

# Envejecimiento: Cambios bioquímicos y funcionales del Sistema Nervioso Central

## Aging: Biochemistry and functional changes of the Central Nervous System

Rommy von Bernhardt M.

*An increased standard of living and environmental factors, such as advances in nutrition, medicine, and public health, are believed to underlie the increase in life expectancy in the developed nations during the 20<sup>th</sup> century. However it is discussed if it depends on the slowing of the aging processes. The nervous system is especially vulnerable to aging, both for the magnitude of the changes and because the impact on its function. Its vulnerability is manifested in neurodegenerative pathologies, but several changes can be also observed in many individuals during non-pathological aging. Many individuals experience age-associated cognitive impairment – a decline in cognitive status presenting as deficits in memory and capacities for adequate use of acquired information and mental skills. Animal studies suggest that both neurodegenerative diseases and age-associated cognitive impairment reflect vulnerability of certain neuronal populations. Here we discuss some of the neurobiological mechanisms that may be involved in the aging of the nervous system.*

**Key words:** aging; cell death, inflammation of the nervous system, neurodegeneration; oxidative damage, synaptic function.

*Rev Chil Neuro-Psiquiat 2005; 43(4): 297-304*

### Introducción

Los humanos, como también los animales, presentan alteraciones cognitivas al envejecer que, si bien no alcanzan a producir los problemas asociados a una demencia, dificultan el funcionamiento en muchas actividades. Existe la duda si los procesos degenerativos asociados a la edad pudiesen ser los mismos que se observan en

la patología neurodegenerativa, aunque ocurran en menor grado. Esta distinción no es fácil, pero evidencias obtenidas en estudios en animales sugieren que la alteración cognitiva del envejecimiento se debe a cambios funcionales y bioquímicos a nivel de ciertos circuitos neuronales sin que se produzca una muerte neuronal importante<sup>(1)</sup>.

Siendo la edad el factor de riesgo más importante para las enfermedades neurodegenerativas,

Recibido: agosto 2005

Aceptado: septiembre 2005

Departamento Neurología, Facultad Medicina Pontificia Universidad Católica de Chile.

Apoyo Financiero: Se agradece el apoyo del proyecto FONDECYT 1040831.

El autor no refiere posibles conflictos de intereses

una pregunta persistente es si en la medida que el ser humano viva más tiempo, eventualmente todos llegarán a tener una demencia. Estudios clínico patológicos muestran que el envejecimiento y la enfermedad de Alzheimer (EA) son procesos fisiopatológicos diferentes, de manera que no constituyen dos estadios dentro de la progresión de un cuadro patológico único, indicando que la EA no es inevitable con la edad<sup>(2,3)</sup>.

### ***Impacto de las patologías sistémicas en el envejecimiento del sistema nervioso***

Numerosos cambios sistémicos que ocurren durante el envejecimiento potencialmente tienen impacto en el sistema nervioso. Sólo para mencionar algunos, la diabetes mellitus (la hiperglicemia se asocia a glicación de proteínas que alteran su función, y a daño oxidativo), alteraciones endocrinas (cambios en el metabolismo celular, pérdida del efecto neurotrófico de varias hormonas), la hipertensión arterial (daño vascular y alteraciones de perfusión), etc. Es muy difícil descartar completamente la participación de estas alteraciones dada su alta prevalencia y la variabilidad de su presentación. Sin embargo, este trabajo se concentrará en cambios del sistema nervioso observados en ausencia de entidades patológicas definidas, sistémicas o del sistema nervioso, que podrían explicarlos.

### ***Cambios neuropatológicos de tipo degenerativos en el envejecimiento normal***

Características anatomopatológicas como las observadas en el cerebro de pacientes con EA, particularmente los ovillos neurofibrilares, pueden encontrarse, aunque en menor grado, en el cerebro de ancianos sin déficit cognitivo. En cambio, la observación de placas amiloideas en regiones de la neocorteza es mucho menos frecuente, y en general, aunque su prevalencia aumenta en individuos muy añosos, su densidad se mantiene baja. Por supuesto, persiste la duda si se trata de individuos que se encontraban en estadios muy tempranos de un proceso neurodegenerativo en evolución, lo cual no sorprende si consideramos

que el envejecimiento es el factor de riesgo más importante para la EA<sup>(4)</sup>.

El envejecimiento normal además se acompaña del aumento de astrocitos y microglías activadas, y de cambios neuronales. Se observa un aumento de los astrocitos que expresan GFAP (proteína fibrilar ácida glial, un marcador de activación) y S100B. El aumento de S100B podría indicar una respuesta de protección, dado que promueve la supervivencia neuronal y el crecimiento de neuritas. La presencia de microglía también se incrementa durante el envejecimiento, en especial microglías activadas, las que sobre-expresan Interleuquina 1 (IL-1) y tienen características de células fagocíticas<sup>(5)</sup>. Este incremento en la activación microglial se observa incluso en ausencia de otros cambios asociados al envejecimiento, sugiriendo que estos serían primarios y no reactivos a otras alteraciones. Los cambios en el estado de activación de la glía son especialmente relevantes dado que las glías son los principales efectores y moduladores de la respuesta inflamatoria en el sistema nervioso. En ese sentido, los cambios en la reactividad glial podrían ser en última instancia, los responsables de la potenciación en la respuesta inflamatoria y el estrés oxidativo que se observa en el sistema nervioso de individuos seniles.

### ***Activación microglial e inflamación en el envejecimiento***

La inflamación y su regulación por citoquinas han sido asociadas a diversos aspectos del envejecimiento del sistema nervioso. Se ha documentado ampliamente el impacto de los mecanismos de inflamación en enfermedades degenerativas del sistema nervioso. Sin embargo, no se puede confirmar que la inflamación efectivamente tenga un papel específico en el envejecimiento<sup>(6)</sup>. Para entender su participación, tanto en el envejecimiento normal como en el patológico, se debe considerar que las reacciones inflamatorias no son necesariamente equivalentes; la microglía, responsable de la respuesta inmune innata en el sistema nervioso, puede ser estimulada a producir cantidades importantes de óxido nítrico (un mediador

de inflamación de vida media corta clásico) sin hacerse citotóxica, o viceversa.

Se plantea que, durante el envejecimiento, se establecería un mecanismo de retroalimentación positivo, de manera que las células previamente enfrentadas a un estímulo, responderán de manera más robusta a un nuevo estímulo, potenciándose su efecto. Este aumento progresivo de la posibilidad de respuesta microglial, incrementa la probabilidad que se genere una respuesta inflamatoria. De hecho, con la edad, la microglía tiende a producir más citoquinas después de una injuria. La inyección de lipopolisacáridos (LPS, una endotoxina bacteriana), produce una elevación más dramática de Interleuquina-6 (IL-6) y Factor de Necrosis Tumoral (TNF) en animales de mayor edad.

La evidencia de cambios inflamatorios asociados a la edad es variable dependiendo si se evalúan los niveles de citoquinas sistémicas (plasma) o en el sistema nervioso mismo. De hecho, el primero puede no reflejar la situación del segundo; de manera que el aumento de la citoquina pro-inflamatoria IL-1 intratecal puede disminuir la inflamación periférica. Consistente con este desacoplamiento, el complejo de histocompatibilidad mayor (MHC) de tipo II, con la edad, disminuye en los macrófagos periféricos mientras aumenta en la microglía. Así, si bien se describe que citoquinas pro-inflamatorias, como IL-1, IL-6 y TNF $\alpha$ , y sus receptores, aumentan con la edad, la posibilidad de acceder a una respuesta definitiva se ve impedida por la dificultad de medir citoquinas en el parénquima cerebral de un individuo sano. Por lo anterior, mucho del conocimiento que tenemos hoy, depende de estudios en animales<sup>(7)</sup>. Citoquinas anti-inflamatorias como Interleuquina-10 (IL-10) y Factor de Crecimiento Transformante- $\beta$  (TGF $\beta$ ) también se elevarían en el envejecimiento. Sin embargo, para entender la asociación de inflamación y envejecimiento, es más importante la elevación de indicadores de inflamación río abajo, como los niveles de complemento C1q, lo que no podría observarse si el incremento de los factores anti-inflamatorios fuese suficiente como para mantener el balance.

El aumento de IL-6 plasmático en individuos añosos es uno de los hallazgos más consistentes, lo que tendría un valor predictivo para la aparición de alteraciones, incluyendo alteraciones cognitivas, en el futuro. Estudios animales también muestran un incremento de IL-6 en hipocampo y corteza cerebral asociado al envejecimiento, especialmente en las microglías<sup>(8)</sup>. La participación de IL-6 parece ser especialmente compleja, dado que en humanos, el polimorfismo genético asociado al aumento de IL-6 se asocia a una ventaja de supervivencia y la mayor concentración de IL-6 en el líquido cefalorraquídeo se asocia a un mejor resultado frente a daño cerebral traumático.

### ***Estrés oxidativo y envejecimiento***

El metabolismo energético intrínseco a la mantención del organismo, y factores ambientales (polución, tabaquismo), determinan la generación continua de radicales de oxígeno. Estos radicales producen daño oxidativo en lípidos, proteínas y ADN, y las moléculas dañadas se acumulan durante el envejecimiento<sup>(9,10)</sup>. El deterioro secundario al envejecimiento se observa más claramente en células post-mitóticas, las cuales, al ser dañadas, no pueden ser reemplazadas por células nuevas, como es el caso de la neurona<sup>(11)</sup>. Si bien no se ha podido demostrar con certeza cual es el papel de este daño en la senescencia, el estrés oxidativo sería uno de los mecanismos posiblemente involucrados en las enfermedades neurodegenerativas<sup>(12,13)</sup>.

El estrés oxidativo puede incrementarse en el envejecimiento<sup>(14)</sup> tanto por el aumento en la generación de radicales de oxígeno, como por la disminución de la capacidad de eliminar estos radicales (mecanismos anti-oxidantes). Aún hay discusión respecto a la aparente disminución de los mecanismos anti-oxidantes durante el envejecimiento. Sin embargo, las evidencias disponibles, con respecto a la vida máxima de los individuos, sugieren que los mecanismos de defensa contra oxidación no serían muy relevantes. Los niveles de enzimas anti-oxidantes y los anti-oxidantes de bajo peso molecular muestran una correlación

inversa con la longevidad máxima de los animales, lo que indica la actividad pro-oxidativa como tal es lo más relevante. Tampoco se ha encontrado que la suplementación con antioxidantes o el efecto contrario, la eliminación de mecanismos antioxidantes, modifique en forma significativa la sobrevivencia máxima de un animal. En cambio, estudios de la sobrevivencia promedio sugieren que en los animales tratados con terapia anti-oxidante, estos pueden ser protectores no específicos efectivos para diversas causas de mortalidad temprana. Estos efectos protectores pueden tener gran importancia para la población humana dado que por sus condiciones de vida, el hombre habita en un medio ambiente adverso, sometido por ejemplo a radiaciones y compuestos tóxicos, por lo que están expuestos a daño por estrés oxidativo de origen exógeno.

El sistema nervioso es especialmente susceptible a sufrir daño oxidativo debido a varios factores, entre los que se destacan su alto consumo de oxígeno, su dependencia en el metabolismo aeróbico de carbohidratos y su compleja composición de lípidos de membrana. Los radicales libres son generados en muchos sitios celulares, pero la cadena respiratoria mitocondrial es una de sus fuentes principales. Al respecto, los animales tendrían mecanismos reguladores activos durante el desarrollo que monitorizarían la actividad mitocondrial y, en respuesta, establecerían las tasas de respiración, comportamiento y envejecimiento que persisten durante la vida adulta<sup>(15)</sup>. Si bien muchos de estos estudios han sido realizados en animales (incluso invertebrados, como *c. elegans* en el manuscrito recién mencionado), los resultados son relevantes en cuanto nos sugieren que al menos algunas de las intervenciones dirigidas a disminuir los efectos del envejecimiento, tendrán que plantearse en etapas tempranas y no durante la vida adulta del individuo<sup>(16)</sup>.

Aunque los radicales afectan a diversas macromoléculas, incluyendo proteínas, lípidos y ADN, el daño al ADN parece ser especialmente importante para el envejecimiento (más aún para células post-mitóticas como las neuronas). Los radi-

cales generados en la mitocondria, dada su vida media extremadamente corta, dañan especialmente estructuras de la matriz mitocondrial, como el ADN mitocondrial (ADNmt), perturbando aún más la función mitocondrial. Las mutaciones en el ADNmt, tanto deleciones como mutaciones puntuales, se acumulan en el envejecimiento y se expanden clonalmente, con las consecuentes alteraciones para la función celular<sup>(17)</sup>. Las alteraciones pueden incluir la depresión de la respiración celular, el aumento de la formación de radicales y el aumento de la susceptibilidad a la apoptosis gatillada por el estrés oxidativo; además de la liberación de radicales al extracelular con el daño consiguiente a las células vecinas<sup>(18)</sup>. La alteración de la degradación lisosomal de mitocondrias que han sufrido daño oxidativo también contribuye al proceso de envejecimiento<sup>(19)</sup>.

Basada en los estudios que asocian el aumento del estrés oxidativo al envejecimiento, se ha potenciado una línea de investigación que propone que la disminución de la ingesta calórica se asocia a un incremento de la resistencia del sistema nervioso a sufrir los desórdenes neurodegenerativos del envejecimiento. El efecto neuroprotector dependería de la disminución en la generación de radicales de oxígeno y a un incremento en la producción de factores neurotróficos y chaperonas de proteínas<sup>(20)</sup>.

### ***Regulación del Calcio y expresión génica en el envejecimiento***

Trabajos desarrollados en las últimas 2 décadas sugieren que cambios discretos en la regulación del calcio podrían modular gradualmente el envejecimiento cerebral normal, y al mismo tiempo, aumentar su vulnerabilidad a enfermedades neurodegenerativas como la EA<sup>(21)</sup>. La señalización por calcio depende de la elevación transitoria de su concentración intracelular. Esta elevación gatilla, en forma selectiva, diferentes vías de señalización, dependiendo de la concentración del calcio y de sus características temporales y espaciales<sup>(22)</sup>. La regulación de la homeostasis del calcio en las células cerebrales se perdería

en forma temprana durante el envejecimiento, alterándose múltiples vías de señalización y afectando en forma adversa la fisiología celular y diversas funciones moleculares<sup>(23,24)</sup>.

En el cerebro de individuos envejecidos, se ha observado la existencia de un aumento de la post-despolarización dependiente de calcio, aparentemente secundaria al aumento de canales de calcio voltaje-dependiente tipo-L, lo que se asociaría en forma consistente a la alteración de la función neuronal y de los procesos cognitivos. Además, la célula produce elevaciones mayores del calcio en respuesta a un estímulo dado<sup>(23)</sup>. El retículo endoplásmico parece jugar un papel importante en la regulación del calcio, y de hecho, su capacidad de secuestrar calcio libre en las neuronas disminuye con la edad. Otro organelo subcelular importante para la regulación del calcio, es la mitocondria. Como ya se mencionó previamente, en el envejecimiento normal también existe una disminución generalizada de la capacidad funcional mitocondrial. Aunque el mecanismo exacto se desconoce, se observa una disminución en la actividad de varios de los complejos proteicos de la cadena transportadora de electrones<sup>(25)</sup>. Es relevante que muchos de los cambios en la homeostasis del calcio y en la función mitocondrial no afectan a la célula en condiciones de reposo, sino que se manifiestan sólo en condiciones de actividad, lo que probablemente es reflejo de sus condiciones limitantes en la regeneración energética.

Como resultado de las alteraciones en la homeostasis del calcio, y particularmente durante períodos de actividad neuronal intensa, el calcio se mantiene ya sea más elevado o por más tiempo, pudiendo activar de manera excesiva una variedad de respuestas tales como la excitabilidad de membrana, reorganización del citoesqueleto y extensión de procesos neurales, plasticidad sináptica, adhesión celular, inflamación, regulación del ciclo celular, crecimiento y muerte celular. En los últimos años, se ha visto que estas respuestas son mediadas, al menos parcialmente, a través de la regulación de la expresión génica por la cascada de señalización del calcio<sup>(22)</sup>.

Estos cambios en la expresión génica no son una respuesta tardía a la degeneración, sino que se asocian al inicio de las alteraciones cognitivas. Varios genes que regulan el metabolismo energético mitocondrial se encuentran disminuidos, correlacionándose positivamente con alteraciones del comportamiento.

### ***Función sináptica y envejecimiento***

Mencionamos que se ha observado en animales añosos la existencia de cambios funcionales y bioquímicos en circuitos neuronales, los que se asocian a cambios en la función sináptica<sup>(26)</sup>. Por ejemplo, se ha observado una disminución de la activación sináptica en rebanadas de hipocampo y en la corteza prefrontal.

En humanos también se plantea la existencia de una pérdida de sinapsis durante el envejecimiento, en ausencia de patología degenerativa; aunque siempre es difícil diferenciar la alteración leve estable del envejecimiento, de los estadios tempranos pero progresivos de una patología neurodegenerativa. Los circuitos neuronales involucrados con las actividades cognitivas (corteza entorrina e hipocampo) tienen poca redundancia; por ende es pensable que los mismos circuitos hipocámpales y neocorticales comprometidos en la EA, serían los vulnerables al compromiso sináptico que determina las alteraciones cognitivas asociadas a la edad. Estudios en rata y mono muestran que las funciones de memoria asociadas al lóbulo temporal medio declinan con la edad, aunque no se manifiestan en todos los individuos. Parece poco probable que el déficit se deba a pérdida celular, ya que ésta, cuando presente, es muy discreta y acotada. En cambio, hay evidencia de la existencia de cambios regresivos asociados a edad en las arborizaciones y espinas dendríticas en regiones corticales tanto en humanos como en primates no-humanos<sup>(27,28)</sup>. Se observan cambios morfológicos en las dendritas y una reducción de la densidad de espinas sinápticas en individuos mayores de 50 años cercana al 50%, comparado a individuos menores<sup>(28)</sup>. Dado que las espinas representan los sitios postsinápticos principales de las sinapsis excitatorias,

su reducción refleja la disminución de las densidades sinápticas. Estas alteraciones sinápticas además se asocian a la disminución de la expresión de receptores de glutamato del tipo AMPA y NMDA, entre otros cambios. Estos cambios sinápticos y dendríticos en oportunidades también son acompañados de la degeneración de axones mielínicos en las capas profundas de la corteza y en la sustancia blanca, lo que parece asociarse a déficit en pruebas visuales y de reconocimiento espacial en animales añosos. Estos cambios ultra estructurales mielínicos indican que los déficit cognitivos asociados a la edad no se deben a la pérdida de neuronas, sino que podrían evolucionar a partir de la disrupción de la conectividad cortical.

Además de los defectos cortico-corticales, la edad también afecta los sistemas colinérgicos y monoaminérgicos que proyectan desde la región frontal basal y mescencéfalo. Un dato importante es que los déficit en estos sistemas asociados a la edad, parecen responder favorablemente a la administración de hormonas y neurotrofinas<sup>(29,30)</sup>. Con respecto a los circuitos hipocampales, los mismos que son vulnerables a daño en la EA, son vulnerables a alteraciones sinápticas en el envejecimiento, por lo que es probable que haya déficit de memoria. Los cambios se observan en ausencia de pérdida neuronal en la corteza entorrina, sugiriendo la existencia de alteraciones dendríticas manifestadas fundamentalmente como cambios funcionales de las sinapsis sin mayores cambios morfológicos. Así, el substrato para el déficit funcional hipocampal sería fundamentalmente la alteración del perfil molecular de las sinapsis, en contraste a la pérdida de sinapsis; de tal modo que las alteraciones sinápticas relacionadas a la edad pueden manifestarse ya sea estructuralmente (disminución de sinapsis) o a través de cambios sinápticos moleculares, pero sin muerte neuronal<sup>(1)</sup>.

Otra área de interés es la interfase entre senescencia endocrina y el envejecimiento neural. Se sabía que la densidad de espinas dendríticas en el hipocampo era sensible a las fluctuaciones

de estrógeno en ratas jóvenes, y que el número de espinas y sinapsis se modificaban en respuesta a la depleción y reemplazo hormonal experimentales. Sin embargo, se observó que las sinapsis de ratas envejecidas reaccionan diferente al estrógeno. En ellas, la terapia de reemplazo no inducía cambios en el número, aunque sí en cuanto al perfil de receptores NMDA de las sinapsis. Estas diferencias asociadas a la edad, y que sugieren la existencia de una “ventana de oportunidad terapéutica”, podrían explicar el fracaso de la terapia de reemplazo como protección contra la EA y el deterioro cognitivo mínimo en el estudio “women’s health initiative memory study”<sup>(31)</sup>, dado que las mujeres incluidas eran menopáusicas de larga data y no perimenopáusicas. Ensayos en primates no-humanos mostraron que monos de edad equivalente a la de mujeres perimenopáusicas, eran tan sensibles al estrógeno como monos jóvenes, presentando un aumento en el número de sinapsis<sup>(32)</sup> y una mejoría en su función sináptica<sup>(33)</sup>. Estos resultados sugieren que estos circuitos neuronales vulnerables al envejecimiento responden a terapia sólo si ésta se administra sin mediar un período extenso de depleción.

### **Recapitulación**

El aumento de la expectativa de vida en los seres humanos ha revelado la aparición de déficit neurológicos y cambios degenerativos de lenta evolución con la edad. Estos cambios no corresponden a muerte neuronal sino a cambios degenerativos de tipo funcional. Así, se observan cambios asociados al envejecimiento que inciden en la regulación del calcio, el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria, los que a su vez modifican la reactividad de la glía y la función neural. Los límites entre envejecimiento normal y patológico no están claramente diferenciados y parecen estar influenciados por innumerables factores biológicos, involucrando influencias genéticas, pero también dependientes de factores ambientales como la dieta, drogas, historial de enfermedades e injurias.

## Resumen

*Se piensa que el aumento del estándar de vida y ciertos factores ambientales, tales como los avances en nutrición, medicina, y salud pública, subyacen al aumento en la expectativa de vida en las naciones desarrolladas durante el siglo 20. Sin embargo, se discute si esto se debe a un enlentecimiento de los procesos de envejecimiento. El sistema nervioso es especialmente vulnerable al envejecimiento, tanto por la magnitud de los cambios como por su impacto funcional. Su vulnerabilidad se manifiesta por la existencia de patologías neurodegenerativas, aunque numerosos cambios también pueden ser observados en muchos individuos durante el envejecimiento no-patológico. Muchos individuos experimentan alteraciones cognitivas asociadas a la edad – una declinación en el estatus cognitivo que se presenta como déficit de la memoria y la capacidad de usar en forma adecuada la información adquirida y las habilidades mentales. Estudios en animales sugieren que, tanto las enfermedades neurodegenerativas como las alteraciones cognitivas asociadas a la edad, son reflejo de la vulnerabilidad de ciertas poblaciones neuronales. En este trabajo se discutirá algunos de los mecanismos neurobiológicos que podrían estar envueltos en el envejecimiento del sistema nervioso.*

**Palabras claves:** Daño oxidativo, envejecimiento, función sináptica, inflamación del sistema nervioso, muerte celular, neurodegeneración.

## Referencias

- Morrison JH, Hof PR. Life and death of neurons in the aging brain. *Science*. 1997; 278: 412-419.
- Morris JC. Is Alzheimer's disease inevitable with age? Lessons from clinicopathologic studies of healthy aging and very mild Alzheimer's disease. *J Clin Invest*. 1999; 104: 1171- 1173.
- Perls T. Centenarians who avoid dementia. *Trends Neurosci*. 2004; 27: 633-636.
- Mrak RE, Griffin ST. Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration. *Neurobiol Aging*. 2005; 26: 349-354.
- Sheng JG, Mrak RE, Griffin WST. Enlarged and phagocytic, but not primed, IL-1a-immunoreactive microglia increase with age in normal human brain. *Acta Neuropathol*. 1998; 95: 229-234.
- Bodles AM, Barger SW. Cytokines and the aging brain – what we don't know might help us. *Trends Neurosci*. 2004; 27: 621-626.
- Terao A, Apte-Deshpande A, Dousman L, Morairty S, Eynon BP, Kilduff TS, *et al*. Immune response gene expression increases in the aging murine hippocampus. *J Neuroimmunol*. 2002; 132: 99-112.
- Yo SM, Johnson RW. Increased interleukin-6 expression by microglia from brain of aged mice. *J Neuroimmunol*. 1999; 93: 139-148.
- Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev*. 1998; 78: 547-581.
- Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction and aging. *Science* 1996; 273: 59-63
- Barja G. Free radicals and aging. *Trends Neurosci*. 2004; 27: 595-600.
- Hensley K, Hall N, Subramaniam R, Cole P, Harris M, Aksenova M, *et al*. Brain Regional correspondence between Alzheimer's disease histopathology and biomarkers of protein oxidation. *J Neurochem*. 1995; 65: 2146-2156.
- Lovell MA, Gabbita SP, Markesbery WR. Increased DNA oxidation, and decreased levels of repair products in Alzheimer's disease ventricular CSF. *J Neurochem*. 1999; 72: 771-776.
- Poon HF, Calabrese V, Scapagnini G, Butterfield DA. Free radicals : key to brain aging and heme oxygenase as a cellular response to oxidative stress. *J Gerontol*. 2004; 59: 478-493.
- Dillin A, Hsu A-L, Arantes-Oliveira N, Lehrer-Graiwer J, Hsin H, Fraser AG, *et al*. Rates of

- behavior and aging specified by mitochondrial function during development. *Science*. 2002; 298: 2398-2401.
16. Melov S. Modeling mitochondrial function in aging neurons. *Trends Neurosci*. 2004; 27: 601-606.
  17. Nekhaeva E, Bodyak ND, Kravtsov Y, McGrath SB, Van Orsouw NJ, Pluzhnikov A, *et al*. Clonally expanded mtDNA mutations are abundant in individual cells of human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99: 5521-5526.
  18. de Grey AD. The reductive hot spot hypothesis of mammalian aging: membrane metabolism magnifies mutant mitochondrial mischief. *Eur J Biochem*. 2002; 269: 2003-2009.
  19. Brunk UT, Terman A. The mitochondrial-lysosomal axis theory of aging: accumulation of damaged mitochondria as a result of imperfect autophagocytosis. *Eur J Biochem*. 2002; 269: 1996-2002.
  20. Prolla TA, Mattson MP. Molecular mechanisms of brain aging and neurodegenerative disorders: lessons from dietary restriction. *TINS*. 2001; 24: S21-S31.
  21. Toescu EC, Verkhatsky A, Landfield PW. Ca<sup>2+</sup> regulation and gene expression in normal brain aging. *Trends Neurosci*. 2004; 27: 614-620.
  22. Berridge MJ, Bootman MD, Roderick HL. Calcium signaling: dynamics, homeostasis and remodeling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003; 4: 517-529.
  23. Verkhatsky A, Toescu E. Calcium and neuronal ageing. *Trends Neurosci*. 1998; 21: 2-7.
  24. LaFerla FM. Calcium dyshomeostasis and intracellular signaling in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*. 2002; 3: 862-872.
  25. Lee H, Wei Y. Mitochondrial alterations, cellular response to oxidative stress and defective degradation of proteins in aging. *Biotechnology*. 2001; 2: 231-244.
  26. Hof PR, Morrison JH. The aging brain: morpho-molecular senescence of cortical circuits. *Trends in Neurosci*. 2004 ; 27: 607-613.
  27. Duan H, Wearne SL, Rocher AB, Macedo A, Morrison JH, Hof PR. Age related morphologic alterations in dendrites and spine densities of corticocortically projecting neurons in macaque monkeys. *Cereb Cortex*. 2003; 13: 950-961.
  28. Jacobs B, Driscoll L, Schall M. Life-span dendritic and spine changes in areas 10 and 18 of human cortex: a quantitative Golgi study. *J Comp Neurol*. 1997; 386: 661-680.
  29. Conner JM, Darracq MA, Roberts J, Tuszynski MH. Nontropic actions of neurotrophins : subcortical nerve growth factor gene delivery reverses age-related degeneration of primate cortical cholinergic innervation. *Proc Natl Acad Sci. USA* 2001; 98: 1941-1946.
  30. Kompoliti K, Chu Y, Polish A, Roberts J, McKay H, Mufson EJ, *et al*. Effects of estrogen replacement therapy on cholinergic innervation in young aged ovariectomized rhesus monkeys. *J Comp Neurol*. 2004 ; 472: 193-207.
  31. Shumaker SA, Legault C, Kuller L, Thal L, Lane DS, Fillit H, *et al*. Women's Health Initiative Memory Study. Conjugated equine estrogens and incidence of probable dementia and mild cognitive impairment in postmenopausal women – Women's Health Initiative Memory Study. *J Am Assoc*. 2004; 291: 2947-2958.
  32. Hao J, Janssen WG, Tang Y, Roberts JA, McKay H, Lasley B, *et al*. Estrogen increases the number of spinophilin-immunoreactive spines in the hippocampus of young and aged females rhesus monkeys. *J Comp Neurol*. 2003; 465 : 540-550.
  33. Rapp PR, Morrison JH, Roberts JA. Cyclic estrogen replacement improves cognitive function in aged ovariectomized rhesus monkeys. *J Neurosci*. 2003; 23: 5708-5714.

---

Correspondencia:

Rommy von Bernhardt M.  
 Depto. Neurología, Facultad de Medicina,  
 Pontificia Universidad Católica de Chile.  
 Lab. Neurociencias CIM, Marcoleta 391,  
 Santiago, Chile.  
 Fono: 354 6936 - Fax: 632 1924  
 E-mail: rvonb@med.puc.cl