al., 2014). Asimismo, en otro estudio en el cual se indujo estrés oxidante mediante la administración de doxorubicina (DOX), se evaluaron los efectos del tratamiento preventivo de carnosina (250 mg/kg/día; i.p durante 12 días) con vitamina E (200 mg /kg; i.m, una vez cada 3 días, durante 12 días), en corazón, hígado y riñones de ratas. Los resultados mostraron disminución significativa en el estado de estrés oxidante, al disminuir los niveles de DC, proteínas carboniladas (PC) y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), sugiriendo que es un tratamiento útil, ya que la combinación de carnosina y vitamina E, aumentó su eficacia como antioxidantes (Kumral A. et al., 2015).

También se han evaluado la acción conjunta de estos antioxidantes en un estudio que evaluó el estrés oxidante en el hígado, corazón y cerebro en un modelo de envejecimiento, en el cual se encontró que la acción conjunta de carnosina (250 mg /kg; i.p, 5 días a la semana, durante 2 meses) y de vitamina E (200 mg/kg; i.m, 2 veces por semana, durante 2 meses) aumentaba el estado antioxidante, reflejado en la disminución de los niveles de marcadores de estrés como son MDA y DC, estos resultados sugieren que este tratamiento es útil para disminuir el estrés oxidante en el hígado, corazón y cerebro (Coban J. et al., 2013).

Además, se realizó otro estudio, en el que se evaluó la eficacia del tratamiento con vitamina E (200 mg/kg; i.m) y carnosina (250 mg/kg; i.p), en un modelo murino de estrés oxidante testicular inducido por el envejecimiento, los resultados evidenciaron que la combinación de estos dos antioxidantes repercutía de manera benéfica contra el estrés oxidante, debido al aumento en los niveles de enzimas degradantes de los hidroperóxidos, como: GPX y glutatión transferasa (GST) (Aydin A et al., 2015).

1.7 HIPOCAMPO

El hipocampo deriva de la región medial del telencéfalo, forma parte del sistema límbico y tiene un papel importante en la adquisición del aprendizaje espacial y la consolidación de la memoria a largo y corto plazo. El hipocampo se encuentra en los mamíferos de manera pareada, en el humano se localiza en el lóbulo temporal mientras que en los roedores en la parte subcortical (Cooper y Lowenstein, 2002; Squire y Zola, 1996) (Figura 13).

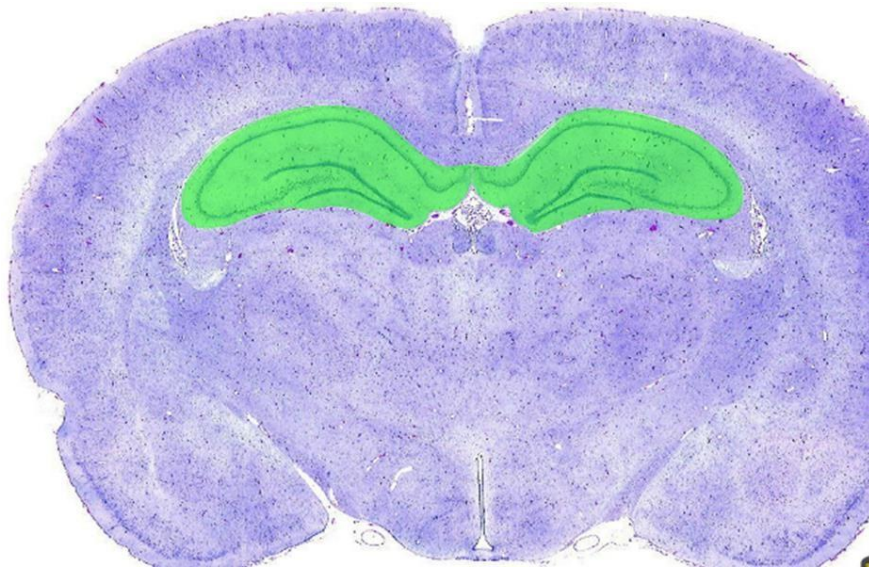


Figura 13. Localización del hipocampo en el cerebro de un murino (zona marcada con verde) (Tomado de Atlas de histología vegetal animal. (2014). http://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos a/guiada_o_a_01palio.php).

Anatómicamente la formación del hipocampo consiste en tres regiones, el cuerno de Amón también llamado hipocampo, giro dentado y el subiculum (Figura 14) (Cooper y Lowenstein, 2002).

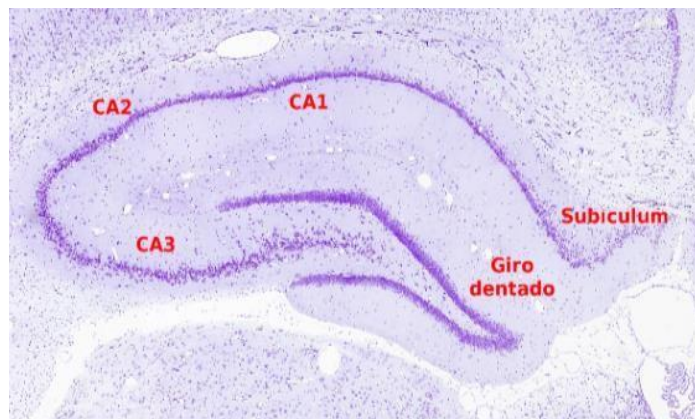


Figura 14. Regiones del hipocampo en ratón (Tomado de Atlas de histología vegetal animal. (2014). http://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos a/guiada_o_a_01palio.php).

Al giro dentado se le llama así, debido a su forma parecida a un diente, la cual es formada por numerosos vasos sanguíneos que penetran la superficie ventricular del hipocampo y del giro dentado. El hipocampo está conformado por tres capas: molecular, granulosa y polimórfica (Stanfield y Cowan, 1988). En cuanto al subiculum, es una banda pequeña de corteza, interpuesta entre el hipocampo y la circunvolución del parahipocampo del lóbulo temporal, recibe información suministrada de las células piramidales del hipocampo. El cuerno de Amón está

dividido en tres áreas: CA1, CA2 y CA3, siendo el principal tipo celular, las neuronas piramidales. La arquicorteza del hipocampo consiste en 3 capas: la molecular, la piramidal y la polimórfica (Stanfield y Cowan, 1988; Cooper y Lowenstein, 2002) (Figura 15).

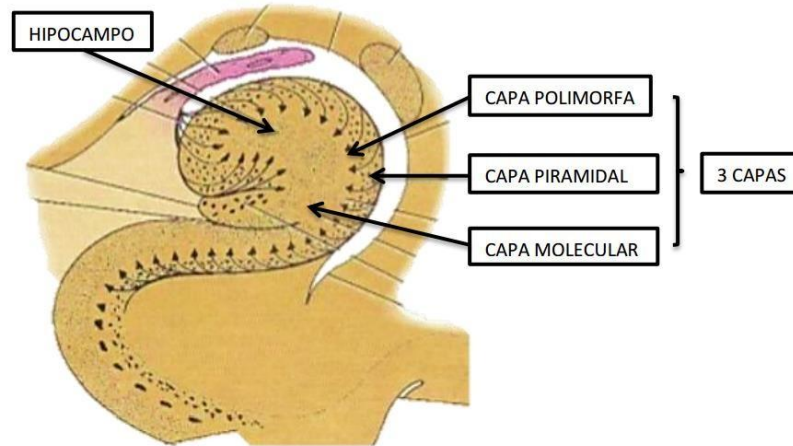


Figura 15. Capas del hipocampo (Tomado y modificado de <http://www.slideshare.net/flakpalacios/sistema-lmbico-49538020?smtNoRedir=1>)

- **Capa molecular:** es la más profunda de la arquicorteza del hipocampo y está localizada en el centro de la formación del hipocampo y consiste en árboles dendríticos apicales y terminales de axones. Las dendritas apicales pertenecen a las neuronas piramidales del hipocampo, mientras que las terminales de los axones pertenecen a las células granulares, cuyos cuerpos se encuentran en la capa de células granulares del giro dentado. Esta capa se fusiona con la capa molecular de la circunvolución dentada y con la neocorteza.
- **Capa piramidal:** se encuentra en la zona media más prominente de la arquicorteza del hipocampo y está conformada por neuronas piramidales que presentan ED. Las dendritas de estas neuronas, se ramifican en la capa molecular, donde sus axones pasan a la dirección opuesta, a través de la capa polimórfica y después pasan en el alveus, la fimbria y el fornix. Los axones de las neuronas piramidales, conocidos como colaterales de Schaffer, se ramifican y cruzan las capas polimórfica y piramidal, alcanzando la capa molecular, donde establecen sinapsis con las dendritas de otras neuronas piramidales.
- **Capa polimórfica:** es la capa superficial, la cual se encuentra por debajo del alveus y consiste en interneuronas, así como en dendritas de células piramidales y ramas colaterales de axones.

Por otra parte, el aprendizaje es un proceso mediante el cual se adquiere conocimiento, mientras la memoria es un proceso en el que se almacena dicho conocimiento, que a su vez, se aplica en el futuro. La memoria se clasifica en Intermedia, de corto y largo plazo (Sweatt, 2004). La información recién aprendida se almacena inicialmente en la memoria intermedia y de corto plazo, durando segundos y minutos, respectivamente. Si la información recién aprendida se refuerza, puede almacenarse en la memoria de largo plazo por un tiempo prolongado, dicha función está mediada por la formación del hipocampo (Sweatt, 2004).

Asimismo, la memoria se consolida, gracias al circuito del procesamiento de la información de la memoria declarativa, llamado circuito trisináptico (Figura 16) el cual inicia por la vía perforante, en donde las neuronas de la corteza entorrinal proyectan sus axones hacia las neuronas granulares del giro dentado, a su vez por medio de la vía de las fibras musgosas, los axones de estas neuronas hacen una eferencia hacia las neuronas piramidales de la región CA3 y finalmente los axones de estas neuronas se proyectan hacia las neuronas piramidales de la región CA1 mediante la vía colateral de Schaffer (Olivares-Hernández et al., 2015). Lo anterior gracias a que, las células piramidales del hipocampo tienen un alto grado de interconexión, facilitando las relaciones entre las diferentes entradas de información.

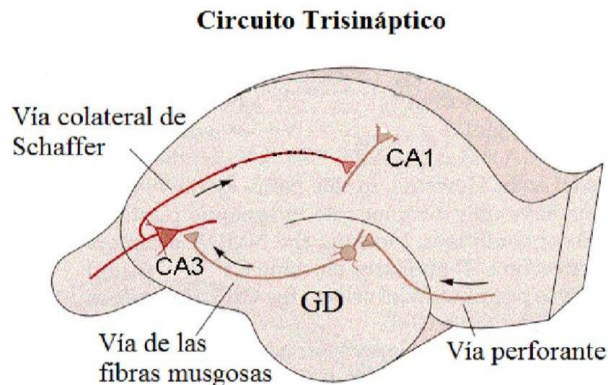


Figura 16. Diagrama del circuito trisináptico del hipocampo (circuito intrínseco) (Tomado y modificado de http://www7.uc.cl/sw_educ/neurociencias/html/205.html).

1.8 ESPINAS DENDRÍICAS

Las ED fueron descritas inicialmente por Santiago y Ramón y Cajal en 1888, quienes propusieron que éstas se conectan por axones y dendritas, siendo elementos estructurales del sistema nervioso (Ramón y Cajal S, 1888). Son minúsculas protuberancias protoplasmáticas que revisten la superficie de muchas neuronas (Koch C et al., 1992) y representan el principal sitio de contacto sináptico

excitador en neuronas del hipocampo, la neocorteza y otras regiones cerebrales de mamíferos (Figura 17). Más del 95% de las sinapsis excitatorias en el SNC se producen en las ED (Harris K.M y Stevens, 1988).

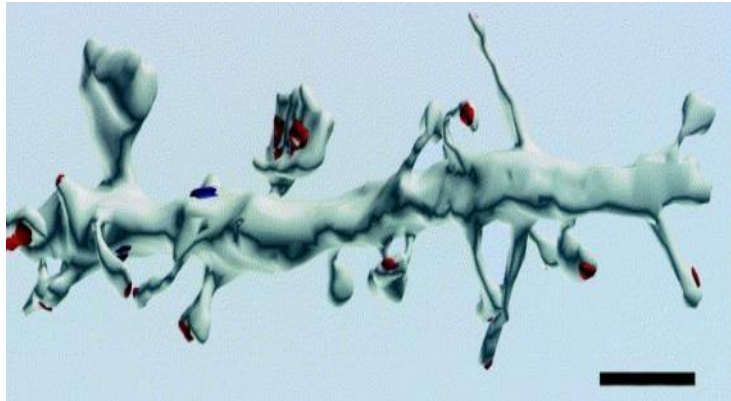


Figura 17. Segmento reconstruido de una dendrita espinosa de una neurona piramidal del área CA1 del hipocampo de la rata adulta. Escala=1 μm
(Tomado de Fiala C et al., 2002).

La densidad de éstas va de 1 a 10 por micrómetro a lo largo de la longitud de la dendrita. Algunas neuronas como las del hipocampo contienen miles de espinas a lo largo de la arborización dendrítica (Sorra y Harris K.M, 2000). Se ha considerado que las neuronas piramidales de la región CA1 tienen tres espinas por μm en la dendrita (Harris K.M et al., 1992), mientras que las neuronas cerebelosas de Purkinje tienen hasta 15 espinas por μm (Harris K.M y Stevens, 1988)

Su estructura consta de tres elementos básicos:

- a) La base en el cruce con el eje dendrítico,
- b) El cuello y
- c) La cabeza que puede hacer contacto con el axón.

Su forma y tamaño es variable, debido a que su longitud puede ir desde 0.2 a 2 μm , con un volumen de 0.001 a 1 μm^3 . Con base a la morfología que presentan se clasifican en: espinas delgadas, espinas cortas sin cuello y espinas con cabeza ancha denominadas espinas hongo (Soria-Fregozo y Pérez-Vega, 2012) (Figura 18).



Figura 18. Representación esquemática de los filopodios y las espinas dendríticas: delgada, corta sin cuello y hongo (Tomado y modificado de Sekino et al., 2007).

Asimismo, las ED están conformadas por receptores a glutamato, proteínas de densidad post-sináptica (PDS) (Espinofilina, Arp2/3, cortactina, ADF/cofilina, profilina, gelsolina, drebrina y neurabina) (Sarrouilhe et al., 2006; Ethell y Pasquale, 2005) y el citoesqueleto de actina, así como una amplia variedad de organelos del sistema de endomembranas (retículo endoplasmático liso, mitocondrias y endosomas), en cuanto al citoesqueleto este carece de microtúbulos (Figura 19) (Bourne y Harris, 2007).

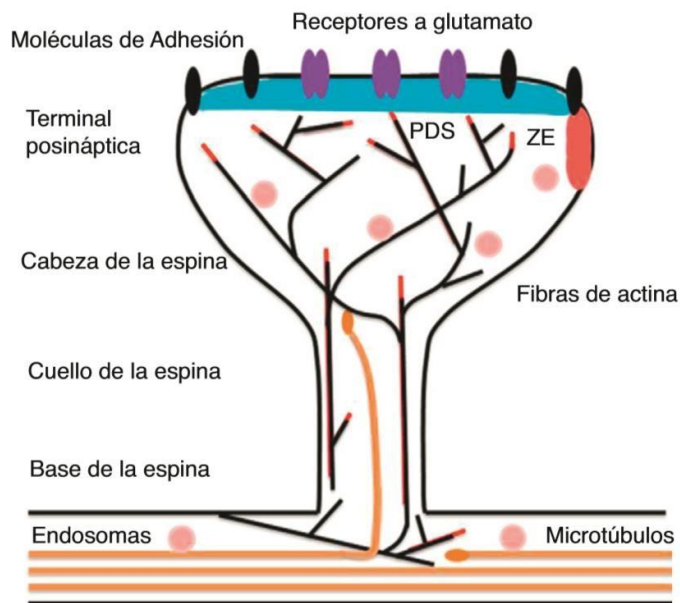


Figura 19. Estructura de la espina dendrítica (Tomado de Soria-Fregozo y Pérez-Vega., 2012).

Se ha evidenciado, que la principal proteína del citoesqueleto presente en las ED, es la actina, la cual regula la motilidad y la estructura celular. Forma redes cortas y ramificaciones largas presentes en el cuello de las ED, así como en la cabeza justo por debajo de las PDS; la principal función de estas proteínas, es la de estabilizar y modular la estructura de la cabeza, además son fundamentales en la formación, eliminación, motilidad, tamaño y forma de las ED (Schubert y Dotti, 2007; Tada y Sheng, 2006). A su vez, se ha demostrado que el reordenamiento de la actina, tiene efectos sobre la formación y/o la pérdida de ED, así como en los cambios morfológicos (forma y número de espinas). Asimismo, tanto la forma monomérica (G-actina) como la polimérica (F-actina), que están presentes en las espinas, en el grado de depolimerización de actina (y, por lo tanto, la relación G-actina/F-actina) influyen en la morfología de las ED (Cingolani y Goda, 2008; Korobova y Svitkina, 2010).

Por otra parte, se sabe que el almacén de información en el cerebro, está dada por el fortalecimiento o el debilitamiento de las sinapsis existentes, así como por la aparición o eliminación de las ED, debido a que se ha evidenciado que la densidad de las ED está relacionada con el grado de conectividad entre las neuronas y los axones que pasan a través de las arborizaciones dendríticas. Estos cambios funcionales y estructurales en las espinas y en las sinapsis se cree son la base tanto del aprendizaje como la memoria (Kasai H et al., 2010).

Por otro lado, se ha observado, que éstas contienen compartimientos con Ca^{2+} , los cuales podrían proteger la dendrita y la neurona de la excitotoxicidad al restringir las altas concentraciones de Ca^{2+} en la región de la sinapsis (Harris K.M y Kater, 1994; Segal M, 1995) Por consiguiente, con base a las funciones de las espinas, cualquier cambio patológico en el número o en la estructura de éstas, repercute significativamente sobre la función cerebral.

Existen reportes en la literatura que han relacionado las alteraciones morfológicas (forma y número) de las ED, con algunos trastornos psiquiátricos y neurológicos (Blanpied y Ehlers, 2004). Los cambios patológicos en las espinas se pueden clasificar en dos categorías generales, las patologías de la distribución y las patologías de la estructura. Las patologías de distribución incluyen aumento y disminución en la densidad de las espinas y cambios generalizados en la morfología, mientras que las patologías en la estructura incluyen todos los cambios observables en espinas simples, tales como densificación del citoplasma, hipertrofia de organelos o volumen de las espinas (Fiala C et al., 2002).

Los trastornos que involucran la disminución de la densidad espinosa, son: retraso mental, infección prenatal, desnutrición, exposición a toxinas, epilepsia, prionesis, así como otros trastornos neurodegenerativos (Alzheimer, Huntington, Parkinson, etc). Dado que el estrés oxidante juega un papel crucial en la fisiopatología de enfermedades neurodegenerativas (Bains y Shaw, 1997; Gilgun-Sherki et al., 2001), parece pertinente mencionar, que las ERO generan la pérdida de ED, en células granulosas del bulbo olfatorio, en neuronas espinosas medianas del estriado y en neuronas piramidales de la región CA1 del

hipocampo, como se ha evidenciado en nuestro modelo de trabajo (Ávila-Costa et al., 2004, 2006; Colín-Barenque et al., 2015).

II. JUSTIFICACIÓN

Debido a que las partículas suspendidas han ido incrementándose en la ciudad de México, adosándose a ellas metales como el vanadio, el cual induce estrés oxidante, promoviendo así, pérdida de las espinas dendríticas en neuronas piramidales de la región CA1 en el hipocampo, en estudios previos se observó que la administración de la carnosina, no mostró un efecto neuroprotector en la región CA1, por ende es importante evaluar si la administración simultánea con antioxidantes como carnosina y vitamina E, evitan o reducen la pérdida de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la región CA1, producidas por la inhalación de vanadio.

III. HIPÓTESIS

Si la carnosina y la vitamina E son potentes antioxidantes, entonces la acción conjunta de éstos, aumentará su eficacia, por consiguiente, se evitará o reducirá la pérdida de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la región CA1 generada por la inhalación de pentóxido de vanadio.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antioxidante de la carnosina y la vitamina E, en la región CA1 del hipocampo en un modelo murino por inhalación de pentóxido de vanadio.

4.2 Objetivo particular

Analizar la densidad de las espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo de ratones expuestos a pentóxido de vanadio por vía inhalada con y sin tratamiento de carnosina y vitamina E, mediante la técnica rápida de Golgi.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Animales

Se utilizaron 30 ratones machos de la cepa CD-1 con un peso aproximado de 30-35 g, entre 8 y 9 semanas de edad. Se mantuvieron en condiciones de 12h luz/12h oscuridad, con libre acceso a agua y alimento (purina rat chown) *ad libitum*. Los experimentos se realizaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio).

5.2 Tratamientos

a) Controles

Se colocaron cinco ratones en una caja de acrílico (45.5x35.5x20.5) conectada a un nebulizador ultrasónico (Yue Hua ® modelo: WH-802), donde inhalaban solución salina (0.9%) una hora dos veces por semana, durante cuatro semanas.

b) Exposición a V_2O_5

Se colocaron 5 ratones en una caja de acrílico (45.5x35.5x20.5) conectada al ultranebulizador donde inhalaban 0.02 M de V_2O_5 (equivalente a 1436 mg/m³V) una hora dos veces por semana, durante cuatro semanas.

c) Tratamiento con carnosina

A cinco ratones se les administró carnosina a una dosis de 2 g/L en agua potable, la cual consumieron diariamente, a través de su bebida, durante cuatro semanas, lo anterior con base en los estudios realizados por Giris M. y colaboradores en el 2014.

d) Tratamiento con vitamina E

A cinco ratones se les administró vitamina E, a una dosis de 200 mg/kg de peso por vía intramuscular, dos veces por semana, durante cuatro semanas, lo anterior con base en los estudios realizados por Giris y colaboradores en el 2014.

e) Tratamiento con carnosina y vitamina E

A cinco ratones se les administró carnosina a una dosis de 2 g/L en agua potable, la cual bebieron diariamente, asimismo, se les administró vitamina E de forma simultánea, a una dosis de 200 mg/kg de peso por vía intramuscular, dos veces por semana, durante cuatro semanas, lo anterior con base en los estudios realizados por Giris M. y colaboradores en el 2014.

f) Exposición a V₂O₅ con tratamiento de carnosina y vitamina E

Se colocaron cinco ratones en una caja de acrílico (45.5x35.5x20.5) conectada al ultranebulizador, donde inhalaban 0.02 M de V₂O₅ (1436 mg/m³) una hora, dos veces por semana. De forma simultánea se les administró carnosina a una dosis de 2 g/L en agua potable, la cual bebieron diariamente, asimismo, fueron tratados con vitamina E a una dosis de 200 mg/kg de peso por vía intramuscular, dos veces por semana, durante cuatro semanas (Giris M et al., 2014).

5.3 Sacrificio y fijación

Transcurridas las cuatro semanas, todos los grupos, fueron anestesiados con una dosis letal de Pentobarbital Sódico (35 mg/kg) por vía intraperitoneal, posteriormente se perfundieron por vía intracardiaca con solución salina (pH 7.4) (0.9%) y se fijaron con paraformaldehído al 4% en buffer de fosfatos (0.1M, pH 7.4). Posteriormente, los cerebros se extrajeron, se seccionaron y se colocaron en paraformaldehído al 4% durante 2 horas a 4°C para posteriormente procesarlos por la técnica rápida de Golgi.

5.4 Técnica rápida de Golgi

El método de impregnación argéntica neuronal, o técnica rápida de Golgi, se dio a conocer en 1873. La técnica de impregnación argéntica (reacción negra), como la llamó Golgi (Mazzarello, 1999; Pannese, 1999), se fundamenta en la formación de depósitos opacos intracelulares de cromato argéntico, producidos por la reacción entre el bicromato de potasio y el nitrato de plata. La impregnación revela la morfología neuronal completa (cuerpo celular, dendritas y axón) en tres dimensiones (Torres-Fernández, 2006).

Esta técnica fue utilizada, después de que los cerebros seccionados estuvieran en paraformaldehído al 4% por 2 horas, al término de éstas, los cerebros se colocaron en una solución de Golgi (Ver anexo) durante 6 días. Posteriormente, en el séptimo día los cerebros se lavaron con la solución de nitrato de plata (0.75%), dejándose en ésta durante un día. Después, en el octavo día, se encastraron en parafina y se realizaron cortes histológicos en el micrótopo (90 µm de grosor). Una vez que se obtuvieron los cortes, éstos se deshidrataron por medio de un tren de alcoholes, uno al 96% y dos al 100%, posteriormente se aclararon en Eugenol y por último en Xilol (en cada uno permanecieron durante 10 minutos). Finalmente los cortes se montaron y se cubrieron con resina sintética, para su análisis cuantitativo.

5.5 Análisis citológico

De los hipocampos que se procesaron con la técnica rápida de Golgi, se analizó la región CA1, contando las espinas dendríticas en 10 μm lineales de cuatro dendritas secundarias, de 20 neuronas piramidales por ratón de todos los grupos. El análisis cuantitativo del número de espinas dendríticas de las neuronas piramidales, se realizó directamente en un microscopio óptico modelo Olympus CH30, en el objetivo de 40 X. Los datos obtenidos se capturaron utilizando el programa Excel 2010 como herramienta, posteriormente se analizaron mediante una prueba de ANOVA y *Post-hoc Tukey* utilizando como herramienta el software estadístico Graph Pad Prism.

VI. RESULTADOS

En el análisis citológico de las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo, se observó una disminución significativa en la cantidad de ED del grupo expuesto a V ($\bar{x}=14.97 \pm 0.19$) en comparación con el grupo control ($\bar{x}=20.82 \pm 0.26$). A diferencia de lo esperado, los ratones expuestos a V y tratados con carnosina y vitamina E, presentaron mayor pérdida de ED ($\bar{x}=12.70 \pm 0.12$) en comparación con el grupo expuesto a V. Asimismo, el grupo tratado con vitamina E ($\bar{x}=17.55 \pm 0.18$) presentó mayor pérdida en el número de ED en comparación con el grupo tratado con carnosina ($\bar{x}=19.028 \pm 0.22$), a su vez ambos grupos presentaron menor cantidad de ED en comparación con el grupo control. Por otro lado, el grupo tratado con carnosina y vitamina E de forma simultánea ($\bar{x}=20.92 \pm 0.25$) no presentó diferencia significativa en la densidad espinosa en comparación con el grupo control (Gráfica 1; Figuras 20-22).

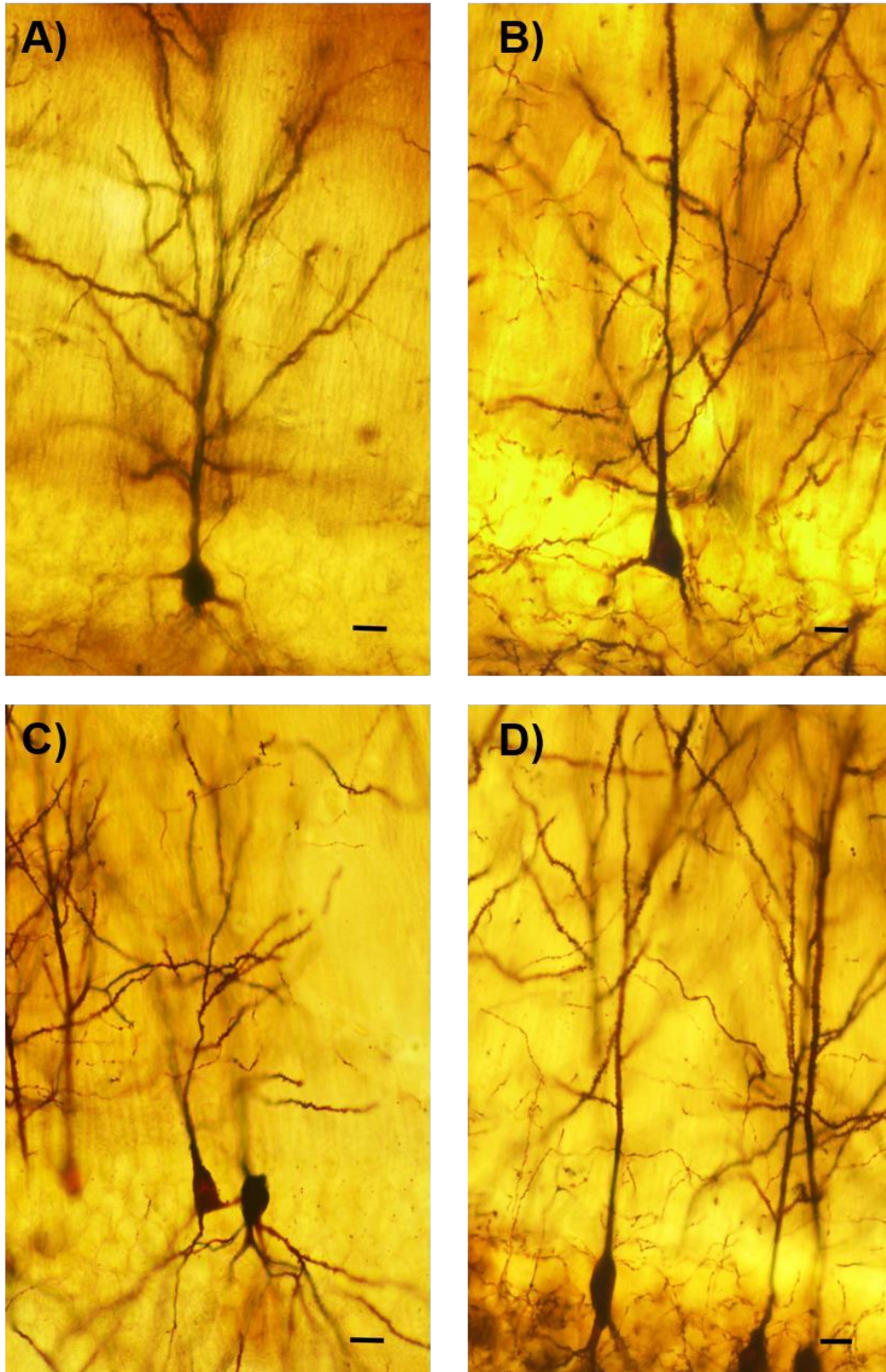


Figura 20. Fotomicrografías de neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo de ratón; **A)** Control, **B)** Expuesto a V, **C)** Expuesto a V tratado con carnosina y vitamina E, **D)** Tratado con Vitamina E. Objetivo 20 X. Escala = 25 μ m.

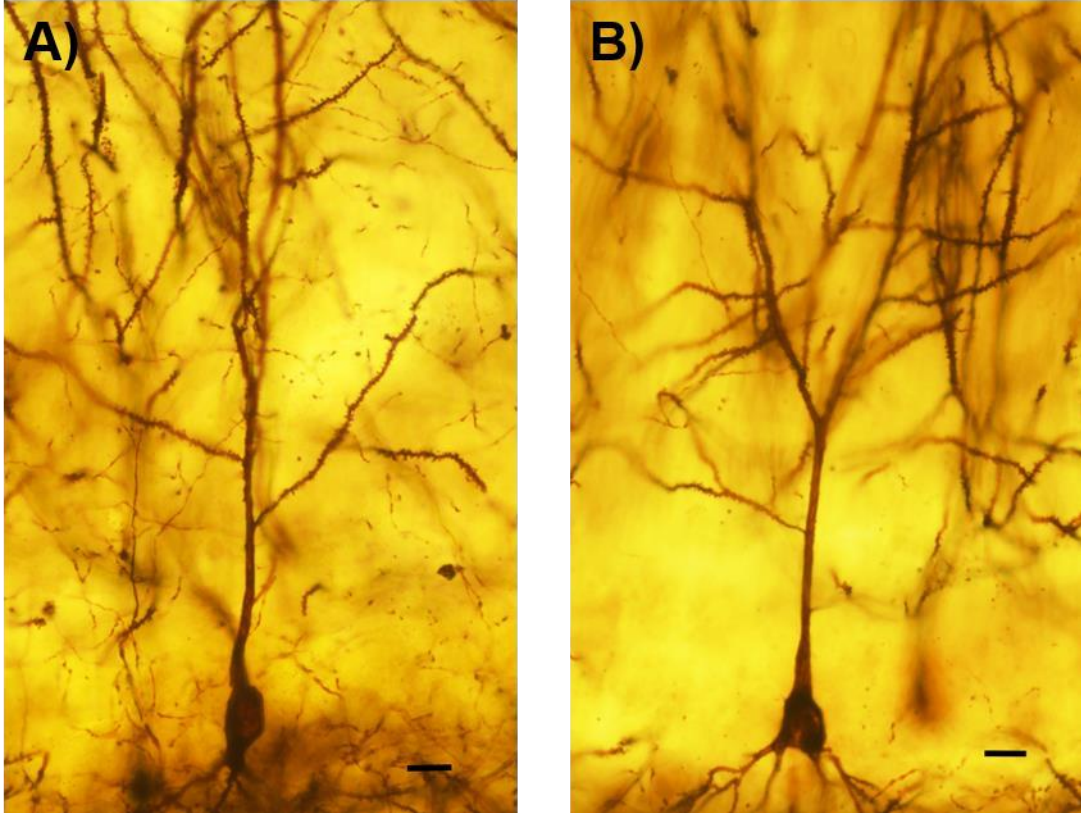


Figura 21. Fotomicrografías de neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo de ratón; **A)** Tratado con carnosina y **B)** Tratado con carnosina y vitamina E. Objetivo 20 X. Escala = 25 μ m.

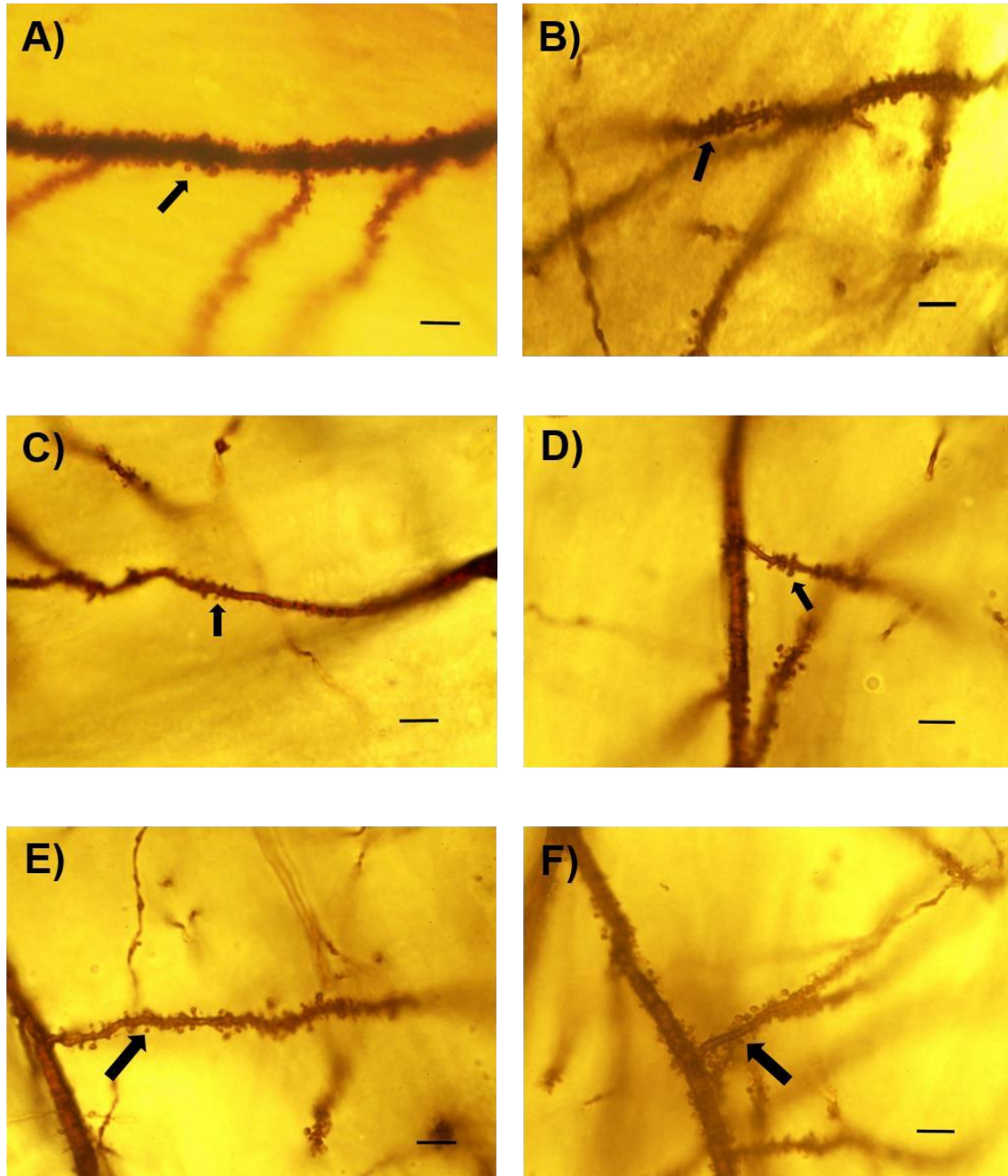
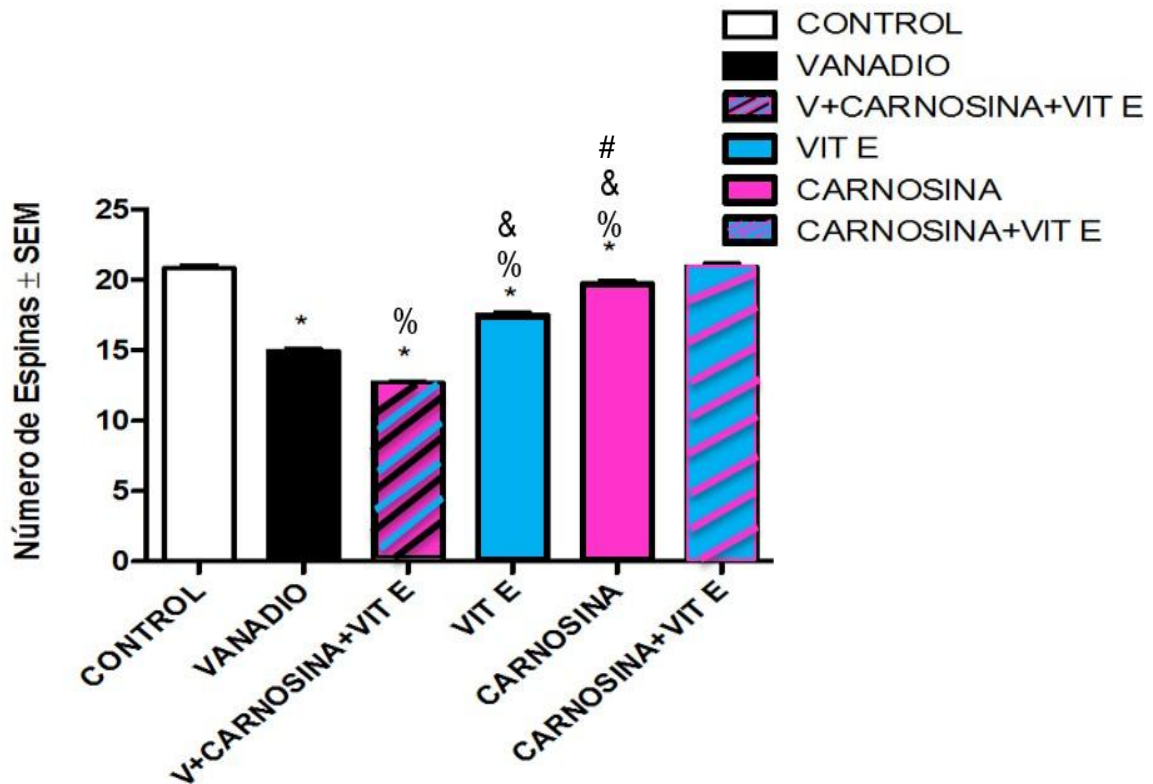


Figura 22. Fotomicrografías de dendritas con espinas dendríticas de neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo de ratón; **A)** Control, **B)** Expuesto a V, **C)** Expuesto a V tratado con carnosina y vitamina E, **D)** Tratado con vitamina E, **E)** Tratado con carnosina, y **F)** Tratado con carnosina y vitamina E. Se observa que el grupo expuesto a V y tratado con carnosina y vitamina E, tiene menos espinas dendríticas en comparación con los demás grupos. Las flechas señalan una espina dendrítica de una dendrita secundaria. Objetivo 100 X. Escala = 5 μ m.



* = $p < 0.05$ Control vs Grupos experimentales
 % = $p < 0.05$ Vanadio (V_2O_5) vs Grupos con antioxidantes
 & = $p < 0.05$ Carnosina + Vitamina E vs Vitamina E y Carnosina
 # = $p < 0.05$ Vitamina E vs Carnosina

Gráfica 1. Número de espinas dendríticas de las dendritas secundarias de neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo. Al término de la cuarta semana se observaron las diferencias entre grupos; (*) Control vs. Grupos experimentales, (%) Vanadio vs. Grupos con antioxidantes, (&) Carnosina + Vitamina E vs. Vitamina E y Carnosina y (#) Vitamina E vs. Carnosina. Las barras representan el promedio \pm error estándar. ANOVA *Post-hoc Tukey*. $p \leq 0.05$ (por grupo $n=5$).

VII. DISCUSIÓN

Se ha sugerido que las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, presentan como posible factor de riesgo la exposición ambiental crónica a metales, los cuales pueden inducir estrés oxidante (Calderón-Garcidueñas et al., 2013; Korbecki et al., 2012). Siendo el hipocampo la estructura responsable de la adquisición y retención de la memoria, es una de las principales estructuras en verse alterada en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer (Jack CR et al., 1997), debido a que es especialmente vulnerable al estrés oxidante (Valko et al.,

2005). Asimismo, en estudios previos se ha reportado que la inhalación de V_2O_5 , un contaminante atmosférico, causa alteraciones morfológicas en el hipocampo, como pérdida de ED en las neuronas piramidales de la región CA1, teniendo una correlación con la disfunción de la memoria espacial (Ávila-Costa et al., 2006). Debido a que la administración simultánea de carnosina y vitamina E aumenta su eficacia como antioxidantes, disminuyendo el estrés oxidante en varios tejidos, entre ellos el tejido nervioso (Coban et al., 2013), se propusieron en el presente trabajo como tratamiento para reducir o evitar la pérdida de ED generada por la inhalación de V.

Grupo expuesto a V_2O_5

El grupo expuesto a la inhalación de V presentó pérdida de ED de las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo como lo reportó Ávila-Costa y colaboradores (2006), esto posiblemente se deba a diversos factores, como es la formación de ERO y RL, generadas por el V, disminuyendo además el nivel de antioxidantes (CAT, SOD) (Soares et al., 2007), lo anterior induce estrés oxidante, lo cual ha sido evidenciado por García y colaboradores (2004), reportando peroxidación lipídica en el hipocampo, evidenciada por el incremento en la concentración de MDA., asimismo, en nuestro modelo de inhalación se ha demostrado el aumento de Hidroxinonenal (4-HNE) en neuronas piramidales de la corteza cerebral, así como incremento de lipofuscina en las células granulosas del bulbo olfatorio (Jiménez-Martínez, 2009; Colín-Barenque et al., 2015).

Asimismo, se ha evidenciado que las alteraciones morfológicas en las ED observadas bajo la inducción de estrés crónico (inmovilización), son producidas por cambios en las vías de transducción de señales que están involucradas en la reorganización del citoesqueleto de actina (García-Rojo et al., 2017). Los miembros de la familia Rho-GTPasa regulan la dinámica del citoesqueleto de actina y modulan el crecimiento axonal, la arborización dendrítica y el crecimiento de espinas (Luo, 2000; Nakayama et al., 2000; Tashiro y Yuste, 2004; Govek et al., 2005; Elia et al., 2006). Por ejemplo, la activación de las RacGTPasas estimula la formación de espinas finas (Nakayama et al., 2000), por el contrario, las RhoA-GTPasas promueven la simplificación de la arborización dendrítica y reducen la longitud y el número de las espinas (Nakayama et al., 2000; Nakayama y Luo, 2000).

Aunado a esto, se ha reportado que los receptores tipo RTK (receptores con actividad de cinasa de tirosinas), pueden controlar la actividad de proteínas G pequeñas, como los miembros de la familia Rho, incluyendo RhoA, (Gomperts B et al., 2009; Macias-Silva et al., 2016), además una de las principales vías intracelulares que activan es la cascada de MAPKs (cinasas de proteína activadas por mitógenos), la cual se ha evidenciado que es activada por la producción excesiva de ERO generadas por el V (Fortoul et al., 2011)., por consiguiente, podría ser que los receptores RTKs posiblemente aparte de activar la cascada MAPKs en el modelo de inhalación a V, activen las Rho GTPasas, como la RhoA, la

cual se expresa en ED de distintos tipos neuronales, (Hashimoto et al., 1999; Olenik et al., 1997) donde juega un papel esencial en su formación, maduración y mantenimiento (Tashiro et al., 2000) a través de la influencia sobre el citoesqueleto de actina (Govek et al., 2005). Así, una vez que RhoA es activada, se une y activa a la cinasa ROCK II (proteína cinasa II asociada a Rho), siendo esta última altamente expresada en varias áreas cerebrales, incluyendo las neuronas piramidales del hipocampo (Hashimoto et al., 1999), esta cinasa regula la dinámica del citoesqueleto por medio del siguiente mecanismo: ROCK II incrementa la fosforilación de MYL/MLC (cadena ligera de miosina) por fosforilación directa de MYL (cadena ligera esencial de miosina) e inhibe a la fosfatasa de MYL (MLCP) (cadena ligera de la miosina fosforilada) a través de la fosforilación de la miosina fosfatasa vinculada con la subunidad 1 (MYPT1) (Figura 22) (Macias-Silva et al., 2016; Castañeda et al., 2015), produciendo así la contractilidad de la actomiosina, lo cual probablemente induciría la pérdida de las ED en el hipocampo del grupo expuesto a V.

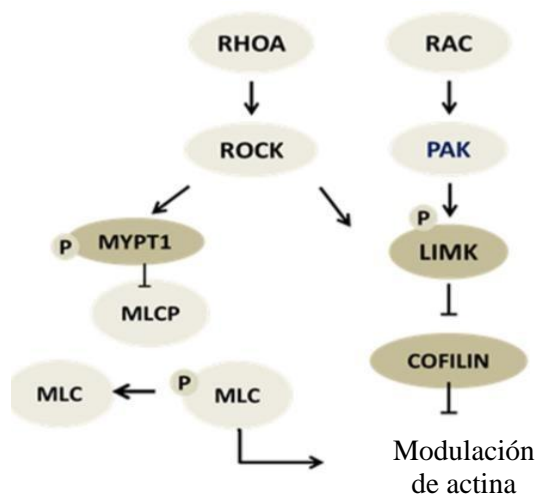


Figura 22. Vías relacionadas con la activación RAC y RhoA
(Tomado de Castañeda et al., 2015).

Asimismo, García-Rojo y colaboradores en el 2017 en un modelo de depresión, se empleó un fármaco (Fasudil) inhibidor de ROCK, en este estudio se evidenció que el fármaco evitaba el aumento en los niveles de MYPT1 y la pérdida de espinas en las dendritas secundarias de las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo, sugiriendo que la interrupción de la vía Rho-ROCK II y/o la inhibición de otras cinasas podría potencialmente evitar la pérdida de ED en las neuronas del hipocampo. A su vez, ROCK también fosforila a la cinasa LIMK (Figura 22), la cual inhibe por fosforilación a la proteína despolimerizadora de actina llamada cofilina, lo que lleva a la estabilización de actina (Macías-Silva et al., 2016), Además, bajo la activación de RhoA, ROCK II también se asocia y fosforila a profilina (Da Silva et al., 2003; Witke et al., 2001) que una vez activada, también promueve la estabilidad de la actina incrementando los niveles de su forma filamentosa. Debido a que el V compite con los grupos fosfatos al tener una similitud

estructural y electrónica con éstos (Mukherjee et al., 2013), el V podría alterar la vía activada por la RhoA, afectando la fosforilación que inhibe a la cofilina, resultando quizás en la activación de esta proteína que contribuye al acortamiento de los filamentos (Macías-Silva et al., 2016), lo cual induciría la alteración en la morfología y por ende a la función sináptica de las ED (Meng et al., 2002), resultando posiblemente en la retracción de las mismas, ocasionando la pérdida de éstas. Asimismo, al ser alterada la vía, la fosforilación de la profilina se ve afectada por el V, al competir éste con los grupos fosfatos, lo cual alteraría la función de ésta, que es la de cambiar el nucleótido de la actina de ADP a ATP para promover la polimerización a modo de filamentos (Goldschmidt-Clermont et al., 1990) (Pollard et al., 2000), al interferir el V con la fosforilación de la profilina, podría afectar la fosforilación que requiere la actina-ADP para ser actina-ATP y poderse polimerizar (Paniagua et al., 2007), aunado a esto, se ha reportado que la profilina está involucrada en la regulación de la plasticidad morfológica dependiente de actina en las ED en neuronas piramidales hipocampales (Ackermann y Matus, 2003), por consiguiente la posible alteración de ésta, ocasionada por el V, pudo provocar la pérdida de ED.

Aunado a esto, en el mismo modelo de inhalación a V_2O_5 , se ha reportado disminución de diferentes proteínas del citoesqueleto como la γ -tubulina (Mussali-Galante et al., 2005), además se ha evidenciado el decremento en los niveles de actina en células testiculares (Rodríguez-Lara et al., 2013), debido a que la actina al igual que otras proteínas del citoesqueleto es muy susceptible al efecto del estrés oxidante (Hertelendi et al., 2008) inducido en este caso por V, lo anterior indica que, posiblemente ocurrió una disminución de actina de las ED, dañando así el citoesqueleto, alterando la estabilidad y plasticidad de las espinas y causando así la pérdida de éstas.

La pérdida de ED también podría deberse a la alteración en la fosforilación de la proteína espinofilina (Sph), también llamada neurabina II (Feng-Jian et al., 2000; Ayako-Satoh et al., 1998), la cual se expresa principalmente en el SNC en las ED. Se ha identificado a la Sph como una proteína que regula el citoesqueleto a través de su unión a F-actina (Ferrer-Sánchez, 2009; Sarrouilhe D et al., 2006), por lo que el V al competir con los grupos fosfatos (Mukherjee et al., 2013), quizás alteraría la fosforilación de la Sph al unirse a uno de los sitios de fosforilación (serinas 94 y 177), lo cual podría afectar su unión a la F-actina y así alterar la estructura de las ED (Futter et al., 2005; Hsieh-Wilson et al., 2003; Ferrer-Sánchez, 2009).

Otra posible explicación a la disminución de las ED, es la citotoxicidad ocasionada por el estrés oxidante inducido por el V (Korbecki et al., 2012), ya que el aumento en los niveles de ERO, producen que la neurona presináptica libere el neurotransmisor excitatorio glutamato, el cual activa los receptores glutamatérgicos (NMDA) de la neurona postsináptica, la entrada de glutamato (Glut) junto con la presencia de especies reactivas llevan a un aumento de los niveles intracelulares de Ca^{2+} , este aumento de los niveles de Ca^{2+} y óxido nítrico en la mitocondria hace que disminuya la producción de ATP y se forme el poro de transición mitocondrial (MTP), el déficit de ATP no permite el funcionamiento de las bombas dependientes

de ATP que se encuentran en la membrana citoplásmica, este hecho provoca una entrada masiva de agua (H₂O) y sodio (Na⁺) y una salida de potasio (K⁺) causando edema celular y muerte por necrosis (Angoa-Pérez y Rivas-Arancibia., 2007). Asimismo, cuando el aumento de Ca²⁺ se mantiene por más tiempo, se activan las proteasas, lipasas y endonucleasas.

La activación de proteasas dependientes de Ca²⁺ puede dañar al citoesqueleto y a las proteínas de membrana. La activación de las lipasas, cataliza la hidrólisis de los fosfolípidos de la membrana. Además la activación de las endonucleasas dependientes de Ca²⁺, provoca fragmentación del DNA el cual es un evento importante en la apoptosis (Halliwell B y Gutteridge, 1999). Debido a esto, es posible que se retraigan las ED como un mecanismo ante la citotoxicidad para evitar la muerte neuronal, ya que al disminuir la cantidad de ED disminuyen los contactos sinápticos y con esto la posible citotoxicidad (Ávila-Costa et al., 2006 y 2004).

Por otra parte, la pérdida de espinas, además podría estar relacionada con un aumento en la actividad de las metaloproteinasas dos y nueve (MMP-2 y MMP-9) en el hipocampo como indico Colín-Barenque y colaboradores en el 2008, en este estudio el aumento de las metaloproteinasas se relacionó con la pérdida de ED, debido a que, al modificar el microambiente pericelular de las neuronas, quizás se altere el mantenimiento y formación de las espinas (Michaluk et al., 2011).

Grupo expuesto a V₂O₅ tratado con carnosina y vitamina E

A diferencia de lo esperado los ratones expuestos a V₂O₅ y tratados con carnosina y vitamina E de forma simultánea, presentaron mayor pérdida de ED en comparación no solo con el grupo control, sino además con todos los grupos experimentales, hallazgo que podría explicarse por la inconsistencia en los efectos de la vitamina E como reporta Rietjens-M y colaboradores en el 2002, proponiendo que esta inconsistencia puede estar relacionada con la función y comportamiento químico complejo de la vitamina E, siendo capaz de tener propiedades antioxidantes, neutras o prooxidantes. Este comportamiento dual es representado en la Figura 23.

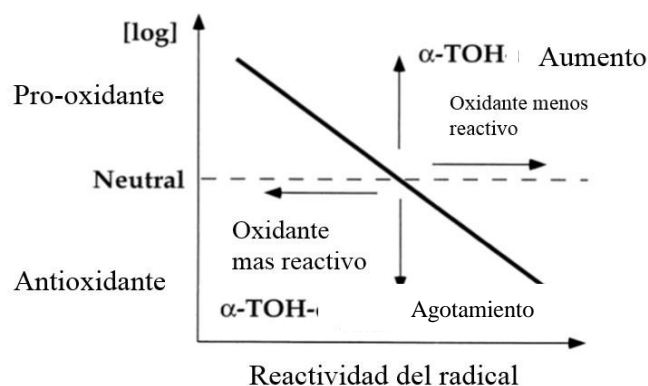


Figura 23. Actividad pro y antioxidante de Vitamina E
(Tomado y modificado de Shane y Stocker, 2000).

La actividad prooxidante de la vitamina E descrita en la Figura 23, está mediada por el aumento en los niveles de α -tocoferol y por la elevada reactividad de un radical oxidante, posiblemente como los generados por el V ($O_2\cdot$, H_2O_2 y $OH\cdot$) (Shane y Stocker., 2000; Korbecki et al., 2012).

Aunado a esto, el mecanismo representado en la Figura 24 indica que el aumento antes mencionado en los niveles de vitamina E, provoca incremento en los niveles de radicales α -tocoferoxil ($\alpha\text{-TO}\cdot$) generando estrés oxidante, debido a que estos radicales inician por si mismos el proceso de peroxidación lipídica, causando así daño a los lípidos de las membranas y a biomoléculas (Catalá, 2006). Este proceso se inicia cuando el α -tocoferol dona un Hidrogeno (H^+) de su grupo (OH), convirtiéndose en un radical $\alpha\text{-TO}\cdot$, el cual es inocuo, sin embargo al reaccionar con un hidrogeno bisallic (LH) éste le dona un (H^+) y se genera un radical lipídico ($L\cdot$), este radical es rápidamente atacado por el Oxígeno (O_2) para formar un radical peroxilo ($LOO\cdot$), el cual en presencia de LH crea hidroperóxidos y $L\cdot$, que reaccionan con $\alpha\text{-TO}\cdot$ dando origen a productos deletéreos de la peroxidación, tales como MDA regenerando el radical $\alpha\text{-TO}\cdot$. Este proceso se repite en forma cíclica, propagándose así la peroxidación lipídica. De esta manera la vitamina E sería prooxidante (Figura 24).

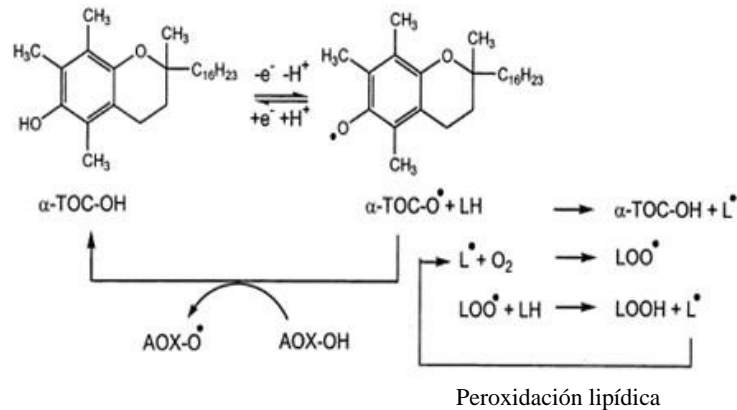


Figura 24. Mecanismo de acción prooxidante de la vitamina E
(Tomado y modificado de Rietjens M et al., 2002).

Con relación a lo anterior, un meta-análisis reciente ha concluido que la administración de dosis altas de vitamina E, pueden no ser eficientes para prevenir las enfermedades degenerativas crónicas y de hecho, pueden aumentar la mortalidad (dosis aproximadamente superior a 150 UI/d), por lo que deben evitarse (Miller III et al., 2005). Lo anterior podría relacionarse con la discrepancia en los resultados obtenidos entre el grupo expuesto a V y tratado con antioxidantes, y los trabajos empleados como antecedentes, en los cuales si se vio neuroprotección (Tabla 2). Es posible que esta diferencia se deba a la dosis empleada en este grupo, la cual es mayor en comparación con los trabajos previos, así como el tiempo en el que fue administrada, por consiguiente la dosis elevada en este grupo podría estar relacionada con un posible efecto prooxidante.

Tabla 2
Antecedentes de vitamina E

Trabajo	Dosis	Tiempo
	200 mg/kg/i.m	4 semanas
Omer-Bastanci et al (2010)	100 mg/kg/i.p	10 días
Annaházi et al (2007)	100 mg/Kg/i.p	5 días
Essam-Eldin et al (2013)	15 mg/i.p	Una sola dosis (semana)

La fila azul indica la dosis empleada de vitamina E en el presente trabajo.

Esta acción se vería anulada si el nivel entre los antioxidantes estuviera equilibrado, por consiguiente la acción prooxidante de los radicales tocoferoxil sería inhibida. Sin embargo en caso del grupo expuesto a V y tratado con antioxidantes, posiblemente ocurrió lo contrario. Quizá al aumentar el nivel del α -tocoferol, se incrementaron los radicales tocoferoxil, lo cual probablemente potenció el estado de estrés oxidante iniciado por las ERO generadas por el V en el hipocampo, siendo esta área del cerebro más susceptible al estrés oxidante, debido a que el V disminuye significativamente el nivel de antioxidantes en el hipocampo en comparación con otras regiones del cerebro (Cuesta et al., 2011). A su vez, se ha reportado en modelos *in vitro* que las dosis elevadas de vitamina E pueden desplazar a otros antioxidantes liposolubles (γ -tocoferol) (Huang y Appel, 2003) e inhibir la Glutation-S-transferasa (GST) (Haaften et al., 2003), alterando así el equilibrio en los niveles de antioxidantes y aumentando la vulnerabilidad al daño oxidante. Por lo cual es posible que el estrés oxidante generado por el V, al ser probablemente potenciado por los radicales tocoferoxil, no pudo ser combatido de manera eficiente por los demás antioxidantes, incluyendo a la carnosina. Lo anterior explicaría por qué la pérdida de ED es significativamente mayor en este grupo, en comparación con el grupo expuesto a V, ya que al aumentar la citotoxicidad, es probable que la retracción de espinas se haya incrementado, esto como un posible mecanismo para evitar muerte neuronal (Rietjens-M et al., 2002).

Por otra parte, se ha evaluado la eficacia de la vitamina E en la EA por Petersen y colaboradores en el 2005, los cuales no encontraron diferencias significativas en la tasa de progresión en la enfermedad de EA, al no haber ningún beneficio en pacientes con deterioro cognitivo leve, al administrar vitamina E (2000 UI/día). A su vez, Lloret y colaboradores en el 2009 reportaron que la administración de vitamina E (800 UI/día) tenía efectos diversos en pacientes con la EA, siendo eficaz en algunos al reducir el estrés oxidante y perjudicial en otros, al disminuir la cognición y no prevenir el estrés oxidante. Llegando a la conclusión que la administración de vitamina E en pacientes con EA, no puede recomendarse sin la determinación de su efecto antioxidante en cada paciente, debido a las variaciones interindividuales del efecto de α -tocoferol, que podría actuar

como pro-oxidante en algunos casos (Abudu et al, 2004; Bowry et al., 1995; Miller III et al., 2005). Por lo tanto, la administración de un antioxidante como la vitamina E no siempre ejerce el efecto protector, debido a que su efecto puede depender del sutil equilibrio redox dentro de las células y del equilibrio dentro de la red completa de antioxidantes celulares (Rietjens-M et al., 2002).

En cuanto a la carnosina, está no atenúo la pérdida de ED debido al posible efecto prooxidante de la vitamina E que probablemente potenció el estado de estrés oxidante iniciado por las ERO generadas por el V, aumentando así el desequilibrio entre antioxidantes y las ERO., sugiriendo así que la administración de carnosina no brindo neuroprotección en este grupo posiblemente porque se potenció el estado de estrés oxidante y no necesariamente por la dosis empleada (2 g/L/día). Lo anterior se sugiere por los resultados obtenidos en un modelo *in vitro*, donde se evidenció que la carnosina actuaba como prooxidante, sin embargo los investigadores atribuyen este resultado a las concentraciones menores que emplearon de carnosina (1mM y 5mM) en comparación con estudios previos, donde la concentración de carnosina era significativamente mayor (200 mM) resultando en un antioxidante eficaz (Bekhit et al., 2004). Asimismo, lo anterior se relaciona con el posible efecto prooxidante de la carnosina en la región CA1 del hipocampo, en el mismo modelo de inhalación a V, al provocar incluso mayor pérdida de ED en el grupo de ratones machos expuestos a V₂O₅ y tratados con carnosina en comparación con el grupo de ratones machos expuestos solo a V₂O₅ (Valencia-Segura et al., 2013), sugiriendo que esté resultado se deba a la dosis empleada (1 mg/kg/día), la cual es inferior en comparación con la dosis utilizada en el presente estudio (2 g/L/día) y con las dosis utilizadas en trabajos previos, en los que se evidenció la eficacia de la carnosina como antioxidante, al disminuir el estrés oxidante en el cerebro (Tabla 3). Aunado a esto, es posible que, al emplear una dosis mayor a 1 mg/kg/día, como es el caso del presente estudio (2 g/L/día), ya sin la administración de la vitamina E debido a sus efectos adversos, la carnosina podría tener un efecto neuroprotector en la región CA1 del hipocampo.

Tabla 3
Antecedentes de carnosina

Trabajo	Dosis	Tiempo
	2 g/L/día	4 semanas
Valencia-Segura et al 2013	1 mg/kg/día/oral	4 semanas
Aydin et al 2010	250 mg/kg/día/i.p	4 semanas
Betül-Kalaz et al (2012)	250 mg/kg/i.p (5 a la semana)	21 días

La fila azul indica la dosis empleada de carnosina en el presente trabajo

En cuanto a la posible explicación de que la carnosina a la misma dosis (1 mg/kg/día) en el mismo modelo de inhalación, brinda neuroprotección a distintas partes del cerebro como en corteza motora y bulbo olfatorio, (Perete-Cortes, 2016;

Reséndiz-Avenidaño, 2014) salvo en la región CA1 del hipocampo, esto es probable que se deba a que el hipocampo, es una de las regiones más susceptible al estrés oxidante (Cuesta et al., 2011), siendo incluso una de las principales estructuras dañadas en enfermedades neurodegenerativas como en la EA (West MJ et al., 2004) y que a diferencia del giro dentado que al igual que la región CA1 forma parte de la región hipocampal, en la región CA1 no se generan células progenitoras neuronales (neurogenesis) (Ramírez-Rodríguez et al., 2007).

Por otra parte, lo mencionado con anterioridad hace referencia a los estudios en los que se empleó un solo antioxidante, en cuanto a los trabajos en los que se emplearon dos antioxidantes de forma simultánea (tabla 4), se reportó disminución en marcadores de estrés oxidante (MDA y DC) en el cerebro (Coban J et al., 2013), cabe destacar que la dosis y la vía de administración fue diferente a la que se ocupó en el presente estudio, por lo que no se tiene la certeza que esta dosis sea eficaz para la neuroprotección en la región CA1 del hipocampo.

Tabla 4
Antecedentes de vitamina E y carnosina

Trabajo	Compuesto	Dosis	Tiempo	Tejido
Giris M et al (2014)	Vitamina E	200 mg/kg/i.m/2 veces por semana	2 mes	Hepático
	Carnosina	2 g/L oral/día		
Kumral et al (2015)	Vitamina E	200 mg/kg/i.m/cada tercer día	12 días	Hepático Cardíaco Renal
	Carnosina	250 mg/Kg/i.p/día		
Coban et al (2013)	Vitamina E	200 mg/Kg/i.m/2 veces por semana	2 meses	Hepático Cardíaco Nervioso
	Carnosina	250 mg/Kg/i.p/5 días por semana		

La fila azul indica el antecedente directo del presente trabajo

En cuanto al trabajo realizado por Giris M y colaboradores (2014) en el cual se emplearon las mismas dosis tanto de vitamina E como de carnosina que en el presente trabajo, se evidenció una disminución del estrés oxidante, sin embargo hay que destacar que el tejido hepático es menos susceptible a sufrir daño oxidante, mientras que el tejido nervioso es más susceptible (Coban J et al., 2013), lo cual podría explicar porque aunque se administraron las mismas dosis, no se observó neuroprotección de los antioxidantes en la región CA1 del hipocampo, lo cual como se mencionó previamente, podría deberse al efecto prooxidante de la vitamina E el cual posiblemente potenció el estrés oxidante producido por el V, por lo que la carnosina no pudo actuar de manera eficaz. Así pues, probablemente sería mejor aumentar las defensas antioxidantes endógenas como en este caso la carnosina

que dar antioxidantes exógenos (Gómez-Cabrera et al., 2008; Viña J et al., 2007), como la vitamina E (Lloret et al., 2009).

Grupo tratado con carnosina

El grupo de ratones tratados con carnosina, presentaron disminución en la densidad espinosa en comparación con el grupo control, aunque esta diferencia fue mínima (1 unidad), si bien es significativa por el número elevado de datos (400), no se tiene la certeza si esto tiene una relevancia funcional. Como lo demostró Perete-Cortes en el 2016 en el mismo modelo de inhalación a V_2O_5 , donde una menor cantidad de ED en neuronas piramidales de ratones tratados con carnosina en comparación con el grupo control, no se reflejó en la actividad motora.

Grupo tratado con vitamina E

El grupo de ratones tratados con vitamina E, presentaron mayor pérdida en el número de ED en comparación con el grupo control, lo anterior posiblemente esté relacionado con los resultados obtenidos por Coban J y colaboradores en el 2013, ya que, al administrar la misma dosis que en el presente estudio, reportaron un aumento significativo en los niveles de MDA y DC en el grupo tratado con vitamina E en comparación con el grupo control.

Por otra parte, en el presente grupo se observó mayor pérdida en el número de ED en comparación con el grupo tratado con carnosina, lo anterior podría estar relacionado con los resultados obtenidos en el grupo expuesto a V y tratado con carnosina y vitamina E, en el cual se sugiere que la pérdida de ED se debe al posible efecto prooxidante de la vitamina E y no necesariamente por la administración de carnosina.

Grupo tratado con carnosina y vitamina E

El grupo de ratones tratados con los dos antioxidantes de forma simultánea, no presentaron diferencias significativas en la densidad espinosa en comparación con el grupo control, lo cual indica que el número de ED no se ve afectado por la administración simultánea de carnosina y vitamina E.

VIII. CONCLUSIÓN

Con base a los resultados se puede concluir que la administración simultánea de vitamina E y carnosina no atenúa la pérdida de ED de las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo provocada por la inhalación de V_2O_5 , de hecho, es el grupo que presentó mayor pérdida de espinas, posiblemente por el efecto prooxidante de la vitamina E que probablemente potenció el estado de estrés oxidante iniciado por las ERO generadas por el V.

La relevancia de este estudio se relaciona con la importancia de evaluar el efecto neuroprotector de antioxidantes administrados de forma simultánea como la carnosina y vitamina E ante la exposición de V, el cual induce estrés oxidante, siendo este un factor de riesgo en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe H (2000) **Role of histidine-related compounds as intracellular proton buffering constituents in vertebrate muscle**. *Biochemistry* 65; 757–765.
- Abudu N, Miller JJ, Attaelmannan M, Levinson SS (2004) **Vitamins in human arteriosclerosis with emphasis on vitamin C and vitamin E**. *Clin Chim Acta* 339, 11-25.
- Ackermann, M. y A. Matus (2003) **Activity-induced targeting of profilin and stabilization of dendritic spine morphology**. *Nat. Neurosci.* 6; 1194–1200. doi:10.1038/nn1135
- Afeseh, H. N, Kanthasamy, A, Anantharam, V, Song, C, Witte, T, Houk, R. S, y Kanthasamy, A. G. (2009) **Vanadium induces dopaminergic neurotoxicity via protein kinase C-Delta dependent oxidative signaling mechanisms: Relevance to etiopathogenesis of Parkinson's disease**. *Toxicol Appl Pharmacol* 240; 273–285.
- Alessio L., Marinoni M. y Dell'Orto A (1988) **Biological monitoring of vanadium**. *En: Biological monitoring of toxic metals*. Plenum Press, Nueva York, pp. 427-436
- Angoa-Pérez Mariana y Rivas-Arancibia Selva (2007) **Estrés oxidativo y neurodegeneración: ¿causa o consecuencia?**. *Arch Neurocién (Mex)* Vol. 12, No.1; 45-54.
- Annaházi A, Mracsko E, Sule Z, Karg E, Penke B, Bari F, Farkas E, (2007) **Pre-treatment and post-treatment with α -tocopherol attenuates hippocampal neuronal damage in experimental cerebral hypoperfusion**. *European Journal of Pharmacology* 571; 120-128.
- Ávila-Costa M.R, Colín-Barenque L., Zepeda-Rodríguez A., Antuna Silvia B., Saldivar O. L., Espejel-Maya G., Mussali-Galante P., Ávila-Casado M.C., Reyes Olivera A., Anaya-Martínez V., Fortoul T.I (2005) **Ependymal epithelium disruptiun after vanadium pentoxide inhalation a mice experimental model**. *Neuroscience Letters* 381; 21-25.
- Ávila-Costa M.R., Fortoul T.I., Niño-Cabrera G., Colín-Barenque L., Bizarro-Nevarés P., Gutiérrez-Valdez A.L., Ordóñez-Librado J.L., Rodríguez Lara V., Mussali-Galante P., Díaz-Bech P., Anaya-Martínez V. (2006) **Hippocampal cell alterations induced by the inhalation of Vanadium pentoxide (V_2O_5) promote memory deterioration**. *Neurotoxicology* 27; 1007-1012.
- Ávila-Costa, M. R., E. Montiel, L. Colín-Barenque, J. L. Ordoñez, A. L. Gutiérrez, H. G. Niño Cabrera, P. Mussali-Galante y T. I. Fortoul (2004) **Nigrostriatal modifications after vanadium inhalation: an immunocytochemical and cytological approach**. *Neurochemical Research*, 29: 1365-1369.
- Ayako-Satoh, Hiroyuki N, Hiroshi, Manabu W, Kenichi T, Keiko Satoh, Kazuyo H, Hideo N, Yutaka H, Akira M, y Yoshimi T (1998) **Neurabin-**

II/Spinophilin.the journal of biological chemistry Vol. 273, No. 6, pp. 3470–3475.

- Aydin A.F.,Coban J.,Dogan-Ekici I.,Dogru-Abbasoglu S.,Uysal M.,Kocak-Toker N (2015) **Carnosine and vitamin E—a promising pair in the combat against testicular oxidative stress in aged rats**. *Andrologia* 47; 1131-1138.
- Aydin A.F.,Kucukgergin C., Ozdemirler-Erata G.,Kocak-Toker N., Uysa M (2010) **The effect of carnosine treatment on prooxidant–antioxidant balance in liver, heart and brain tissues of male aged rats**. *Biogerontology* 11; 103–109.
- Azzi A, D Boscoboinik, D Marilley, N K Ozer, B Stäuble y A Tasinato. (1995) **Vitamin E: a sensor and an information transducer of the cell oxidation state**. *Am J Clin Nutr.*62 (6); 1337S-1346S.
- Baguet A, Reyngoudt H, Pottier A, Everaert I, Callens S, Achten E, Derave W (2009) **Carnosine loading and washout in human skeletal muscles**. *J Appl Physiol* 106:837–842.
- Bains J.S. y Shaw C.A (1997) **Neurodegenerative disorders in humans: the role of glutathione in oxidative stress-mediated neuronal death**. *Brain Res. Rev.* 25; 335–358.
- Balazs Z, Panzenboeck U, Hammer A, Sovic A, Quehenberger O (2004) **Uptake and transport of high-density lipoprotein (HDL) and HDL-associated α -tocopherol by an in vitro blood-brain barrier model**. *J. Neurochem.* 89:939–950.
- Baran E.J (2000) **Oxovanadium(IV) and oxovanadium(V) complexes relevant to biological systems**. *J. Inorg. Biochem.* 80; 1-10.
- Barcelaux G.D (1999) **Vanadium**. *Clin Toxicol* 37; 265-278.
- Baroch E.F (1983) **Vanadium and vanadium alloys**. *Encyclopaedia of chemical technology*. Wiley, Nueva York, pp. 673-710.
- Bekhit A.E.D, G. H. Geesink, M. A. Ilian,J. D. Morton, J. R. Sedcole, R. Bickerstaffe (2004) **Pro-oxidant activities of carnosine, rutin and quercetin in a beef model system and their effects on the metmyoglobin-reducing activity**. *Eur Food Res Technol*, 218; 507–514.
- Benítez-Zequeira D.E (2006) **Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo**.*Rev Cubana Invest Biomed* 25; 2.
- Betül-Kalaz E,Betül E.,Develi S., Pervin V.,Abbasoğlu1 S.,Müjdat U (2012) **Effect of carnosine on prooxidant- antioxidant balance in several tissues of rats exposed to chronic cold plus immobilization strees**. *J Pharmacol Sci* 120; 98-104.
- Biffo S, Grillo M, Margolis FL (1990) **Cellular localization of carnosine-like and anserine-like immunoreactivities in rodent and avian central nervous system**. *Neuroscience* 35: 637–651
- Birben Esra, Umit Murat Sahiner, Casin Sackesen, Erzurum Serpil y Omer Kalayci (2012) **Oxidative Stress and Antioxidant Defense**. *WAO Journal* 5; 9–19.

- Bjørneboe A1, Bjørneboe GE, Drevon CA (1990) **Absorption, transport and distribution of vitamin E.** J Nutr.120(3); 233-242.
- Blanpied TA y Ehlers MD (2004) **Microanatomy of dendritic spines: emerging principles of synaptic pathology in psychiatric and neurological disease.** Biol Psychiatry 55 (12); 1121—1127.
- Boldyrev A (2001) **Carnosine as a modulator of endogenous Zn²⁺ effects.**Trends Pharmacol Sci 22: 112–113.
- Boldyrev A, Fedorova T, Stepanova M, Dobrotvorskaya I, Kozlova E, Boldanova N, Bagyeva G, Ivanova- Smolenskaya I, Illarionov S (2008) **Carnosine increases efficiency of DOPA therapy of Parkinson's disease: a pilot study.** Rejuvenation Res 1; 821–827.
- Boldyrev A., Aldini G., Derave W (2013) **Physiology and pathophysiology of carnosine.**Physiol Rev 93;1803-1845.
- Boldyrev AA, Stvolinsky SL, Tyulina OV, Koshelev VB, Hori N, Carpenter DO (1997) **Biochemical and physiological evidence that carnosine is an endogenous neuroprotector against free radicals.** Cell Mol Neurobiol 17(2); 259-271.
- Borel P, Pasquier B, Armand M, Tyssandier V, Grolier P, Alexandre-Gouabau M-C, André M, Senft M, Peyrot J, Jaussan V, Lairon D, Azais-Braesco V (2001) **Processing of vitamin A and E in the human gastrointestinal tract.** Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 280:G95–G103.
- Bourne, N. Jennifer y Harris, M. Kristen (2007) **Dendritic spines.** Encyclopedia of Life Sciences. 1-17.
- Bourre JM, Clement M (1991) **Kinetics of rat peripheral nerve, forebrain and cerebellum α -tocopherol depletion: comparison with different organs.** J. Nutr. 121; 1204–1207.
- Bowry VW, Mohr D, Cleary J, Stocker R (1995) **Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein.** J Biol Chem 270; 5756-5763.
- Budzen S y Rymaszewska J (2013) **The Biological Role of Carnosine and Its Possible Applications in Medicine.** Adv Clin Exp Med 22 ;739–744.
- Calderón-Garcidueñas L., Engle R., Mora A., Styner M., Gómez G., Zhu H., Jewells V., Torres R., Romero L., Monroy M., Bryant C., González L., Medina H., D'Angiulli A (2011) **Exposure to severe urban air pollution influences cognitive outcomes, brain volume and systemic inflammation in clinically healthy children.** Brain and Cognition 77; 345-355.
- Calderón-Garcidueñas L., Mora A., Ontiveros E., Gómez G., Barragán G., Broadway J., Chapman S., Valencia G., Jewells V., Maronpot R., Henríquez C., Pérez B., Torres R., Herit L., Brooks D., Osnaya N., Monroy M., González A., Reynoso R., Villarreal R., Solt A., Engle R (2008) **Air pollution, cognitive deficits and brain abnormalities: a pilot study with children and dogs.** Brain and Cognition 68; 117-127.
- Calderón-Garcidueñas, L., A. Serrano-Sierra, R. Torres-Jardón, H. Zhu, Y. Yuan, D. Smith, R. Delgado-Chávez, J. V. Cross, H. Medina-Cortina, M.

- Kavanaugh, T. R. Guilarte (2013) ***The impact of environmental metals in young urbanites' brains.*** Experimental and Toxicologic Pathology, 65: 503–511.
- Cantley L.C., Cantley L.G. y Josephson L (1978) ***Vanadate inhibits the red cell (Na⁺, K⁺) ATPase from the cytoplasmic side.*** Nature 272, 552-4.
 - Carson B.L., Ellis H.V. y McCann J.L. (1987) ***Toxicology and biological monitoring of metals in humans.*** Lewis Publishers, Nueva York, pp. 276-289.
 - Castañeda Patricia, Muñoz Maricio, García-Rojo Gonzalo , L. Ulloa José, A. Bravo Javier, Márquez Ruth, García-Pérez M. Alexandra, Arancibia Damaris, Araneda Karina, Rojas Paulina S., Mondaca-Ruff David, Díaz-Véliz Gabriela, Mora Sergio, Aliaga Esteban y L. Fiedler Jenny (2015) ***Association of N-Cadherin Levels and Downstream Effectors of Rho GTPases With Dendritic Spine Loss Induced by Chronic Stress in Rat Hippocampal Neurons.*** Journal of Neuroscience Research 93:1476–1491.
 - Catalá A (2006) ***An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay.*** The International Journal of Biochemistry y Cell Biology. Vol38(9), pp1482–1495.
 - Chang R. 1999. ***Química.*** Sexta edición. Ed. Mcgraw Hill. pp.993.
 - Chirino Y., Sánchez-Pérez Y., Osornio-Vargas A., Morales-Bárceñas R., Gutiérrez-Ruíz M., Segura-García Y., Rosas I., Pedraza-Chaverri J., García-Cuellar C (2010) ***PM₁₀ impairs the antioxidant defense system and exacerbates oxidative stress driven cell death.*** Toxicology Letters 193; 209-216.
 - Cingolani LA y Goda Y (2008) ***Actin in action: the interplay between the actin cytoskeleton and synaptic efficacy.*** Nat Rev Neurosci 9; 344—56.
 - Clément M, Dinh L, Bourre JM (1995) ***Uptake of dietary RRR-alpha- and RRR-gamma-tocopherol by nervous tissues, liver and muscle in vitamin-E-deficient rats.*** Biochim. Biophys. Acta 1256:175–180
 - Coban J., Bingül I., Kübra Y., Mızrak I., Semra D., Abbaso R., Öztezcan S., Uysal M (2013) ***Effects of carnosine plus vitamin E and betaine treatments on oxidative stress in some tissues of aged rats.*** Current Aging Science 6;199-205.
 - Colín-Barenque L., Martínez –Hernández M., Baiza-Gutman L., Avila-Costa M., Ordoñez-Librado J., Bizarro-Nevades P., Rodríguez-Lara V., Piñon-Zarate G., Rojas Lemus M., Musali-Galante P., Fortoul T.I (2008) ***Matrix metalloproteinases 2 and 9 in central nervous system and their modification after vanadium inhalation.*** Journal of Applied Toxicology 28; 718-723.
 - Colín-Barenque L., Pedraza-Chaverri-Pedraza J., Medina-Campos O., Jimenez-Martinez R., Bizarro-Nevares P., Gonzalez-Villalva A., Rojas-Lemus M., Fortoul T.I (2015) ***Functional and Morphological Olfactory Bulb Modifications in Mice after Vanadium Inhalation.*** Toxicologic Pathology 43; 282-291.

- Cooper Edward C., Lowenstein Daniel H (2002) **Hippocampus**. Encyclopedia of Life Sciences, 1-9.
- Corona C, Frazzini V, Silvestri E, Lattanzio R, La SR, Piantelli M, Canzoniero LM, Ciavardelli D, Rizzarelli E, Sensi SL (2011) **Effects of dietary supplementation of carnosine on mitochondrial dysfunction, amyloid pathology, and cognitive deficits in 3xTg-AD mice**. PLoS ONE 6(3): e17971. doi:10.1371/journal.pone.0017971.
- Coronado M, Vega H. Salvador Vega y León Rey Gutiérrez T. Marcela Vázquez F. Claudia Radilla V (2015) **Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana**. Rev. chil. nutr. vol.42 (2): 206-212.
- Crans D.C., Smee J.J., Gaidamauskas E. y Yang L (2004) **The chemistry and biochemistry of vanadium and biological activities exerted by vanadium compounds**. Chem. Rev. 104, 849-902.
- Cuesta S, Frances D y Garcia G. ROS (2011) **formation an antioxidant status in brain áreas of rats exposed to sodium metavanadate**. Neurotoxicology and Teratology 33; 297–302.
- Da Silva, J.S., Medina, M., Zuliani, C., Di Nardo, A., Witke, W., and Dotti, C.G (2003) **RhoA/ROCK regulation of neuritogenesis via profilin II-mediated control of actin stability**. J. Cell Biol. 162, 1267–1279.
- Dorado C., Regerio., Rivas (2003) **Estrés oxidativo y neurodegeneracion**. Rev Fac Med UNAM 46; 229- 235.
- EFSA. European Food Safety Authority (2004) **Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission Related to the Tolerable Upper Intake Level of Vanadium**. EFSA J. 33, 1-22.
- Elia LP, Yamamoto M, Zang K, Reichardt LF (2006) **p120 catenin regulates dendritic spine and synapse development through Rho-family GTPases and cadherins**. Neuron 51:43–56.
- Elinder C.G., Gerhardsson L. y Oberdoerster G. (1988) **Biological monitoring of toxic metals-overview**. En: **Biological monitoring of toxic metals**. Plenum Press, Nueva York, pp. 1-71.
- Englert N (2004) **Fine particles and human health a review of epidemiological studies**. Toxicology Letters 149; 235–242.
- Essam Eldin A.S, Ali Hassan A. Ali, Abdullah M. Aldahmash, Saeed M. Abou El Makarem, Tarek A. El Ghamrawy, Gamal M. Aboulhassan, Hisham Alkhalidi, Mohammed Mubarak (2013) **The Role of Vitamin E in Cerebral Hypoxia: An Ultrastructural Study**. Surgical Science (4)100-106.
- Etcheverry Susana B., Di Virgilio Ana L., Barrio Daniel A (2012) **Vanadium effects on bone metabolism: Vanadium; Biochemical and molecular biological approaches**. Springer, New York, pp.145-151.
- Ethell IM, Pasquale EB (2005) **Molecular mechanisms of dendritic spine development and remodeling**. Prog Neurobiol;75: 161—205.
- Febles-Fernández C., Soto-Febles C., Saldaña- Bernabeu., Garcia-Triana B (2002) **Funciones de la vitamina E actualización**. Rev Cubana Estomatol 40; 28-32.

- Feng, J., Z. Yan, A. Ferreira, K. Tomizawa, J. A. Liauw, M. Zhuo, P. B. Allen, C. C. Ouimet, and P. Greengard (2000) ***Spinophilin regulates the formation and function of dendritic spines***. Proc Natl Acad Sci U S A 97: 9287-9292.
- Fernández A (2008) ***Air Quality Management in Mexico***. J Toxicol Environ Health A 71; 56-62.
- Ferrer-Sánchez, I (2009) ***Caracterización de la función de Espinofilina y de su capacidad de actuar como supresor tumoral in vivo***. Tesis de doctorado. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, España.
- Fiala C.J, Spacek J,Harris M.K (2002) ***Dendritic spine pathology: cause or consequence of neurological disorders?***Brain Res.Rev.39,29-54.
- Fontana M, Pinnen F, Lucente G, Pecci L (2002) ***Prevention of peroxynitrite-dependent damage by carnosine and related sulphonamido pseudodipeptides***. Cell Mol Life Sci 59: 546–551.
- Fortoul T.I,Rodriguez-Lara V,González-Villalva A, Rojas-Lemus M, Cano Gutiérrez G,Ustarroz-Cano M,Colín-Barenque L,Bizarro-Nevarés P, García Pealez I.,Montaño L.F.,Jimenez-Martinez R.S.,Lopez-Valdez N., Ruiz-Guerrero M.L.,Meléndez-García N.A.,García-Ibarra F.A.,Martínez-Baez V, Zapata Alfaro D.,Muñiz-Rivera-Cambas A.,López-Zepeda L.S,Quezada-Maldonado E.M, Cervantes-Yépez S (2014) ***Inhalation of vanadium pentoxide and its toxic effects in a mouse model***. Inorganica Chimica Acta 420; 8–15.
- Fortoul T.I., Quan-Torres A., Sanchez I., Lopez I.E., Bizarro P., Mendoza M.L., Osorio L.S., Espejel-Maya G., Avila-Casado M. del C., Avila-Costa M.R., ColinBarenque L., Villanueva D.N. y Olaiz-Fernandez G (2002) ***Vanadium in ambient air: concentrations in lung tissue from autopsies of Mexico City residents in the 1960s and 1990s***. Arch. Environ. Health 57, 446-449.
- Fortoul, T. I., Rodriguez-Lara, V., Gonzalez-Villalva, A., Rojas-Lemus, M., Cano-Gutierrez, G., Ustarroz-Cano, M., Colin-Barenque, L., Montaño, L., García-Pealez, I., Bizarro-Nevarés, P., Lopez-Valdez, N., Falcon-Rodriguez, C. I., Jimenez-Martínez, R. S., Ruiz-Guerrero, M. L., Lopez-Zepeda, L. S., Morales-Rivero, A., and Muñiz-Rivera, A (2011) ***Vanadium inhalation in a mouse model for the understanding of air-suspended particle systemic repercussion***. J Biomed Biothech 1–11.
- French R.J. y Jones J.H (1993) ***Role of vanadium in nutrition: metabolism, essentiality and dietary considerations***. Lif. Sci. 52, 339-346.
- Futter, M., K. Uematsu, S. A. Bullock, Y. Kim, H. C. Hemmings, Jr., A. Nishi, P. Greengard, and A. C. Nairn (2005) ***Phosphorylation of spinophilin by ERK and cyclin-dependent PK 5 (Cdk5)***. Proc Natl Acad Sci U S A 102; 3489-3494.
- García Graciela B., Quiroga Ariel D., Stürtz Nelson, Martínez Aleandra I., Biancardi María E (2004) ***Morphological alterations of Central Nervous***

- System (CNS) myelin in vanadium (V)- exposed adult rats.** Drug and Chemical Toxicology, vol. 27(3); 281-293.
- García-Rojo Gonzalo, Fresno Cristóbal, Vilches Natalia, Díaz-Véliz Gabriela, Mora Sergio, Aguayo Felipe, Pacheco Aníbal, Parra-Fiedler Nicolás, Parra Caludio S., Rojas Paulina S., Tejos Macarena, Aliaga Esteban, L. Fiedler Jenny (2017) ***The ROCK Inhibitor Fasudil Prevents Chronic Restraint Stress-Induced Depressive-Like Behaviors and Dendritic Spine Loss in Rat Hippocampus.*** International Journal of Neuropsychopharmacology 00(00):1–10.
 - Gardner MLG, Illingworth KM, Kelleher J, Wood D (1991) ***Intestinal absorption of the intact peptide carnosine in man, and comparison with intestinal permeability to lactulose.*** J Physiol (London) 439:411–422.
 - Gilgun-Sherki Y, E. Melamed, D. Offen (2001) ***Oxidative stress induced neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate in the blood brain barrier.*** Neuropharmacology 40; 959–975.
 - Giris M., Dođru-Abbasođlu S., Kumral A., Olgaç V., Koçak-Toker N., Uysal M (2014) ***Effect of carnosine alone or combined with α -tocopherol on hepatic steatosis and oxidative stress in fructose-induced insulin-resistant rats.*** J Physiol Biochem 70; 385-395.
 - Goldschmidt-Clermont PJ1, Machesky LM, Baldassare JJ, Pollard TD (1990) ***The actin-binding protein profilin binds to PIP2 and inhibits its hydrolysis by phospholipase C.*** Science. Vol 247; 1575-1578.
 - Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Romagnoli M, Arduini A, Borrás C, Pallardo FV, Sastre J, Viña J (2008) ***Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance.*** Am J Clin Nutr 87, 142-149.
 - Gómez-Gómez M y Danglot-Banck (1998) ***Contaminación ambiental en el Valle de México ¿Estamos haciendo lo necesario?*** Rev Mex Pediatr 65; 254-260.
 - Gomperts, B.D., Kramer, I.M., y Tatham, P.E.R (2009) ***Signal Transduction***, 2nd Ed, Elsevier, Oxford, UK. 2.
 - Goti D, Hammer A, Galla HJ, Malle E, Sattler W (2000) ***Uptake of lipoprotein-associated α -tocopherol by primary porcine brain capillary endothelial cells.*** J. Neurochem. 74:1374–1383.
 - Govek Eve-Ellen, Newey S, y van-aelst I (2005) ***The role of the rho gtpases in neuronal development.*** Genes y development 19:1–49.
 - Guiotto A, Calderan A, Ruzza P, Borin G (2005) ***Carnosine and carnosine-related antioxidants: a review.*** Curr Med Chem 12; 2293–2315.
 - Gutiérrez-Castillo M.E., Roubicek D.A., Cebrián-García M.E., De Vizcaya-Ruiz A., Sordo-Cedeño M. y Ostrosky-Wegman P (2006) ***Effect of chemical composition on the induction DNA damage by airborne particulate matter.*** Environ. Mol. Mutagen. 47, 199-211.

- Haafte RI, Haenen GR, van Bladeren PJ, Bogaards JJ, Evelo CT, Bast A (2003) ***Inhibition of various glutathione S-transferase isoenzymes by RRR-alpha-tocopherol***. Toxicol In Vitro;17: 245-51.
- Hacquebard M, Carpentier YA (2005) ***Vitamin E: absorption, plasma transport and cell uptake***. Curr Opin Nutr Metab Care 8:133–138.
- Ha-Kim Geon, Jieun E. Kim, Sandy Jeong Rhie y Sujung Yoon (2015) ***The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases***. Exp Neurobiol.24 (4); 1-16.
- Halliwell B, Gutteridge JMC.(1999) ***Free Radicals in Biology and Medicine***. Oxford Science Publication 3rd ed.
- Harris K.M, Stevens J.K (1988) ***Dendritic spines of rat cerebellar Purkinje cells: serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics***. J. Neurosci. 8; 4455–4469.
- Harris K.M., Jensen F.E. , B. Tsao, (1992) ***Three-dimensional structure of dendritic spines and synapses in rat hippocampus (CA1) at postnatal day 15 and adult ages: implications for the maturation of synaptic physiology and long-term potentiation***, J. Neurosci. (12); 2685–2705.
- Harris K.M., S.B. Kater (1994) ***Dendritic spines: cellular specializations imparting both stability and flexibility to synaptic function***, Annu.Rev. Neurosci. 17; 341–371.
- Hashimoto, R., Nakamura, Y., Kosako, H., Amano, M., Kaibuchi, K., Inagaki, M., and Takeda, M. (1999) ***Distribution of Rho-kinase in the bovine brain***. Biochem. Biophys. Res. Commun. 263, 575–579.
- Hectors T.L., Vanparys C., Van der Ven K., Martens G.A., Jorens P.G., Van Gaal L.F., Covaci A., De Coen W., Blust R (2011) ***Environmental pollutants and type 2 diabetes: a review of mechanisms that can disrupt beta cell function***. Diabetología 54 (6); 1273-1290.
- Hertelendi Z, Toth A, Borbely A, (2008) ***Oxidation of myofibrillar protein sulfhydryl groups reduces the contractile force and its Ca²⁺ sensitivity in human cardiomyocytes***. Antioxidants and Redox Signaling 10: 1175–1184.
- Hipkiss AR (2009) ***Carnosine and its possible roles in nutrition and health***. Adv Food Nutr Res; 57; 87–154.
- Hirao T. (2000) ***Redox reactions via vanadium-induced electron transfer***. J. Inorg. Biochem. 80, 27-33.
- Hosomi A, Goto K, Kondo H, Iwatsubo T, Yokota T (1998) ***Localization of alpha-tocopherol transfer protein in rat brain***. Neurosci. Lett. 256:159–162
- Hsieh-Wilson, L. C., F. Benfenati, G. L. Snyder, P. B. Allen, A. C. Nairn, and P. Greengard (2003) ***Phosphorylation of spinophilin modulates its interaction with actin filaments***. J Biol Chem 278:1186-1194.
- Huang HY, Appel LJ (2003) ***Supplementation of diets with alpha-tocopherol reduces serum concentrations of gamma- and delta-tocopherol in humans***. J Nutr. (133): 3137-3140.

- Ingold KU, Burton GW, Foster DO, Hughes L, Lindsay DA, Webb A (1987) ***Biokinetics of and discrimination between dietary RRR- and SRR- α -tocopherols in the male rat.*** Lipids 22; 163–172.
- IPCS. International Programme on Chemical Safety (1988) ***Vanadium.*** Environmental Health Criteria, World Health Organisation, Ginebra, No. 81.
- IPCS. International Programme on Chemical Safety (2001) ***Vanadium pentoxide and other inorganic vanadium compounds.*** World Health Organisation, Ginebra, No. 29.
- Jack CR, Petersen RC, Xu YC, Waring SC, O'Brien PC, Tangalos EG. (1997) ***Medial temporal atrophy on MRI in normal aging and very mild Alzheimer's disease.*** Neurology 49:786-794.
- Jiang Q (2014) ***Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant and antiinflammatory activities and the role in disease prevention and therapy.*** Free Radic Biol Med 72; 76-90.
- Jiménez Martínez Rubén Salvador (2009). ***Daño oxidante en corteza cerebral y plexo coroideo de ratones expuestos a pentóxido de vanadio por vía inhalada.*** Tesis para obtener el título de Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Kasai, H., M. Fukuda, S. Watanabe, A. Hayashi•Takagi, and J. Noguchi. (2010) ***Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition.*** Trends Neurosci. 33:121–129.
- Koch C, Zador A, Brown TH. (1992) ***Dendritic spines: Convergence of theory and experiment.*** Science; 256: 973—984.
- Kohen R, Yamamoto Y, Cundy KC, Ames BN. (1988) ***Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain.*** Proc Natl Acad Sci USA 85: 3175–3179.
- Korbecki J., Baranowska-Bosiacka I., Gutowska I., Chlubek D (2012) ***Biochemical and medical importance of vanadium compounds.*** Acta Biochimica Polonica 59;1-6.
- Korobova F, Svitkina T (2010) ***Molecular architecture of synaptic actin cytoskeleton in hippocampal neurons reveals a mechanism of dendritic spine morphogenesis.*** Mol Biol Cell.;21: 165-176.
- Kozan R, Sefil F, Bağirici F (2008) ***Anticonvulsant effect of carnosine on penicillin-induced epileptiform activity in rats.*** Brain Res;6, 1239, 249–255.
- Kumral A, Giris M, Soluk-Tekkesin M, Olgac S., Drogru-Abbasasoglu, Turkoglu U, Uysal M (2015) ***Beneficial effects of carnosine and carnosine plus vitamin E treatments on doxorubicin-induced oxidative stress and cardiac, hepatic, and renal toxicity in rats.*** Human and Experimental Toxicology; 1-9.
- Lagerkvist G., Nordberg G.F. y Vouk V (1986) ***Vanadium. En: Handbook on the toxicology of metals.*** Elsevier Science Publishing, Amsterdam, Vol. II, pp. 638-663.
- LenneyJF (1990) ***Separation and characterization of two carnosine-splitting cytosolic dipeptidases from hog kidney carnosinase and non-specific dipeptidase.*** Biol Chem Hoppe Seyler 371: 433–440.

- Li-Jie, Wuliji O, Wei Li, Zhi-Gang Jiang y Hossein A.Ghanbari (2013) ***Oxidative stress and neurodegenerative Disorders***. Int. J. Mol. Sci 14; 24438-24475.
- Lloret A, Baldía M.C, J. Moraa, V. Pallardo, Maria-Dolores Alonso y Viña J. (2009) ***Vitamin E Paradox in Alzheimer's Disease: It Does Not Prevent Loss of Cognition and May Even Be Detrimental***. Journal of Alzheimer's Disease 17;143–149
- Luo L (2000) ***Rho GTPases in neuronal morphogenesis***. Nat Rev Neurosci 1:173–180.
- Macías-Silva.,Vazquez-Victorio.,Ríos-López (2016) ***El citoesqueleto de actina: una estructura dinámica al servicio de la transducción de señales***. Mensaje Bioquímico, Vol. XL, 67-86.
- Mardones P, Strobel P, Miranda S, Leighton F, Quinones V (2002) ***α-Tocopherol metabolism is abnormal in scavenger receptor class B type I (SR-BI)-deficient mice***. J. Nutr. 132:443–49.
- Mazzarello P (1999) ***Camillo Golgi's scientific biography***. J Hist Neurosci Vol.8: 121-131.
- McDowell-Russell Lee (2000) ***Vitamins in Animal and Human Nutrition***. 2ed, 155-217. Iowa State University Press, Ames.809pp United States of America.
- Megías Manuel, Pilar Molist, Manuel A. Pombal (2015) ***Atlas de histología vegetal y animal***. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultadde Biología. Universidadde Vigo.pp.4-15.
- Meng, Y., Y. Zhang, V. Tregoubov, C. Janus, L. Cruz, M. Jackson, W.Y. Lu, J.F. MacDonald, J.Y. Wang, D.L. Falls y Z. Jia (2002) ***Abnormal spine morphology and enhanced LTP in LIMK•1 knockout mice***. Neuron. 35:121–133. doi:10.1016/S0896•6273(02)00758•4.
- Michaluk, P., M. Wawrzyniak, P. Alot, M. Szczot, P. Wyrembek, K. Mercik, N. Medvedev, E. Wilczek, M. De Roo, W. Zuschratter, D. Muller, G. M. Wilczynsk, J. W. Mozrzymas, M. G. Stewart, L. Kaczmarek y J. Wlodarczyk (2011) ***Influence of matrix metalloproteinase MMP-9 on dendritic spine morphology***. Journal of Cell Science, 124: 3369-3380.
- Migliore L.,Bocciardi R.,Macri C.,Lo Jacono F (1993) ***Cytogenetic damage induce in human lymphocytes by four vanadium compounds and micronucleus analysis by fluorescence in situ hybridization with a centromeric probe***. Mutation 319; 205-213.
- Miller III R,Pastor-Barriuso,Darshan Dalal,Rudolph A. Riemersma, Lawrence J. Appel y Eliseo Guallar (2005) ***Meta-Analysis: High-Dosage Vitamin E Supplementation May Increase All-Cause Mortalit***. Ann Intern Med.142:37-46.
- Mukerjee,B,Halder, S,Gosh, M.K y Manasadeepa,R (2013) ***Vanadium Ions and Proteins, Distribution, Metabolism, and Biological Significance***. Encyclopedia of metalloproteins. Springer Editions, E.U.A. Pp. 2306-2316.
- Mukherjee B., Patra B., Mahapatra S., Banerjee P., Tiwari A. y Chatterjee M. (2004) ***Vanadium-an element of atypical biological significance***. Toxicol. Lett. 21, 135-143.

- Mussali-Galante P, Rodriguez-Lara V, Hernandez-Tellez B (2005) **Inhaled vanadium pentoxide decrease gamma-tubulin of mouse testes at different exposure times.** Toxicology and Industrial Health 21: 215–222
- Nakayama AY, Harms MB, Luo L (2000) **Small GTPases Rac and Rho in the maintenance of dendritic spines and branches in hippocampal pyramidal neurons.** J Neurosci 20:5329–5338.
- Nakayama AY, Luo L (2000) **Intracellular signaling pathways that regulate dendritic spine morphogenesis.** Hippocampus 10:582–586.
- Olenik, C., Barth, H., Just, I., Aktories, K., and Meyer, D.K (1997) **Gene expression of the small GTP-binding proteins RhoA, RhoB, Rac1, and Cdc42 in adult rat brain.** Brain Res. Mol. Brain Res. 52, 263–269.
- Olivares-Hernández D.,Juarez-Aguilar E.,Garcia-Garcia F (2015) **El hipocampo: neurogenesis y aprendizaje.**Rev Med Uv 1;1-8.
- Omer Bostanci M,Orhan Bas,Faruk Bagirici (2010) **Alpha-Tocopherol Decreases Iron-Induced Hippocampal and Nigral Neuron Loss.** Cell Mol Neurobiol 30:389–394.
- OMS (1995) **Vanadio y algunas sales de vanadio, Vanadio; Salud y guía de seguridad** no. 42, 1-34.
- OMS. Organización Mundial de la Salud (2001) **Air quality guidelines for Europe.** Copenhagen, No. 91.
- Paniagua, R., M. Nistal, P. Sesma, M. Álvarez-Uría, B. Fraile, R. Anadón y F. Sáez (2007) **Citoesqueleto.** Biología Celular, MacGraw Hill, Madrid.
- Pannese E (1999) **The Golgi stain: invention, diffusion and impact on neurosciences.** J Hist Neurosci; 8: 132-140.
- Paxinos G y Franklin K (2001) **The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates.**2 ed. Academic Press,pp 350.
- Perete-Cortes (2016) **Estudio morfofuncional del efecto de la carnosina en corteza motora en un modelo murino por inhalación de vanadio** .Tesis para obtener el título de Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Petersen R.C,Ronald G. Thomas, Michael Grundman, David Bennett, Rachelle Doody,Steven Ferris, Douglas Galasko,Shelia Jin, Jeffrey Kaye, Allan Levey, Eric Pfeiffer,Mary Sano,Christopher H. van Dyck y Leon J (2005) **Vitamin E and Donepezil for the Treatment of Mild Cognitive Impairment.** N Engl J Med; 352: 2379-88.
- PfriegerFW (2003) **Cholesterol homeostasis and function in neurons of the central nervous system.**Cell Mol. Life Sci. 60:1158–71.
- Podda M, Weber C, Traber MG, Packer L (1996) **Simultaneous determination of tissue tocopherols, tocotrienols, ubiquinolols, and ubiquinones.** J. Lipid Res. 37:893–901.
- Poljsak B. y Fink R (2014) **The protective role of antioxidants in the detence against ROS/RNS-Mediated environmental pollution.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity; 1-22.
- Pollard, T.D., L. Blanchoin, and R.D. Mullins (2000) **Molecular mechanisms controlling actin filament dynamics in nonmuscle cells.** Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 29:545–576.

- Ramírez-Rodríguez Gerardo, Benítez-King Gloria, Kempermann Gerd (2007) **Formación de neuronas nuevas en el hipocampo adulto: Neurogénesis**, Salud Mental, vol. 30(3): 12-19.
- Ramón y Cajal S.(1888) **Estructura de los centros nerviosos de las aves**. Rev Trim Hist Norm Pat;(1): 1-10.
- Rehder D. (1991). **The bioinorganic chemistry of vanadium**. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. (30): 148-167.
- Rehder D. (2003). **Biological and medicinal aspects of vanadium**. Inorg. Chem. Commun. (6): 604-617.
- Reséndiz-Avendaño S.A (2014) **Neuroprotección de la carnosina en la función y citología del bulbo olfatorio en un modelo murino expuesto a la inhalación de vanadio**. Diferencia por sexo. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias.UNAM,México.
- Rietjens M.C.M, Marelle G. Boersma, L. de Haan,Bert Spenkelink, Hanem M. Awad, Nicole H.P. Cnubben, Jelmer J. van Zanden ,Hester van der Woude, Gerrit M, Jan H. K. (2002) **The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. Environmental**.Toxicology and Pharmacology. (11): 321–333
- Rodríguez-Lara, V, A. Morales-Rivero, A. Muñoz y T. Fortoul (2013) **Vanadium inhalation induces actin changes in mice testicular cells**. Toxicology and Industrial Health, Vol. 32(2) 367–374.
- Rodríguez-Mercado,J. y Altamirano-Lozano, M.A. (2006) **Vanadio contaminación,metabolismo y genotoxicidad**. Revista Internacional de Contaminación Ambiental (22); 173-189.
- Sadikali F, Darwish R, Watson WC (1975) **Carnosinase activity of human gastrointestinal mucosa**. Gut (16): 585–589.
- Sale-Craig, Guilherme G. Artioli,Bruno Gualano,Bryan Saunders,Ruth M. Hobson,Roger C. Harris (2013) **Carnosine: from exercise performance to health**.Amino Acids (44); 1477-1491.
- Sano M, Ernesto C, Thomas RG, Klauber MR, Schafer K, Grundman M, Woodbury P, Growdon J, Cotman CW, Pfeiffer E, Schneider LS, Thal LJ. A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol, or both as treatment for Alzheimer's disease (1997) **The Alzheimer's Disease Cooperative Study**. N Engl J Med;336 (17):1216-1222.
- Sarrouilhe, D., A. di Tommaso, T. Metaye, and V. Ladeveze (2006) **Spinophilin: from partners to functions**. Biochimie 88:1099-1113.
- Sayago A, M. I. Marín, R. Aparicio, M. T (2007) **Vitamin E and vegetable oils**. Grasas y Aceites, Vol 58 (1): 74-86.
- Schubert V, Dotti CG. (2007) **Transmitting on actin: synaptic control of dendritic architecture**. J Cell Sci.;120: 205-212.
- Segal M (1995) **Dendritic spines for neuroprotection: a hypothesis**, Trends Neurosci. 18; 468–471.
- Sekino Y, Kojima N, Shirao T. (2007) **Role of actin cytoskeleton in dendritic spine morphogenesis**. Neurochem Int ;51: 92—104.

- Shane r. Thomas y Roland Stocker (2000) ***Molecular action of vitamin e in lipoprotein oxidation: implications for atherosclerosis.*** Free Radical Biology y Medicine, Vol. 28, No. 12, pp. 1795–1805.
- Sharma R.P., Flora J.S., Drown D.B. y Oberg S.G. (1987) ***Persistence of vanadium compounds in lungs after intracheal instillation in rats.*** Toxicol. Ind. Health 3, 321-329.
- Shu C, Shen H, Teuscher NS, Lorenzi PJ, Keep RF, Smith DE (2002) ***Role of PEPT2 in peptide/mimetic trafficking at the blood cerebrospinal fluid barrier: studies in rat choroid plexus epithelial cells in primary culture.*** J Pharm Exp Ther 301:820–829.
- Sierra-Vargas M.P, Guzmán grenfell A.M., Olivares Corichi I.M., Torres Ramos Y.D., Hicks Gómez J.J., (2004) ***Participación de las especies reactivas del oxígeno en las enfermedades pulmonares.*** Rev Inst Nal Enf Resp. Mex; Vol. 17(2):135-145.
- Soares, S.S; Martins, H.; Duarte, R.O; Moura, J.J.G.; Coucelo, J.; Gutiérrez, Merino C.; Aureliano M. (2007). ***Vanadium distribution, lipid peroxidation and oxidative stress markers upon decavanadate in vivo administration.*** Journal of Inorganic Biochemistry, 101: 80–88.
- Soria- Fregozo C. y Pérez-Vega M.I (2012). ***Participación de las proteínas de unión a la actina y vías de señalización asociadas a la formación y mantenimiento de las espinas dendríticas.*** Neurología, 27: 421—431.
- Sorra KE, Harris KM.(2000) ***Overview on the structure, composition, function, development, and plasticity of hippocampal dendritic spines.*** Hippocampus;10: 501—511.
- Squire LR y Zola-Morgan S (1996). ***Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems.*** Proc Natl Acad Sci USA 93:13515–13522.
- Stanfield BB y Cowan WM (1988) ***The Development of the Hippocampal Región.*** En Cerebral Cortex. Vol. 7: Development and Maturation of Cerebral Cortex. Ed. Peters y Jones. Págs. 91-131.
- Stokinger H.E (1981) ***The metals. En: Patty´s industrial hygiene and toxicology*** (G.D. Clayton y F.E. Clayton, Eds.) 3ª ed., Wiley, Nueva York, Vol. II A, pp. 1493-1583.
- Sweatt JD (2004). ***Hippocampal function in cognition.*** Psychopharmacology 174: 99-110.
- Tada T, Sheng M (2006) ***Molecular mechanisms of dendritic spine morphogenesis.*** Curr Opin Neurobiol; 16; 95—101.
- Tan S., Wood M., Maher P (1998) ***Oxidative stress induces a form of programmed cell death with characteristics of both apoptosis and necrosis in neuronal cells.*** Journal of Neurochemistry 71; 95-105.
- Tashiro A, Yuste R (2004) ***Regulation of dendritic spine motility and stability by Rac1 and Rho kinase: evidence for two forms of spine motility.*** Mol Cell Neurosci 26:429–440.
- Tashiro, A., Minden, A., and Yuste, R. (2000) ***Regulation of dendritic spine morphology by the rho family of small GTPases: antagonistic roles of Rac and Rho.*** Cereb. Cortex 10; 927–938.

- Teufe I M, Saudek V, Ledig JP, Bernhardt A, Boularand S, Carreau A, Cairns NJ, Carter C, Cowley DJ, Duverger D, Ganzhorn AJ, Guenet C, Heintzelmann B, Laucher V, Sauvage C, Smirnova T (2003) **Sequence identification and characterization of human carnosinase and a closely related non-specific dipeptidase.** J Biol Chem 278: 6521–6531
- Torres-Fernández O (2006) **La técnica de impregnación argéntica de Golgi. Conmemoración del centenario del premio nobel de Medicina (1906) compartido por Camillo Golgi y Santiago Ramón y Cajal.** Biomedica; 26: 498-508.
- Trombley PQ, Horning MS, Blakemore LJ (1998) **Carnosine modulates zinc and copper effects on amino acid receptors and synaptic transmission.** Neuroreport 9; 3503–3507.
- Ulatowski Lynn y Manor Danny (2013) **Vitamin E Trafficking in Neurologic Health and Disease.** Rev. Nutr. 33; 87–103.
- Valencia-Moulton P y Yang W (2012) **Air pollution, oxidative stress, and Alzheimers disease.** Journal of Environmental and Public Health; 1-9.
- Valencia-Segura R, Colín-Barenque L, Reséndiz-Avedaño S, Bizarro-Nevarez P, González-Villalva A. y Fortoul Teresa I. (2013) **Efecto de la carnosina en CA1 de hipocampo de ratones expuestos a inhalación de pentóxido de vanadio. diferencias por sexo.** Congreso Histopatología.
- Valko M., Morris H., Cronin M (2005) **Metals, toxicity and oxidative stress.** Current Medicinal Chemistry 12; 1161-1208.
- Vallejo M., Jauregui-Renaud K., Hermosilo A.G., Marquez M., Cárdenas M (2003) **Efectos de la contaminación atmosférica en la salud y su importancia en la ciudad de Mexico.** Gaceta Médica de Mexico. 139; 1-8.
- Vance JE, Hayashi H (2010) **Formation and function of apolipoprotein E-containing lipoproteins in the nervous system.** Biochim. Biophys. Acta 1801: 806–818.
- Vatassery GT, Angerhofer CK, Knox CA (1984) **Effect of age on vitamin E concentrations in various regions of the brain and a few selected peripheral tissues of the rat, and on the uptake of radioactive vitamin E by various regions of rat brain.** J. Neurochem. 43:409–12.
- Vatassery GT, Lam C, Smith WE, Quach HT (2006) **Apolipoprotein E exerts selective and differential control over vitamin E concentrations in different areas of mammalian brain.** J. Neurosci. Res. 84:1335–1342.
- Vatassery GT, Quach HT, Smith WE, Santacruz KS, Roy S (2007) **Apolipoprotein E deficiency leads to altered brain uptake of α -tocopherol injected into lateral cerebral ventricles.** Biochim. Biophys. Acta 1772:797–803.
- Viña J, Gómez-Cabrera MC, Borrás C (2007) **Fostering antioxidant defences: up-regulation of antioxidant genes or antioxidant supplementation?** Br J Nutr 98, S36-S40.
- Wang H, Fei YJ, Ganapathy V, Leibach FH (1998) **Electrophysiological characteristics of the proton-coupled peptide transporter PEPT2 cloned from rat brain.** Am J Physiol 275: 967–975.

- Wang X. y Michaelis E.K (2010) **Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain**. Front Aging Neurosci 30; 2-12.
- West MJ, Kawas CH, Stewart WF, Rudow GL and Troncoso JC (2004) **Hippocampal neurons in preclinical Alzheimer's disease**. Neurobiol Aging. 25; 1205–1212.
- Witke, W., Sutherland, J.D., Sharpe, A., Arai, M.y Kwiatkowski, D.J. (2001) **Profilin I is essential for cell survival and cell division in early mouse development**. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98, 3832–3836.
- Woodin M.A., Liu Y., Neuberg D., Hauser R., Smith T.J. y Christiani D.C. (2000). **Acute respiratory symptoms in workers exposed to vanadium-rich fuel-oil ash**. Am. J. Ind. Med. 37, 353-363.
- Yang X-G., Wang K., Lu J. y Crans D.C (2003) **Membrane transport of vanadium compounds and the interaction with the erythrocyte membrane**. Coordination Chem. Res. 237, 103-111.
- Yang X-G., Yang X-D., Yuan L., Wang K. y Crans D.C. (2004) **The permeability and cytotoxicity of insulinmimetic vanadium compounds**. Pharmaceutical Res. 21, 1026-1033.
- Yu C, Youmans KL, LaDu MJ (2010) **Proposed mechanism for lipoprotein remodelling in the brain**. Biochim. Biophys. Acta 1801:819–823.
- Yunsook L. y Maret G.Traber (2007) **Alpha-Tocopherol Transfer Protein (α -TTP): Insights from Alpha-Tocopherol Transfer Protein Knockout Mice**. Nutr Res Pract. Winter; 1(4): 247–253.

X. ANEXO

Soluciones empleadas en la Técnica rápida de Golgi

Material:

Solución A (Ósmico dicrómica)

- 300 mL de agua destilada
- 8 gramos de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$).
- 1 gramo de Tetraóxido de Osmio (OsO_4).

Solución B (Solución argéntica)

- Nitrato de Plata ($AgNO_3$) 0.75%
- Agua destilada