



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

“EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE D-SERINA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS NEURONAS DE LA CORTEZA PREFRONTAL Y LA INTEGRIDAD MORFOLÓGICA DEL RIÑÓN EN RATAS ENVEJECIDAS”

**TESIS INDIVIDUAL**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA

FRIDA HIGINIO RODRÍGUEZ

DIRIGIDA POR

Dra. MÓNICA ANDREA LÓPEZ HIDALGO

Dr. RAFAEL OLIVARES MORENO

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2020.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE D-SERINA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS NEURONAS DE LA CORTEZA PREFRONTAL Y LA INTEGRIDAD MORFOLÓGICA DEL RIÑÓN EN RATAS ENVEJECIDAS”**

**TESIS INDIVIDUAL**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**PRESENTA**

**FRIDA HIGINIO RODRÍGUEZ**

**DIRIGIDA POR**

**Dra. MÓNICA ANDREA LÓPEZ HIDALGO**

**Dr. RAFAEL OLIVARES MORENO**

**SINODALES**

**Dra. MÓNICA ANDREA LÓPEZ HIDALGO** \_\_\_\_\_

**DIRECTOR**

**Dra. RAFAEL OLIVARES MORENO** \_\_\_\_\_

**CO DIRECTOR**

**Dra. LAURA CRISTINA BERUMEN SEGURA** \_\_\_\_\_

**SINODAL**

**Dra. ANGELINA RODRÍGUEZ TORRES** \_\_\_\_\_

**SINODAL**

## DEDICATORIA

Dedicada a los niños de mis ojos que en las dificultades hemos crecido juntos y que han sido la inspiración para llegar tan lejos, la motivación para seguir sumando logros a la lista y la fuerza para seguir. Ustedes lo son todo para mí, los amo con la vida.

A mi madre que se mantuvo con nosotros y que gracias a su esfuerzo y dedicación hemos llegado tan lejos y vamos a llegar todavía más.

*Para ellos que, aunque habrían merecido algo mejor, aun así, con todas sus imperfecciones, a ellos les pertenece (Sábado, 1968).*

En memoria del Dr. Ramiro Rodríguez Castillo y la Profa. Julia Castillo Lira, quienes fueron parte de mi formación personal y profesional y que, aunque se adelantaron, sé que estarían muy orgullosos. Ellos fueron el ejemplo a seguir desde que era una niña y ahora que soy adulta, han sido la motivación para lograr este sueño. Un abrazo hasta el cielo.

A la persona que me acompañó durante todo el camino y su familia, que se convirtió en la mía y que me apoyaron de todas las maneras en que les fue posible. Les estaré eternamente agradecida.

A todo aquel que dedicó una oración por mí, un mensaje, una llamada, un abrazo, un presente o cualquier acto de amor desinteresado durante la realización de esta tesis.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis directores, la Dra. Mónica Andrea López Hidalgo y el Dr. Rafael Olivares Moreno que me dieron su apoyo en todo sentido y momento que lo necesité.

A mis sinodales, la Dra. Laura Cristina Berumen Segura y la Dra. Angelina Rodríguez Torres por todas las observaciones y comentarios para mejorar el trabajo.

A las colaboraciones con la Dra. Nancy Hernández Chan de la Facultad de Medicina y la Dra. Paola Jazmín Aranda Vargas de la Facultad de Ciencias Naturales.

A la Dra. Elsa Nydia Hernández Ríos de la Unidad de Microscopía del Instituto de Neurobiología de la UNAM por el apoyo en la obtención de imágenes y en el uso de los equipos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) que a través de los proyectos A1-S-8686 de Ciencia Básica y CONACyT Problemas Nacionales 2016: 2132 financiaron el proyecto

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica que a través de los proyectos PAPIIT-DGAPA IN201518 y PAPIIT IA208120 se recibió apoyo de financiamiento.

A mi familia, por acompañarme en este viaje que, aunque no ha sido fácil, logramos completarlo.

A mis compañeras de laboratorio por compartir conmigo sus experiencias dentro y fuera.

A mis amigos cercanos, que son la familia que elegí y que estuvieron todos estos años aguantando conmigo.

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	
1. ANTECEDENTES	1
1.1 Envejecimiento	1
1.2 Envejecimiento y el sistema nervioso	3
1.3 Transmisión sináptica	4
1.4 Espinas dendríticas	6
1.5 Corteza prefrontal	9
1.6 Receptores NMDA	10
1.7 D-serina	11
2. HIPÓTESIS	16
3. OBJETIVOS	17
3.1 Objetivo general	17
3.2 Objetivos particulares	17
4. METODOLOGÍA	18
4.1 Materiales	18
4.2 Métodos	18
4.2.1 Histología	18
4.2.2 Análisis estadístico	20
5. RESULTADOS	21
5.1 Efecto de una dosis alta de D-serina sobre las ramificaciones dendríticas	21
5.2 Efecto de una dosis alta de D-serina sobre el número de espinas dendríticas	23
5.3 Efecto de una dosis alta de D-serina sobre la morfología del riñón.	24
5.4 Efecto de una dosis baja de D-serina sobre las ramificaciones y espinas dendríticas	26
5.5 Efecto de una dosis baja de D-serina sobre la morfología del riñón	28
6. DISCUSIÓN	30

6.1	Efecto D-serina sobre las ramificaciones dendríticas	30
6.2	Efecto D-serina sobre las espinas dendríticas	32
6.3	Efecto de la D-serina sobre la morfología del riñón	34
7.	CONCLUSIONES	38
8.	BIBLIOGRAFÍA	38

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Distribución de la población por sexo y grupos de edad en México en diferentes etapas	1
2. Esquema de la sinapsis tripartita	5
3. Diagrama de la estructura de una espina dendrítica	7
4. Clasificación de espinas dendríticas de acuerdo a su grado de maduración	8
5. Espinas dendríticas de neuronas corticales en primates no humanos jóvenes y viejos	10
6. Elementos claves para la activación del receptor de NMDA	11
7. Metabolismo de la D-serina	12
8. Histopatología del túbulo recto proximal de la rata	13
9. Efecto de la administración oral de D-serina sobre la flexibilidad cognitiva	15
10. Representación mediciones tomadas del túbulo recto proximal	19
11. Análisis de la morfología de neuronas de la corteza prefrontal a dosis altas de D-serina	22
12. Análisis de espinas dendríticas a dosis altas de D-serina	23
13. Análisis de la morfología del túbulo recto proximal a dosis altas de D-serina	25
14. Análisis de la morfología de neuronas de la corteza prefrontal a dosis bajas de D-serina	27
15. Análisis de espinas dendríticas a dosis bajas de D-serina	28
16. Análisis de la morfología del túbulo recto proximal a dosis bajas de D-serina	29
17. Diagrama de la activación de cascadas de señalización para la formación de nuevas espinas	34

## RESUMEN

Durante los últimos años, la población mundial ha estado envejeciendo a un ritmo cada vez más acelerado y se espera que para el año 2050 cerca de una cuarta parte tenga más de 60 años, por lo que, el envejecimiento de la población será uno de los grandes retos económicos y sociales. Una de las consecuencias del envejecimiento es la pérdida de las funciones cognitivas, la cual se ha asociado con una disminución en el funcionamiento del receptor NMDA. Este receptor requiere para su adecuado funcionamiento la presencia del aminoácido D-serina. La D-serina es un co-agonista endógeno para el sitio de unión de la glicina en el receptor NMDA el cual modula funciones cognitivas como la flexibilidad cognitiva, aprendizaje y memoria. El tratamiento con D-serina para evitar el deterioro cognitivo ha ofrecido una alternativa para mejorar el nivel de vida en la vejez. Sin embargo, se conoce poco de los efectos que podría tener el tratamiento crónico con D-serina sobre la morfología de los tejidos como el nervioso y renal. En el presente trabajo se analizó el efecto de la D-serina sobre las ramificaciones dendríticas neuronales y la densidad de espinas en las neuronas de la corteza prefrontal. Para esto, se administró D-serina de manera crónica a ratas envejecidas, en dosis de 30 y 300 mg/Kg. Posterior al tratamiento las ratas fueron sacrificadas por decapitación y se extrajeron tanto el riñón como el cerebro para su análisis histológico. Encontramos que a dosis altas de D-serina (300 mg/kg) no se modificó la morfología de las ramificaciones dendríticas, sin embargo, sí hubo un aumento en el número de espinas totales, en específico sobre las espinas delgadas y filopodias. En cuanto a la morfología del riñón se observó un aumento en la longitud de las células que conforman al túbulo, sin embargo, la longitud del túbulo en su totalidad disminuye al no haber espacio en el lumen de la célula, lo que nos sugiere que no causa nefrotoxicidad. A dosis bajas de D-serina (30 mg/kg) no se modificó de manera significativa la morfología de las ramificaciones dendríticas, sin embargo, sí hubo un aumento en el número de espinas totales. En cuanto a la morfología del riñón se observó un aumento en la longitud de las células que conforman al túbulo sin cambios significativos en los demás parámetros.



# 1. ANTECEDENTES

## 1.1 Envejecimiento

La población mundial está teniendo un ritmo de envejecimiento cada vez más acelerado durante los últimos años debido al incremento en la esperanza de vida (Wong y col., 2015). Tan solo en el año 2017, las personas mayores de 60 años representaban el 13% de la población (Figura 1), sin embargo, para el 2050 se espera que esta población ascienda a casi 2 billones, es decir, aproximadamente un cuarto de la población total (United Nations, 2017). En el caso de México, la esperanza de vida promedio es de 75.5 años, siendo para las mujeres de 73 años y para los hombres de 78 años respectivamente (INEGI, 2016). Sin embargo, la esperanza de vida saludable es de solo 65.8 años en promedio, que corresponde a una edad de 65.5 años para las mujeres y de 66.2 años para los hombres, lo que nos indica que las personas han empezado a vivir más pero no necesariamente en mejores condiciones (Manrique-Espinoza y col., 2013).

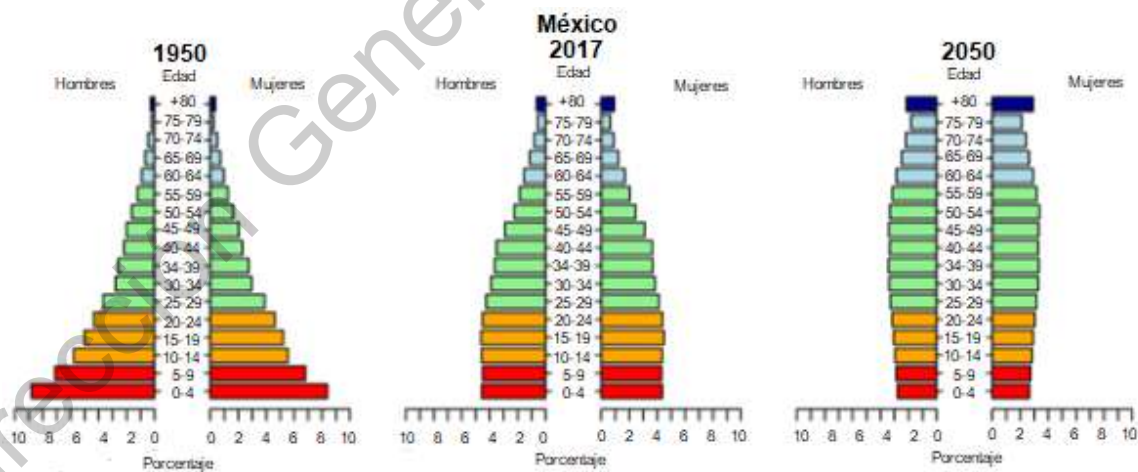


Figura 1. Distribución de la población por sexo y grupos de edad en México en diferentes etapas. Porcentaje de la población por sexo durante 1950 (izquierda), 2017 (centro) y la proyección para 2050 (derecha) (United Nations, 2017).

En los siguientes años, el envejecimiento de la población será uno de los grandes retos económicos y sociales, debido a los altos costos en salud pública que representa, (Bloom y col., 2015) ya que a medida que la población llega a esta edad, el porcentaje de morbilidad aguda, atención ambulatoria y hospitalización aumenta comparada con otros grupos (González-González y col., 2011). Tan solo en México, se estima que a medida que las personas llegan a los 60 años el costo promedio anual en atención médica aumenta conforme su estado de salud se va deteriorando, siendo de \$24, 260 MXN el de un adulto mayor sin problemas de salud, comparado con los \$51, 462 MXN de uno con enfermedades relacionadas con la edad (Salinas-Rodríguez y col., 2019). Aunado a lo anterior y considerando que cerca del 30-40% de la población en este rango de edad vive en pobreza y no tiene acceso a atención médica adecuada (Angel y col., 2016) el costo se eleva en este sector. Asimismo, las instituciones de salud no consideran un presupuesto para servicios preventivos ni cuentan con el personal suficiente para atender a este grupo vulnerable (Nikolich-Žugich y col., 2015).

En términos biológicos, el envejecimiento se define como el proceso de deterioro a través del tiempo de las funciones fisiológicas necesarias para la supervivencia (Gilbert, 2000). La pérdida de la homeostasis lleva a la acumulación de múltiples formas de daño y el desarrollo de patologías en diferentes tejidos que llevan a la enfermedad (Niccoli y Partridge, 2012). Este proceso normalmente se manifiesta con la pérdida gradual de las funciones de los sistemas sensoriales como la audición y la agudeza visual, así como una disminución en la fuerza física (Jaul y Barron, 2017). Al mismo tiempo, se observa una disminución en las habilidades cognitivas, lo que consiste en la disminución del rendimiento en tareas como la memoria de trabajo y las funciones ejecutivas (Mattson y Arumugam, 2018). Aunque el envejecimiento por sí mismo no se considera una enfermedad (Rattan, 2014), es un factor que predispone al desarrollo de algunas enfermedades crónicas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, osteoporosis, hipertensión, diabetes mellitus tipo II (Jaul y Barron, 2017) y neurodegenerativas como el Alzheimer (Foster y col., 2017).

Hasta hace algunos años, se trató de explicar el envejecimiento como el resultado de la afectación de un solo factor en particular, sin embargo, ahora es claro que el envejecimiento no se puede comprender como un proceso de manera aislada, sino que es producto de la interacción entre diferentes factores (Mc Auley y col., 2017). Es decir, el envejecimiento es un proceso complejo que depende de la disminución o el mal funcionamiento de un conjunto de mecanismos moleculares y celulares (Titorenko, 2018). A nivel molecular, se observa un incremento en las especies reactivas de oxígeno que, a su vez, provocan daño oxidativo (Davalli y col., 2016; Maynard y col., 2015). En el caso del DNA, se presenta además un acortamiento de los telómeros (Prasad y col., 2017) y cambios epigenéticos importantes a nivel de la cromatina (Kane y Sinclair, 2019). Esta desorganización afecta a nivel celular causando la pérdida de las funciones intrínsecas como la división celular, la comunicación y el transporte que lleva a un aumento en la susceptibilidad a la muerte celular (Navaratnarajah y Jackson, 2017) y finalmente se afecta la función del tejido que resulta en enfermedades relacionadas con la edad.

## 1.2 Envejecimiento y el sistema nervioso

Los cambios morfológicos y fisiológicos asociados a la edad ocurren en todos los órganos (da Costa y col., 2016). De manera particular, estos cambios en el cerebro se asocian a la pérdida de las funciones cognitivas. Anatómicamente, el cerebro se divide en sustancia gris, que incluye los cuerpos celulares, dendritas de la corteza cerebral y núcleos corticales; y la sustancia blanca, en donde se encuentran los axones mielinizados que conectan con las estructuras de la materia gris (Carroll, 2018). Durante el envejecimiento, se presentan cambios estructurales en el encéfalo como la disminución en su peso y volumen, además del aumento del tamaño ventricular (Viadero y col., 2017). Sin embargo, no todas las áreas cerebrales se afectan en la misma proporción (Pini y col., 2016), en la materia gris la disminución es más considerable en zonas como la corteza prefrontal y en el lóbulo temporal, en donde se encuentra el hipocampo (Harada y col., 2013). En el caso de la materia blanca se presenta una mayor disminución en comparación con la gris en áreas como

el lóbulo frontal y el cuerpo calloso (Liu y col., 2017). Anteriormente se había relacionado la disminución del volumen con la pérdida neuronal (Murman, 2015), sin embargo, se ha reportado que durante el envejecimiento se presenta una disminución no mayor al 10% en el número de neuronas en regiones específicas del sistema nervioso, respecto a adultos jóvenes (Pannese, 2011). Además, se reportan cambios en la morfología de las neuronas, como la contracción del soma, regresión de las dendritas, disminución de axones, desmielinización y pérdida de espinas (Dickstein y col., 2007; Murman, 2015; Rizzo y col., 2015). Además, se ha sugerido que el deterioro cognitivo está más asociado con alteraciones en la transmisión sináptica que con la pérdida neuronal (Petralia y col., 2014). En el caso del envejecimiento patológico, la alteración de la homeostasis fisiológica conduce a una pérdida significativa de sinapsis (Dorostkar y col., 2015).

### 1.3 Transmisión química

La transmisión sináptica es el medio por el cual las células nerviosas se comunican entre sí en el sistema nervioso, ocurre mediante la liberación de neurotransmisores desde las terminales presinápticas del axón a las postsinápticas en las terminaciones dendríticas (Caputo y Jaffe, 2005), lo que constituye la base de la plasticidad y aprendizaje en el sistema nervioso (Kennedy, 2013). Estudios recientes han mostrado que el envejecimiento produce cambios a nivel celular que afectan la transmisión sináptica reduciendo la respuesta postsináptica y produciendo una disminución de la excitabilidad neuronal que contribuyen a la aparición de déficits cognitivos (Kempsell y Fieber, 2015).

La sinapsis es la estructura responsable de la transmisión química y se define como la zona de contacto entre dos neuronas (Kandel y Siegelbaum, 2013) sin embargo se ha propuesto la participación de un tercer elemento: los astrocitos, que dio paso al concepto de sinapsis tripartita (Araque y col., 1999). Esta postula que hay una comunicación bidireccional entre neuronas y astrocitos (Figura 2), ya que tras la liberación de neurotransmisores hacia la hendidura sináptica, estos son detectados por diferentes receptores en la superficie de los astrocitos lo que lleva al aumento de

las concentraciones de calcio intracelular para generar respuestas como la liberación de sustancias activas (glutamato, ATP, D-serina) llamadas gliotransmisores que regulan la transmisión sináptica y la excitabilidad neuronal (Panatier y col., 2014).

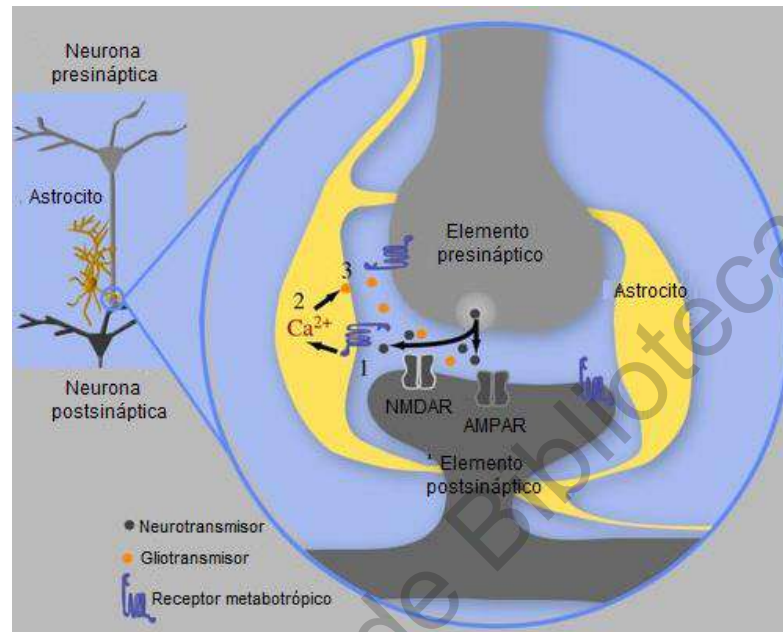


Figura 2. Esquema de la sinapsis tripartita. Sinapsis formada por las estructuras pre y postsinápticas en las neuronas (gris) y el elemento astrocítico (amarillo). Durante la transmisión sináptica, el glutamato liberado en la hendidura sináptica activa receptores postsinápticos (AMPA y NMDA), así como receptores metabotrópicos en astrocitos (1), lo que lleva a elevaciones intracelulares de  $Ca^{2+}$  (2). A su vez, el astrocito regula la eficacia de la transmisión a través de la liberación de gliotransmisores (3) (Panatier y col., 2014).

Las sinapsis pueden ser de dos tipos: excitatorias o inhibitorias, las primeras generan potenciales sinápticos excitatorios, mejor conocidos como potencial postsináptico excitatorio que despolarizan a la membrana de la célula postsináptica y aumentan la probabilidad de generar un potencial de acción; por otro lado, las inhibitorias producen potenciales postsinápticos hiperpolarizantes que producen el efecto contrario (Purves y col., 2001). Las sinapsis que se establecen en los somas de las neuronas a menudo son inhibitorias, mientras que la mayoría de las sinapsis excitatorias se llevan a cabo en pequeñas protuberancias dendríticas, llamadas espinas dendríticas (Boros y col., 2017).

#### 1.4 Espinas dendríticas

Las espinas dendríticas son estructuras especializadas de un tamaño que varía entre las 0.5-2  $\mu\text{m}$  y un volumen de las 0.01  $\mu\text{m}^3$  a 0.8  $\mu\text{m}^3$  (Wang y col., 2016). Cada espina está conformada por tres estructuras básicas: una base en la unión con el eje dendrítico, una región estrecha llamada cuello y una región bulbosa llamada cabeza (Hotulainen y Hoogenraad, 2010). En la cabeza de estas espinas se encuentra el sitio postsináptico que recibe el nombre de densidad postsináptica (DPS) y se refiere al conjunto de receptores, canales y proteínas de señalización. Esta espina establecerá contacto sináptico con el botón presináptico del axón más cercano (Figura 3) (Hering y Sheng, 2001).

Estructuralmente, las espinas están formadas por un citoesqueleto enriquecido en filamentos de actina (F-actina) a lo largo de la espina y microtúbulos en la base (Ju y Zhou, 2018). De la remodelación de estos filamentos, depende su formación, maduración y plasticidad, por lo que se dice son altamente dinámicas (Korobova y Svitkina, 2010). Debido a que la mayoría de las sinapsis tienen una sola DPS por espina, se cree que su función consiste en crear compartimentos para la respuesta postsináptica aislando la señalización química y eléctrica para restringir la difusión de las moléculas (Bosch y Hayashi, 2012), además de que juegan un papel importante en el aprendizaje y la memoria, al ser los sustratos celulares para el procesamiento de la información (Fortin y col., 2012).

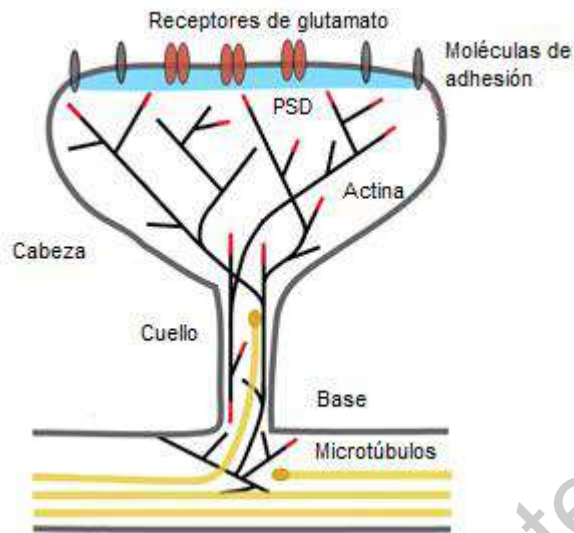


Figura 3. Diagrama de la estructura de una espina dendrítica. En la parte superior se muestra la membrana postsináptica que contiene la densidad postsináptica (PSD; azul), las moléculas de adhesión (gris) y los receptores de glutamato (marrón), la actina (líneas negras) y los microtúbulos (amarillo). Los extremos de polimerización de actina se indican en rojo (Hotulainen y Hoogenraad, 2010).

La clasificación de las espinas ha cambiado a lo largo de la historia. Así, en 1970 Peters y Kaiserman-Abramof propusieron tres categorías: espinas “mushroom” (forma de hongo), “thin” (forma delgada) y “stubby” (forma enana), basadas en el tamaño del cuello y la forma de la cabeza (Nimchinsky y col., 2002). Las espinas en forma de hongo tienen cabezas bulbosas y de gran tamaño conectadas a la dendrita por un cuello largo y estrecho, las espinas delgadas tienen una cabeza más pequeña y las enanas carecen o tienen cuello muy corto (Ghani y col., 2017). Posteriormente, se agregó otra categoría: las filopodia, que se ha propuesto que podría ser un precursor de las espinas dendríticas (Figura 4) (Kanjhan y col., 2016). De acuerdo a su grado de maduración, presentan cambios en su morfología que están ligados a su función en la modulación sináptica (Risher y col., 2014). Las formas inmaduras como las filopodias, son estructuras largas, altamente dinámicas y de corta duración, mientras que las completamente maduras como el tipo hongo son mucho más estables y contiene una gran variedad de receptores de neurotransmisores (Lai y Ip, 2013). Debido a estas características individuales, se ha propuesto que, las espinas

tipo hongo podrían mediar fuertes corrientes sinápticas y por lo tanto recuerdos a largo plazo, mientras que las espinas delgadas están asociadas con un alto grado de plasticidad y al aprendizaje de nueva información (Qiao y col., 2016). Además, de acuerdo con la eficacia en la función sináptica, se ha reportado que existe una relación entre el tamaño de la espina y la fuerza sináptica, ya que el volumen de la cabeza de la espina tiene una relación directamente proporcional con la DPS (Ebrahimi y Okabe, 2014) y que el tamaño del cuello de la espina puede ser crítico en la propagación de la señalización de  $Ca^{2+}$  (Higley y Sabatini, 2012). Recientemente se ha puesto en evidencia la relación entre la actividad sináptica que se refleja en la morfología de las espinas y los cambios funcionales que se llevan a cabo en el cerebro, sobre todo durante algunas patologías (van Spronsen y Hoogenraad, 2010). De manera particular, las alteraciones que implican la pérdida de la estabilidad de las espinas dendríticas durante la edad adulta se han asociado con la aparición de trastornos neurológicos como la esquizofrenia o enfermedades neurodegenerativas durante el envejecimiento como el Alzheimer y el Parkinson (Tønnesen y Nägerl, 2016).

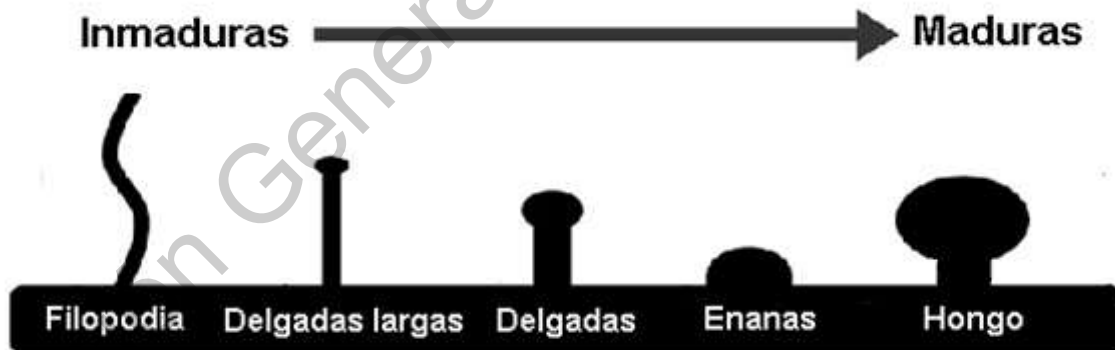


Figura 4. Clasificación de espinas dendríticas de acuerdo a su grado de maduración. De izquierda a derecha: filopodias son precursores de espinas dendríticas y van de 3-10  $\mu\text{m}$ , espinas delgadas "thin" donde la altura es mayor que el diámetro, espinas enanas "stubby" donde la altura es igual que el diámetro y espinas hongo "mushroom" donde el diámetro de la cabeza es mayor al del cuello. (Risher y col., 2014).



## 1.5 Corteza prefrontal

Una de las estructuras cerebrales que se ha visto más afectada por el envejecimiento, es la corteza prefrontal (CPF). Esta estructura se encuentra ubicada en la parte más anterior del lóbulo frontal y está dividida en tres subregiones: medial, lateral y orbital (Siddiqui y col., 2008). Está conectada de manera abundante y recíproca con estructuras corticales y subcorticales como el tálamo, ganglios basales, hipotálamo, amígdala e hipocampo, así como cortezas de asociación en el lóbulo temporal y parietal (Fuster, 2009). Es responsable de las funciones ejecutivas complejas, como la memoria de trabajo, la planificación y el comportamiento dirigido a objetivos (Chudasama, 2011). De manera específica, se ha propuesto que la CPF lateral está implicada en el lenguaje y funciones ejecutivas, mientras que las regiones orbital y medial del CPF están involucradas en el procesamiento y en la regulación del comportamiento emocional (Uytun, 2018).

Durante el envejecimiento normal, se ha reportado que los árboles dendríticos, que integran la información de las entradas sinápticas, sufren una regresión progresiva en zonas como la corteza prefrontal (Dickstein y col., 2012), la disminución y acortamiento de la ramificación dendrítica (Mota y col., 2019), así como la disminución de las espinas dendríticas o la pérdida de plasticidad sináptica (Peters, 2006). Estudios recientes indican que el envejecimiento normal se asocia con alteraciones en la morfología de las espinas dendríticas que son las responsables de las afectaciones de la plasticidad en la corteza prefrontal (Bloss y col., 2011), además de que, en individuos con deterioro cognitivo relacionado con la edad, las funciones ejecutivas relacionadas con la CPF son las primeras en verse afectadas (Dotson y col., 2016). Estudios en neuroimagen indican que esta zona presenta mayor disminución de volumen con la edad (Nyberg y col., 2010) además de una menor densidad sináptica (Solbakk y col., 2008). En un experimento hecho por Morrison y Baxter, 2012 (Figura 5) se observó que la pérdida de espinas dendríticas asociadas al envejecimiento se presentó en su mayoría (46 %) en espinas delgadas lo que

sugiere que en la corteza prefrontal este tipo de sinapsis de alta plasticidad son más vulnerables al envejecimiento.

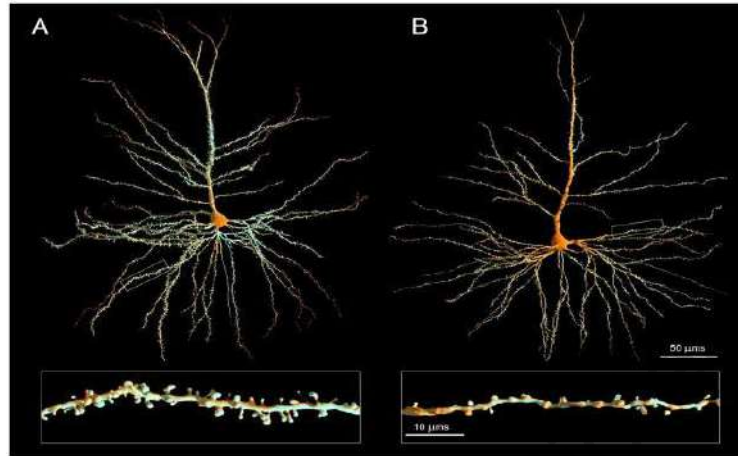


Figura 5. Espinas dendríticas de neuronas corticales en primates no humanos jóvenes y viejos. Reconstrucción de neuronas corticales prefrontales marcadas con Lucifer Yellow de primates no humanos jóvenes (A) y viejos (B). El rectángulo muestra un segmento dendrítico basal en cada neurona en A y B respectivamente. (C). Barra de calibración 50 y 10  $\mu\text{m}$  (Morrison y Baxter, 2012).

### 1.6 Receptores NMDA

Dado que las espinas dendríticas son estructuras especializadas en la transmisión sináptica, poseen en su superficie una gran cantidad de receptores glutamatérgicos, los cuales tienen un papel clave en procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria (Ávila y col., 2017). El glutamato, el neurotransmisor excitador primario por excelencia, puede modificar el funcionamiento de las neuronas al activar receptores metabotrópicos (acoplados a proteínas G) o ionotrópicos. Estos últimos, son canales iónicos activados por ligandos que están conformados por los receptores ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propiónico (AMPA), 2-carboxi-3-carboximetil-4-isopropenilpirrolidina (Kainato) y los receptores N- metil-D- aspartato (NMDA) (Mota y col., 2014). Los receptores NMDA son heterotetrámeros compuestos de dos subunidades GluN1 de unión a glicina o D-serina y dos subunidades GluN2 (GluN2A-D) de unión a glutamato (Liu y col., 2019). Para su activación (Figura 6),

además del glutamato, requiere de la unión de un co-agonista en el sitio de glicina y la remoción del  $Mg^{2+}$  del poro del canal para permitir el paso de iones  $Ca^{2+}$  y  $Na^+$  al interior y la salida de  $K^+$  (Bardaweel y col., 2014). La evidencia indica que la D-serina y no la glicina, es el principal agonista endógeno del receptor NMDA (Billard, 2015). Recientemente, se ha propuesto una posible relación entre la disminución en los receptores NMDA y el deterioro cognitivo (Kumar, 2015), además de su implicación en desórdenes neurológicos como esquizofrenia, epilepsia, Alzheimer y accidentes cerebro vasculares debido a una desregulación en su activación (Zhu y col., 2016).

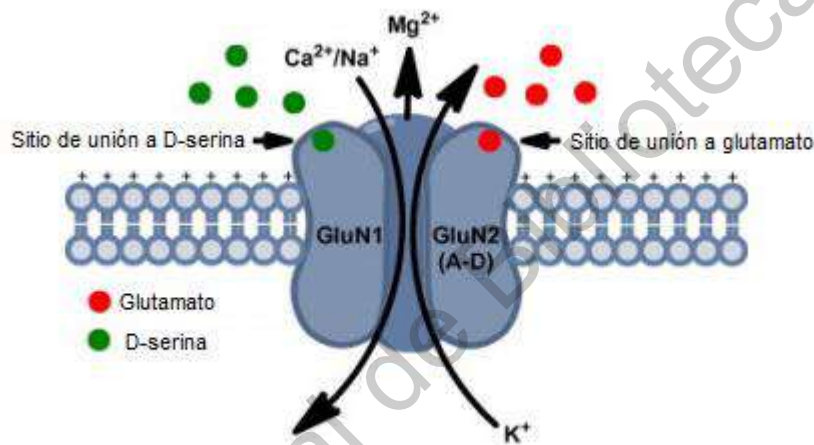


Figura 6. Elementos claves para la activación del receptor de NMDA. Representación de la unión del glutamato y co-agonista de glicina o D-serina del receptor NMDA, remoción de  $Mg^{2+}$  del canal y paso de los iones  $Ca^{2+}$  y  $Na^+$  dentro de la neurona y salida de los iones  $K^+$  (Cioffi, 2013).

### 1.7 D-serina

La D-serina es un enantiómero de la L-serina, sintetizado *de novo* en mamíferos (Suzuki y col., 2017). Está presente en el plasma y de manera particular en el sistema nervioso (Williams y col., 2003). En este último, su origen ha sido ampliamente discutido ya que se ha propuesto que es liberada tanto por astrocitos (López-Hidalgo y col., 2012) como por neuronas (Mackay y col., 2019). En humanos, los D-aminoácidos son obtenidos por su biosíntesis, mediante la enzima Serina Racemasa

(SR) (Wolosker, 2018). La SR cataliza tanto la racemización como la eliminación  $\alpha$ ,  $\beta$  de los enantiómeros de serina (Balu y col., 2014). Por otro lado, la degradación primaria (Figura 7) se lleva a cabo por la D-aminoácido oxidasa (D-AAO), una oxidasa dependiente de flavina, que cataliza su eliminación a través de su desaminación oxidativa, produciendo  $\alpha$ -ceto ácido, amoniac y peróxido de hidrógeno (Williams y col., 2003). De igual manera, se ha mostrado un mecanismo alterno donde la SR convierte la D-serina en L-serina para su desaminación por la Serina Deshidratasa para producir piruvato (Durrant y Heresco-Levy, 2014). Esta enzima está presente en hígado, cerebro y en mayor proporción, en riñón, en donde la D-serina es reabsorbida en la parte recta del túbulo proximal (Maekawa, 2005).

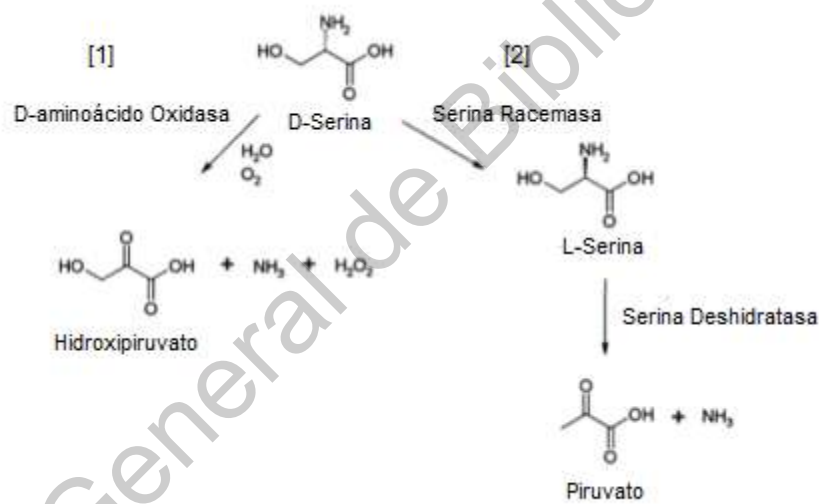


Figura 7. Metabolismo de la D-serina. Representación de las rutas de degradación de la D-serina con enzimas y productos de desecho (Williams y col., 2003).

En el sistema nervioso de ratas envejecidas hay una disminución en los niveles de D-serina, lo que resulta en una reducción de la actividad del receptor de NMDA (Guercio y Panizzutti, 2018). Estos resultados sugieren una posible asociación entre la disminución de la D-serina con la disminución de la activación de los receptores NMDA y la plasticidad funcional que se da durante el envejecimiento (Avellar y col., 2016). Debido a esto, se ha propuesto que la suplementación de D-serina exógena

podría tener un papel importante en la prevención de los defectos de la memoria relacionados con la edad (Potier y col., 2010).

En tejidos como el riñón, se ha reportado que la administración a altas dosis de D-serina puede causar necrosis principalmente en la porción recta del túbulo proximal en riñones de rata, acompañado de proteinuria y glucosuria (Ganote y col., 1974). Esta región, que se encuentra adyacente al túbulo contorneado proximal, presenta epitelio cúbico simple, un borde en cepillo, y microvellosidades que llenan casi por completo el lumen (Figura 8A). La necrosis tubular aguda (NTA) se caracteriza por hinchazón citoplasmática, pérdida o fragmentación del borde en cepillo que produce aplanamiento del epitelio, protuberancias citoplasmáticas en la luz tubular y envoltura nuclear vacía por cariólisis (Seely y col., 2018). Cuando la necrosis es severa, incluso puede haber pérdida de células tubulares individuales lo que resulta en la denudación de la membrana basal (Figura 8B) (Hasegawa y col., 2018). Se ha reportado que el daño se presenta en su mayoría en la corteza interna y se extiende hacia los rayos medulares (Peterson y Carone, 1979).

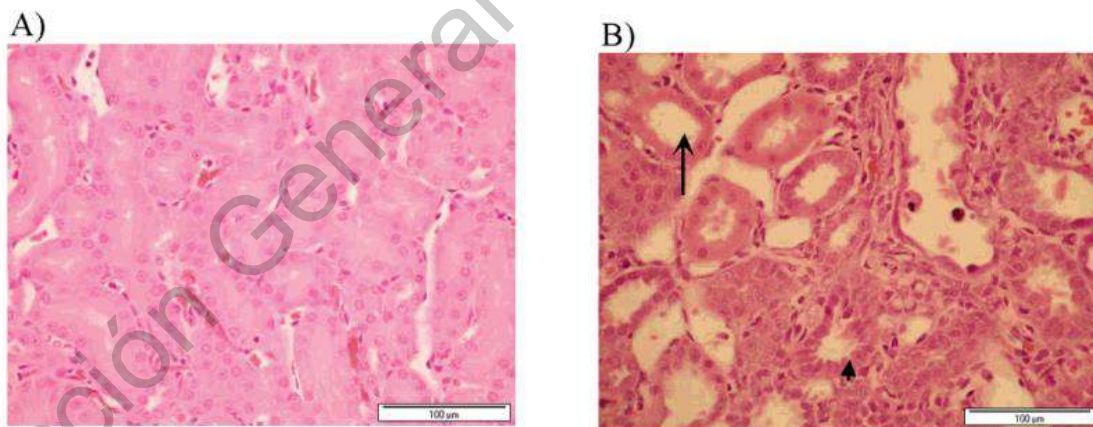


Figura 8. Histopatología del túbulo recto proximal de la rata. Teñido con hematoxilina y eosina secciones de (A) control y (B) riñón de rata tratado con D-serina (500 mg / Kg) que muestra (A) control túbulo recto proximal y (B) dilatación tubular (flecha) y basofilia (punta de flecha) (120 h posterior a la administración de la D-serina) (Williams y col., 2003).

Resultados previos de nuestro grupo han analizado el efecto de la suplementación crónica de D-serina sobre la flexibilidad cognitiva de ratas viejas. La flexibilidad cognitiva se define como la capacidad de un individuo para ajustar su comportamiento ante un entorno cambiante (Dajani y Uddin, 2015). Es una función ejecutiva que depende de la función de varias estructuras corticales prefrontales (Diamond, 2013) y del buen funcionamiento de los receptores NMDA (Gastambide y col., 2013; Darvas y Palmiter, 2015; Kumar y col., 2015; Dauvermann y col., 2017). Para su evaluación, se entrenaron ratas de 24 meses utilizando cajas de condicionamiento operante en una tarea que evaluaba la flexibilidad cognitiva. Se observó que las ratas de 24 meses tenían una disminución en la flexibilidad cognitiva y que posterior al tratamiento crónico por 2 meses con D-serina (30mg/kg y 300mg/kg) mejoraban el desempeño cognitivo. Sin embargo, es fundamental evaluar tanto los efectos positivos de la D-serina sobre las funciones cognitivas que se asocian con cambios tanto en las ramificaciones dendríticas neuronales y espinas dendríticas, así como las posibles dosis terapéuticas que no afecten la integridad morfológica del riñón. Para esto, en el presente trabajo nos planteamos que la suplementación crónica de D-serina en ratas aumentará el número de ramificaciones dendríticas y espinas dendríticas en neuronas de la corteza prefrontal, sin afectar la integridad morfológica del riñón.

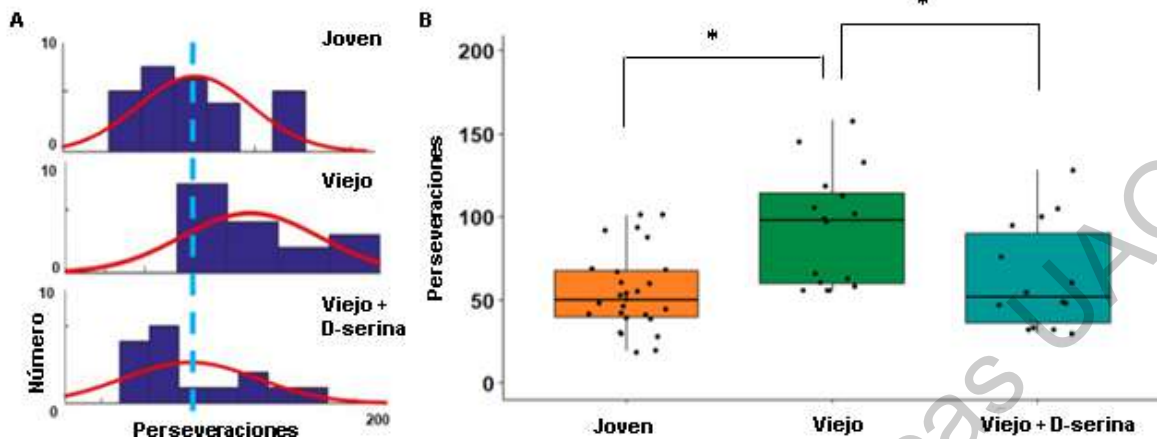


Figura 9. Efecto de la administración oral de D-serina sobre la flexibilidad cognitiva. (A) Histograma del número de perseveraciones realizadas en ratas jóvenes (6 meses), viejas (24 meses) y viejas suplementadas con D-serina (300 mg/kg) (B) Análisis estadístico del desempeño en la prueba de flexibilidad cognitiva en ratas jóvenes, viejas y viejas suplementadas con D-serina (300 mg/kg). (Nava-Gómez y cols., 2020).

## 2. HIPÓTESIS

La suplementación crónica de D-serina en ratas aumentará el número de ramificaciones dendríticas y el número de espinas dendríticas en neuronas de la corteza prefrontal, además de que no modificará la integridad morfológica del riñón.

Dirección General de Bibliotecas UAQ



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general**

- Evaluar el efecto de la suplementación crónica de D-serina sobre la morfología de las neuronas de la corteza prefrontal y la integridad morfológica del riñón.

#### **3.2 Objetivos particulares**

- Cuantificar el número de ramificaciones dendríticas de neuronas en la corteza prefrontal de ratas de 24 meses suplementadas con D-serina.
- Cuantificar el número y tipo de espinas dendríticas de neuronas en la corteza prefrontal de ratas de 24 meses suplementadas con D-serina.
- Analizar la estructura y morfología del túbulo recto proximal en riñones de ratas de 24 meses suplementadas con D-serina.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 Materiales

Todos los procedimientos fueron llevados a cabo de acuerdo con las normas y lineamientos éticos de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y del NIH "Guide for the Care and Use of Experimental Animals".

Se utilizaron 30 ratas macho de la cepa Wistar de 24 meses de edad que fueron obtenidas del Instituto de Neurobiología de la UNAM, alojadas individualmente en cajas de 48 x 25 cm, a una temperatura de 20-23°C, humedad entre 40-70% y ventilación constante. Se mantuvieron con ciclos de luz y oscuridad (12/12), con agua *ad libitum* y alimento restringido al 85% de su peso. La alimentación de las ratas se restringió para garantizar que mantuvieran un peso adecuado y para obtener respuestas condicionadas en el protocolo de las tareas conductuales. Se midió el volumen total de agua que la rata bebía diariamente y a partir de esta cantidad, se administró D-serina crónicamente en dosis de 30 y 300 mg/kg de peso que se diluyeron en esta agua de beber. Después de dos meses de tratamiento y posterior al entrenamiento, las ratas fueron sacrificadas por decapitación.

### 4.2 Métodos

#### 4.2.1 Histología

Los riñones de ratas de 24 meses con y sin tratamiento de D-serina fueron obtenidos posterior a su decapitación, los cuales fueron cortados en secciones longitudinales incluyendo la papila y fijados por inmersión en formalina neutra tamponada al 10% (pH 7.4). El riñón se embebió en cera de parafina para ser cortado con un microtomo en secciones de 5 µm de espesor y se tiñó con hematoxilina y eosina (Sigma Aldrich). Para la obtención de las imágenes del túbulo recto proximal de la nefrona de la rata se utilizó un microscopio Apotome Zeiss (Axio Imager) utilizando la microscopía de campo claro con una resolución de 1x1 µm por pixel. Se seleccionaron 3 túbulos al

azar en la corteza interna de cada riñón para tomar las mediciones en el programa ImageJ como se indican en la Figura 10 y que corresponden a la longitud total del túbulo (azul), la longitud de las células de cada uno de los cuatro extremos (verde) y de la longitud del lumen (naranja).

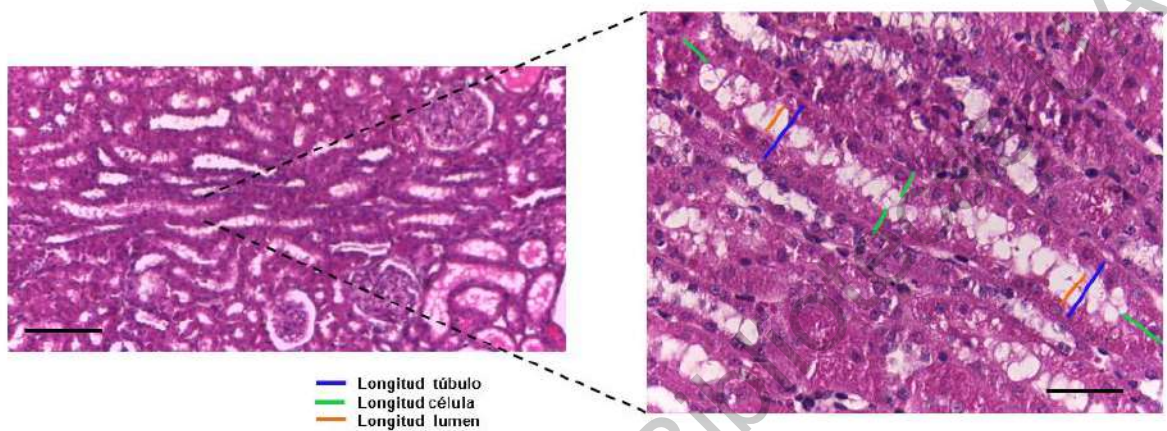


Figura 10. Representación de mediciones tomadas del túbulo recto proximal. Se cuantificaron la longitud del túbulo (línea azul), longitud de la célula (línea verde) y la longitud del lumen (línea naranja). Barra de calibración 50  $\mu\text{m}$ .

Para llevar a cabo el análisis de la morfología de las proyecciones dendríticas de las neuronas de las ratas de 24 meses con y sin tratamiento de D-serina, los animales fueron sacrificados mediante decapitación, se extrajeron los cerebros y fueron colocados en formalina. Posteriormente se obtuvieron cortes de 50  $\mu\text{m}$  de grosor con ayuda de un criostato y las secciones obtenidas fueron procesadas empleando una tinción rápida de Golgi con un kit comercial (Sigma Aldrich). Las neuronas de la corteza prefrontal fueron localizadas aproximadamente entre 5.16 mm a 2.76 mm anterior a Bregma (Paxinos y Watson, 2007) y visualizadas con un microscopio Apotome Zeiss (Axio Imager) mediante microscopía de campo claro para obtener imágenes en el plano Z (1  $\mu\text{m}$  por cada corte óptico) utilizando un objetivo 40X. Posteriormente estas imágenes fueron reconstruidas en tres dimensiones usando el Software IMARIS (Biplane 10.0) con el fin de cuantificar las características morfológicas de las neuronas. Para el conteo de espinas dendríticas se siguió el criterio según Bello-Medina y col., 2016, seleccionando 5 segmentos de las dendritas

de aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  comenzando a 60  $\mu\text{m}$  del soma para arrojar mediciones homogéneas.

#### 4.2.2 Análisis estadístico

Para analizar las diferencias en la integridad de los túbulos rectos proximales, se utilizó una prueba U de Mann-Whitney. El análisis de las ramificaciones neuronales se llevó a cabo con el software IMARIS y los datos se compararon de igual manera con una prueba U de Mann-Whitney.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## 5. RESULTADOS

Para estudiar el papel de la D-serina en la activación de los receptores NMDA y sus efectos en la morfología de las neuronas y el de su metabolismo en células del riñón, se evaluó una dosis alta (300 mg/kg) y una baja (30 mg/kg) de D-serina. Ambas basadas en estudios previos que han mostrado una eficacia de la D-serina en las funciones cognitivas dependiente de la dosis (Kantrowitz y col., 2011). A dosis altas de D-serina (300 mg/kg diario) se ha demostrado tener efectos positivos en las funciones cognitivas (Lipina, 2005; Balu y col., 2013; Guercio y col., 2014).

### 5.1 Efecto de una dosis alta de D-serina sobre las ramificaciones dendríticas

Primero se evaluó la morfología de las neuronas de la corteza prefrontal obtenidas de la reconstrucción tridimensional en el Software IMARIS, de donde se analizaron el número de ramificaciones dendríticas, el largo de las ramificaciones, los puntos de ramificación y el número de ramificaciones por puntos de ramificación como se muestra en la Figura 11A. En ninguno de estos parámetros se observaron cambios significativos cuando las ratas fueron tratadas con una dosis alta de D-serina (300 mg/ kg de peso) por lo que, se prosigió a evaluar las espinas dendríticas, que son las estructuras especializadas en la transmisión sináptica de las dendritas.

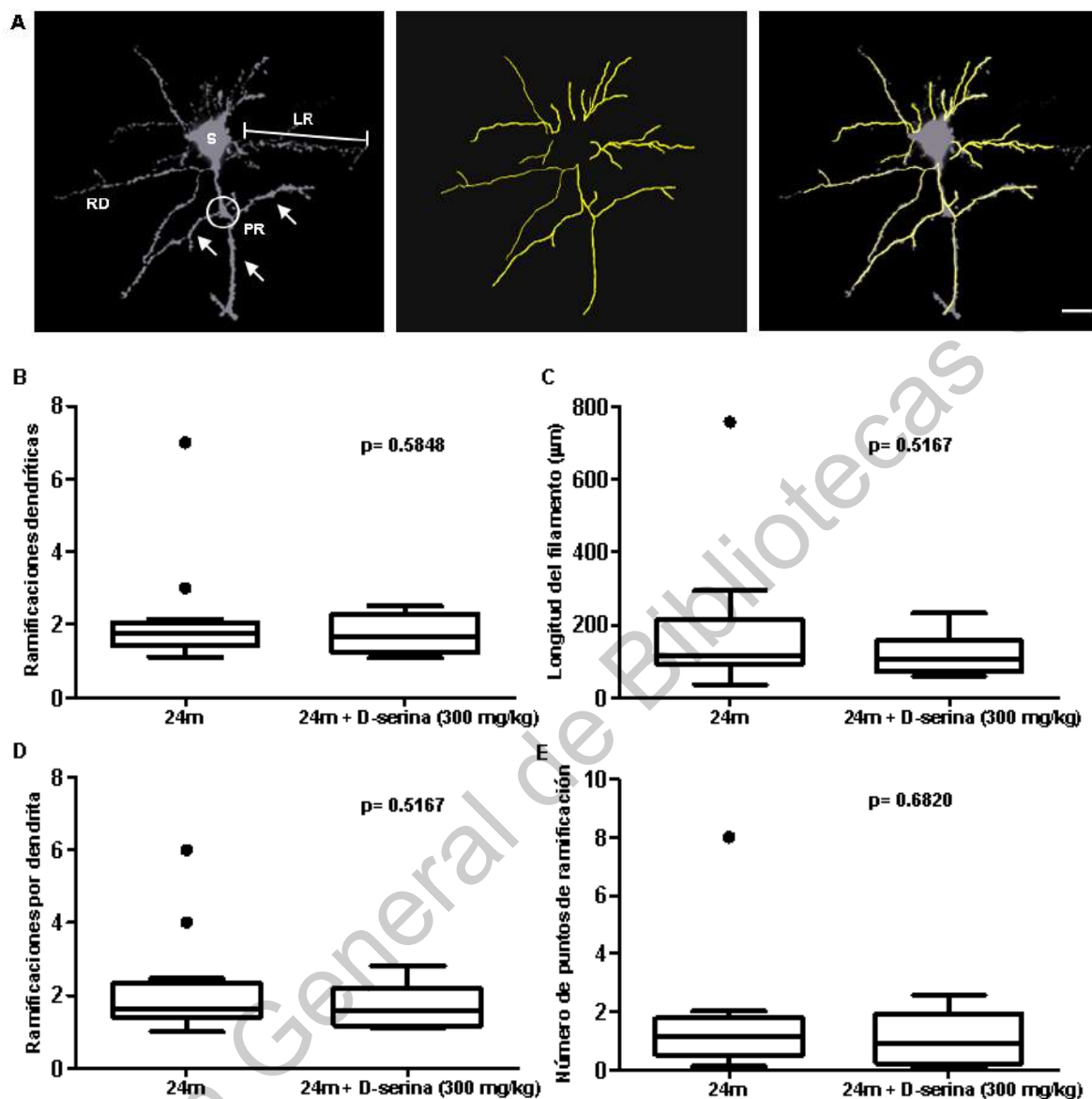


Figura 11. Análisis de la morfología de neuronas de la corteza prefrontal a dosis altas de D-serina. (A) Imagen obtenida con tinción de Golgi indicando las partes de la neurona analizadas partiendo del soma (S): número de ramificaciones dendríticas (RD), el largo de las ramificaciones (LR), los puntos de ramificación (PR) y el número de ramificaciones por puntos de ramificación (flechas), seguida de imagen del trazo de las dendritas en el Software Imaris y superposición de ambas para la reconstrucción tridimensional. Barra de calibración 50  $\mu\text{m}$ . (B) Cuantificación ramificaciones dendríticas. (C) Cuantificación largo de las ramificaciones. (D) Cuantificación puntos de ramificación. (E) Cuantificación número de ramificaciones por puntos de ramificación. Prueba U de Mann-Whitney (n= 4 neuronas control 24m, n= 7 neuronas de 24m + D-serina 300 mg/kg).

## 5.2 Efecto de una dosis alta de D-serina sobre el número de espinas dendríticas

Para analizar los cambios en el número de espinas de manera general, se realizó el conteo de espinas totales (Figura 12A) y se observó un aumento significativo en el número de espinas totales de las ratas tratadas con D-serina (300 mg/kg) respecto al control, por lo que, se llevó a cabo una clasificación para identificar si la diferencia se debía al aumento de algún tipo de espina en particular. La clasificación se realizó de acuerdo a su grado de maduración según Risher y col., 2014 en: filopodias, delgadas “thin”, enanas “stubby” y en forma de hongo “mushroom” como se muestra en la Figura 12B.

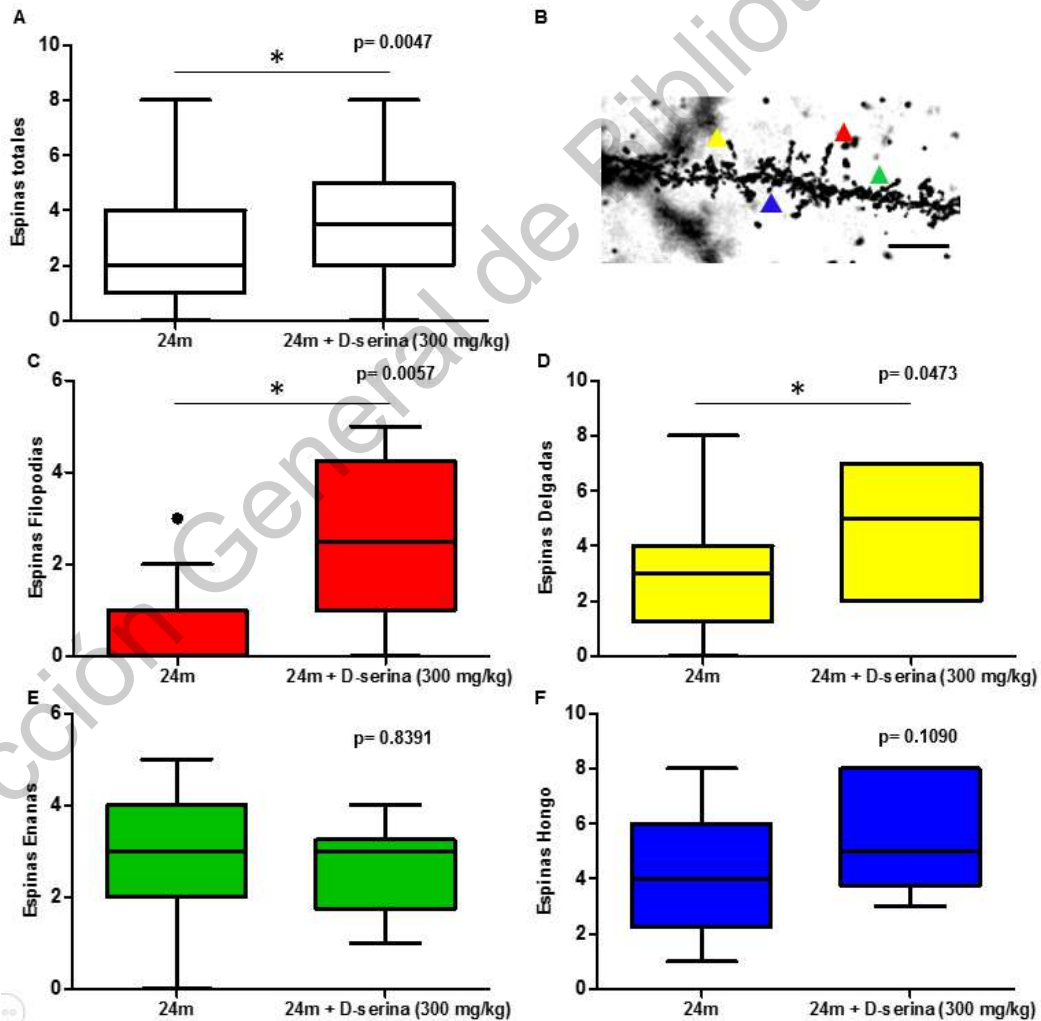


Figura 12. Análisis de espinas dendríticas a dosis altas de D-serina. (A) Cuantificación número total de espinas. (B) Fragmento de dendrita que muestra

espinas filopodias (rojo), espinas delgadas (amarillo), espinas enanas (verde) y espinas hongo (azul). Barra de calibración 5  $\mu$ m. (C) Cuantificación de espinas filopodias, (D) Cuantificación de espinas delgadas, (E) Cuantificación de espinas enanas y F) Cuantificación de espinas hongo. Prueba U de Mann-Whitney (n= 4 neuronas control 24m, n= 5 neuronas de 24m + D-serina 300 mg/kg).

Se observó que el aumento presentado en las espinas totales se debía al aumento significativo en el número de espinas filopodias y delgadas.

### 5.3 Efecto de una dosis alta de D-serina sobre la morfología del riñón.

Evaluamos la integridad morfológica de las células del túbulo recto proximal del riñón a dosis de 300 mg/kg de D-serina. Para esto se tomaron en cuenta las características histológicas que corresponden al tejido sano (Figura 13A) y al tejido que presenta necrosis tubular (Figura 13B). Considerando que durante la necrosis tubular se presenta dilatación tubular que se manifiesta como el aplanamiento del epitelio que aumenta el espacio en el lumen y disminuye la longitud de las células que conforman al túbulo recto proximal. Las mediciones se basaron en el criterio presentado en la Figura 10 de la metodología. De los resultados obtenidos podemos observar que con el tratamiento a altas dosis de D-serina (300 mg/kg) hubo una disminución significativa de la longitud total del túbulo (Figura 13E), al igual que un aumento significativo de la longitud de las células que lo conforman (Figura 13F) y una disminución en la longitud del lumen (Figura 13G) respecto al control. Lo que nos indica que, aunque se presenta un aumento en la longitud total del túbulo, su ancho total disminuye al no haber espacio en el lumen de la célula.



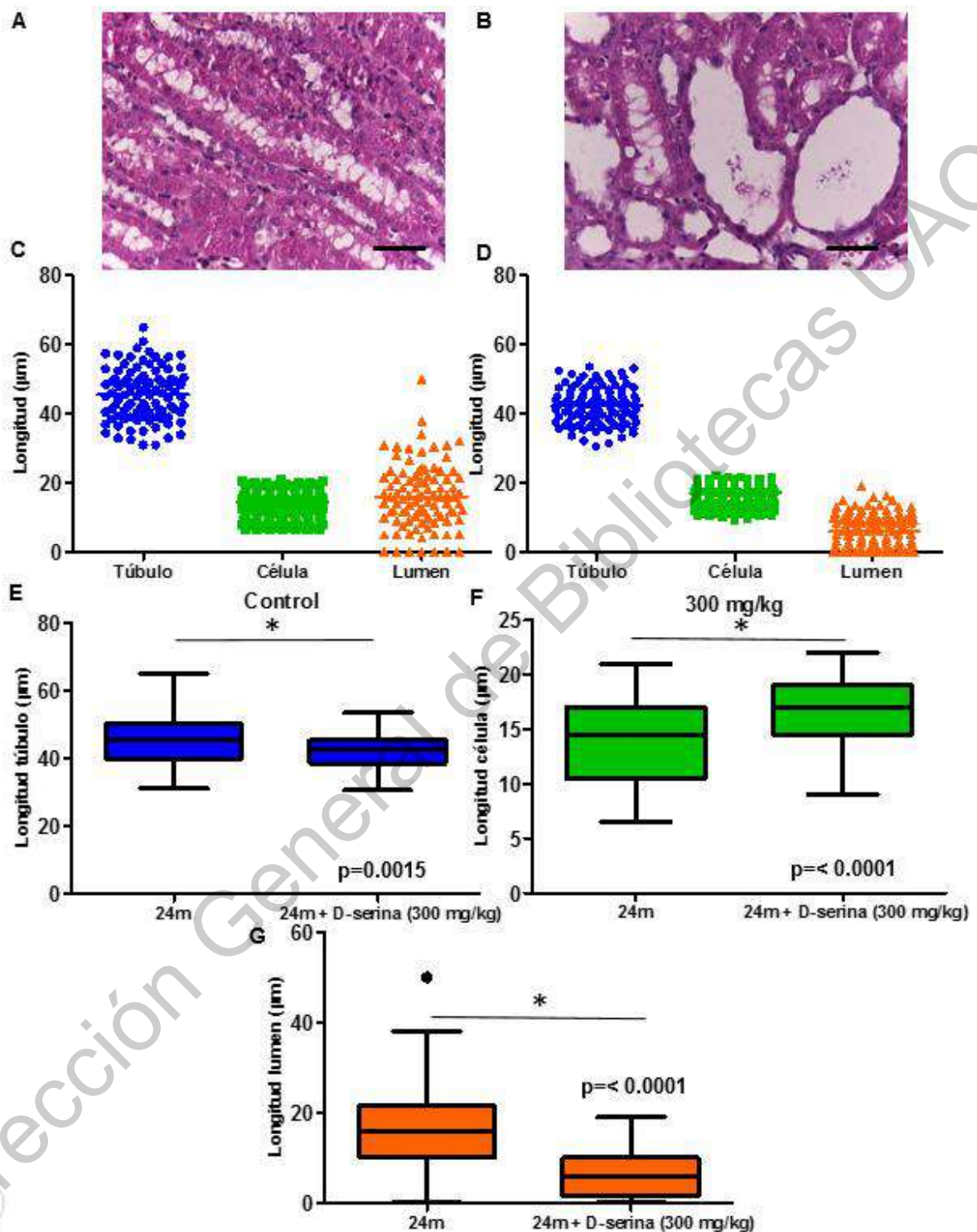


Figura 13. Análisis de la morfología del túbulo recto proximal a dosis altas de D-serina. (A) Secciones de riñón sano teñidas con hematoxilina y eosina a 40X. Barra de calibración 50 µm. (B) Secciones de riñón con necrosis tubular teñidas con hematoxilina y eosina a 40X. Barra de calibración 50 µm. (C) Representación datos grupo control 24m. (D) Representación datos tratamiento 24m + D-serina 300

mg/kg. (E) Cuantificación longitud total del túbulo en grupo control 24m respecto a tratamiento D-serina 300 mg/kg. (F) Cuantificación longitud célula del grupo control 24m respecto a tratamiento D-serina 300 mg/kg. (G) Cuantificación longitud lumen del grupo control 24m respecto a tratamiento D-serina 300 mg/kg. Prueba U de Mann-Whitney (n= 4 riñones control 24m, n= 4 riñones 24m + D-serina 300 mg/kg).

Al observar diferencias significativas en el tratamiento de 300 mg/kg decidimos evaluar los efectos en una dosis menor de 30 mg/kg debido a la preocupación por la nefrotoxicidad anteriormente reportada (Ganote y col., 1974; Williams y col., 2003; Hasewaga y col., 2018). Algunos estudios han obtenido efectos positivos durante la evaluación de funciones cognitivas desde esta dosis (Heresco-Levy, 2005; Bado y col., 2011; Avellar y col., 2016). Por lo que, nos enfocamos en investigar si a dosis menores de D-serina se mantenían los efectos previamente observados en la morfología de neuronas y riñón.

#### 5.4 Efecto de una dosis baja de D-serina sobre las ramificaciones y espinas dendríticas

Con el tratamiento de D-serina a una dosis baja (30 mg/kg), se analizó la morfología neuronal de la reconstrucción tridimensional de estas neuronas y se siguieron los mismos criterios en la obtención de los datos de las dendritas en neuronas de la corteza prefrontal. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre con una dosis alta de D-serina, no se observaron diferencias significativas lo que sugiere que a dosis menores de D-serina no hay un efecto en la morfología de las ramificaciones neuronales.

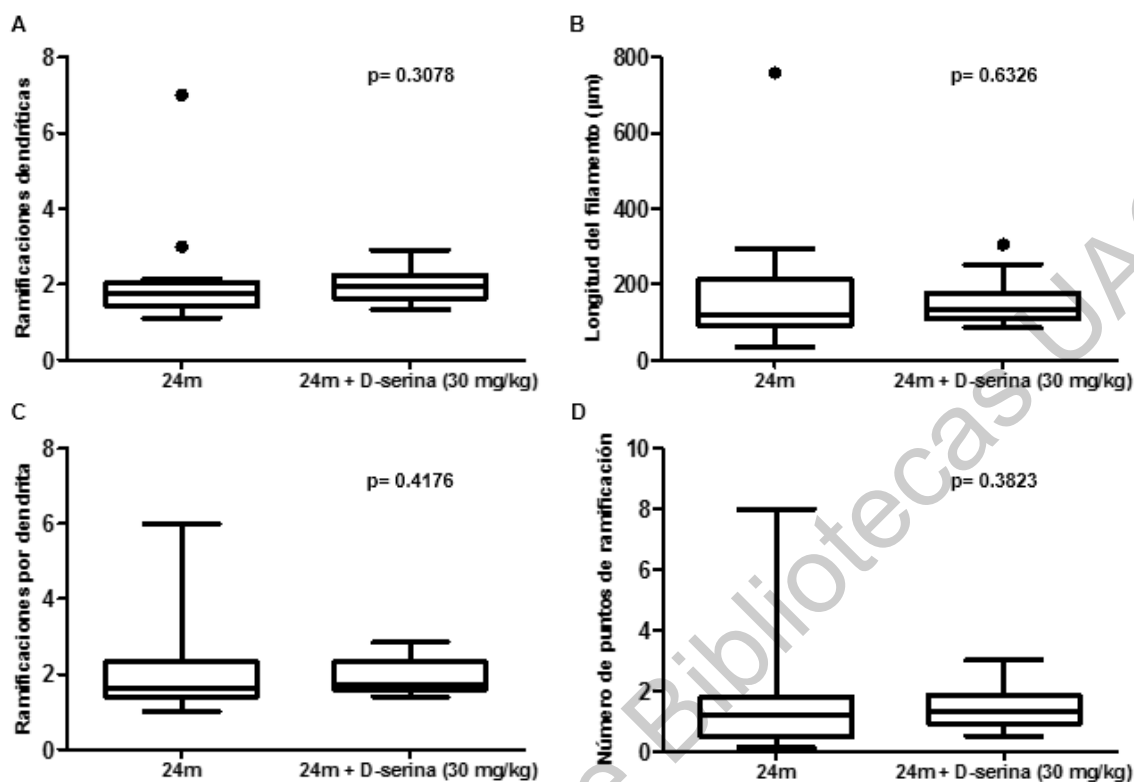


Figura 14. Análisis de la morfología de neuronas de la corteza prefrontal a dosis bajas de D-serina. (A) Cuantificación ramificaciones dendríticas. (B) Cuantificación largo de las ramificaciones. (C) Cuantificación puntos de ramificación. (D) Cuantificación número de ramificaciones por puntos de ramificación. Prueba U de Mann-Whitney (n= 4 neuronas control 24m, n= 7 neuronas de 24m + D-serina 30 mg/kg).

Del análisis en las espinas dendríticas, también se observó un aumento en el número de espinas totales (Figura 15A) por lo que proseguimos a realizar la clasificación anteriormente presentada. Cuando se cuantificó por tipo (Figura 15B a 15E) no se observó ninguna diferencia significativa, lo que sugiere que con un aumento en el número de neuronas se podría observar a qué tipo de espina se debe el incremento observado anteriormente.

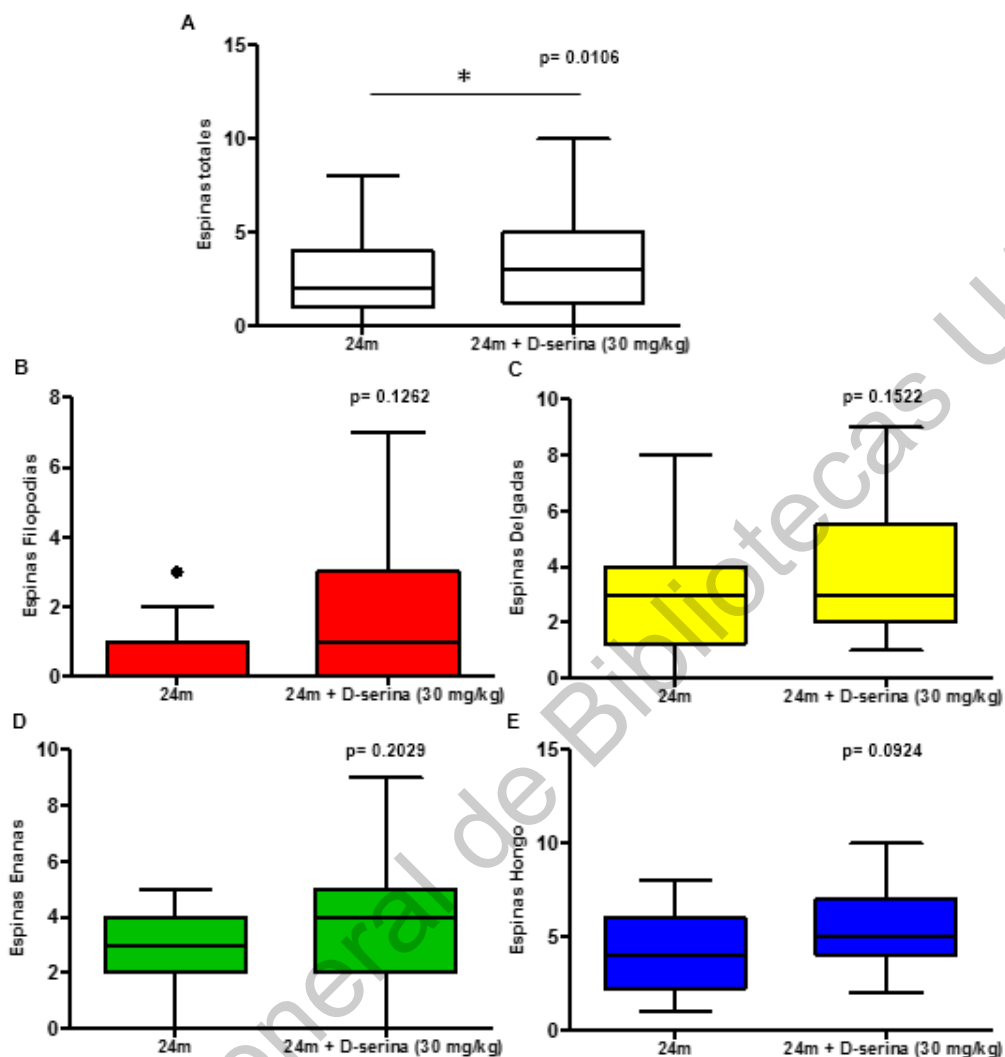


Figura 15. Análisis de espinas dendríticas a dosis bajas de D-serina. (A) Cuantificación número de espinas filopodias, (B) Cuantificación de espinas delgadas, (C) Cuantificación de espinas enanas y (E) Cuantificación de espinas hongo. Prueba U de Mann-Whitney (n= 4 neuronas control 24m, n= 5 neuronas de 24m + D-serina 30 mg/kg).

### 5.5 Efecto de una dosis baja de D-serina sobre la morfología del riñón

De igual manera, se realizó la evaluación de la morfología del túbulo recto proximal en riñón a dosis de 30 mg/kg de D-serina, se tomaron los mismos criterios en las medidas correspondientes a la longitud total del túbulo recto proximal y la comparación con la longitud de cada célula y del lumen (Figura 10).

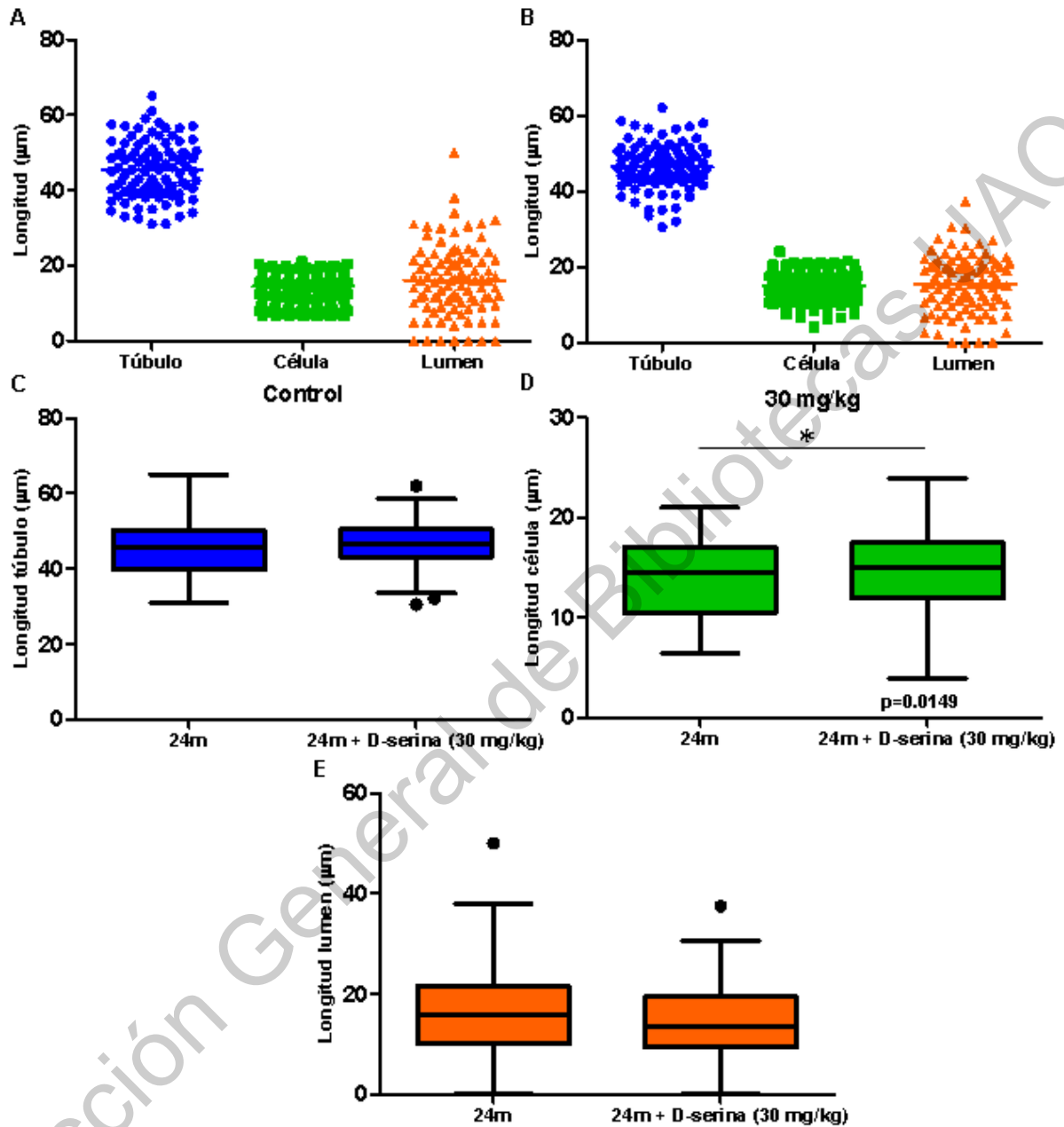


Figura 16. Análisis de la morfología del túbulo recto proximal a dosis bajas de D-serina. (A) Representación de datos grupo control 24m. (B) Representación datos tratamiento 24m + D-serina 30 mg/kg. (C) Cuantificación longitud total del túbulo en grupo control 24m respecto a tratamiento D-serina 30 mg/kg. (D) Cuantificación longitud célula del grupo control 24m respecto a tratamiento D-serina 30 mg/kg. (E) Cuantificación longitud lumen del grupo control 24m respecto a tratamiento D-serina 30 mg/kg. Prueba U de Mann-Whitney (n= 4 riñones control 24m, n= 4 riñones 24m + D-serina 30 mg/kg).

Se observaron diferencias significativas en la longitud de cada célula del túbulo (Figura 16D), sin embargo de la comparación con las demás mediciones (Figura 16E y 16F) no hay diferencias significativas con respecto al control. Lo que nos sugiere que la D-serina a dosis bajas no causa necrosis tubular, por lo tanto, se mantiene la integridad en el tejido del riñón.

## 6. DISCUSIÓN

La activación de los receptores NMDA se ha visto implicada en diversas formas de plasticidad sináptica como la potenciación a largo plazo o LTP por sus siglas en inglés (Long Term Potentiation) (Lüscher y Malenka, 2012; Park y col., 2014) que se define como el aumento sostenido de la transmisión sináptica y se considera un mecanismo clave durante la memoria y el aprendizaje (Salavati y col., 2018). Durante estos eventos, la activación del receptor NMDA lleva al flujo de iones calcio a través de la membrana postsináptica que desencadena diferentes cascadas de señalización que inducen diferentes formas de plasticidad (Bloodgood y Sabatini, 2009). La plasticidad sináptica ha sido ampliamente estudiada en zonas como el hipocampo que juega un papel importante en la memoria, sin embargo, en la corteza prefrontal este mecanismo ha sido pasado por alto debido a que se pensaba que sus funciones no requerían adaptaciones de las redes neuronales (Goto y col., 2010) . En el presente estudio se evaluó el efecto de la administración del co-agonista D-serina del receptor NMDA sobre las ramificaciones dendríticas, así como en las espinas dendríticas de neuronas de la corteza prefrontal.

### 6.1 Efecto de la D-serina sobre las ramificaciones dendríticas

Las dendritas juegan un papel importante en la plasticidad neuronal, por lo que el estudio de su estructura y ramificación es fundamental para entender el procesamiento de la información. Nuestros resultados mostraron que, en ambos

tratamientos, ya sea a dosis bajas o altas de D-serina (30 y 300 mg/kg) no hubo cambios significativos en la morfología de los árboles dendríticos de las neuronas. Algunas características que analizamos como la adición de ramificaciones, la elongación de los árboles dendríticos así como el aumento de su complejidad mediante la extensión de sus puntos de ramificación son necesarios para establecer ramificaciones maduras durante el desarrollo. Durante este periodo, las ramificaciones se extienden progresivamente y se vuelven más complejas para la formación de sinapsis y circuitos (Arikkath, 2012). En edades adultas, la morfología de las dendritas se mantiene estable y disminuye su plasticidad estructural, sin embargo se ha visto que esta se puede llegar a restaurar en algunos casos como bajo condiciones patológicas como la epilepsia, después de periodos de isquemia (Emoto, 2012) o por medio de mecanismos de plasticidad dependientes de la actividad sináptica (Jan y Jan, 2010). Se ha reportado que la potenciación de los receptores NMDA conlleva a un incremento en la complejidad dendrítica en cultivos celulares (George y col., 2012) y por el contrario, su bloqueo disminuye el crecimiento dendrítico, así como los puntos de ramificación y la longitud de ramificaciones dendríticas en neuronas tectales de *Xenopus* (Sin y col., 2002; Urbanska y col., 2008; Andreae y Burrone, 2015). Se ha sugerido que la formación de ramificaciones dendríticas ocurre como resultado de varios eventos como el brote, mantenimiento y extensión de la nueva ramificación cada uno regulado de manera individual por cascadas de señalización que regulan el citoesqueleto de actina, principalmente miembros de la familia Rho de pequeñas GTPasas como Rac, Cdc42 y RhoA mediadas por la actividad del receptor NMDA (Li y col., 2000; Sin y col., 2002; Ewald y col., 2008). Consistente con nuestros resultados, se ha apoyado la idea de que las dendritas son mucho menos dinámicas que las espinas dendríticas en neuronas maduras (Holtmaat y Svoboda, 2009; Forrest y col., 2018)

## 6.2 Efecto de la D-serina sobre las espinas dendríticas

La activación de los receptores NMDA también es crítica en la regulación de la morfología de espinas dendríticas ya que permite el flujo de calcio dentro de las espinas (Chen y col., 2011). De acuerdo a nuestros resultados, se encontró un aumento en el número de espinas totales en ambas dosis (30 y 300 mg/kg), esto es consistente con reportes que señalan que posterior a la activación del receptor NMDA se inducen diferentes formas de plasticidad estructural en las espinas dendríticas como cambios en el tamaño y número de espinas dendríticas, así como el reclutamiento de receptores AMPA para la maduración de estas (Lin y col., 2004; Zhou y col., 2004; Tian y col., 2007; Ng y col., 2014; Koeberle y col., 2017). Estudios con técnicas más recientes como el “glutamate uncaging” que usan la foto estimulación para generar aumentos de concentración altamente localizados de glutamato (Matsuzaki y Kasai, 2011) muestran que se puede inducir la formación *de novo* de espinas en cortos periodos de tiempo, lo que demuestra la importancia de la señalización glutamatérgica en estos eventos de plasticidad (Kwon y Sabatini, 2011; Sigler y col., 2017; Noguchi y col., 2019). De manera particular, en el tratamiento a dosis bajas (30 mg/kg) se encontró un aumento significativo en el número de espinas totales, sin embargo, al clasificar cada tipo de espina no se encontraron diferencias significativas lo que nos sugiere que el efecto de la dosis alta de D-serina es más potente y que podríamos encontrar cambios en los tipos de espinas al aumentar el número de neuronas analizadas.

Al preguntarnos qué tipo de espina era la que aumentaba más, encontramos que a dosis altas (300 mg/kg) había un incremento de espinas filopodias y delgadas. Las filopodias son espinas altamente dinámicas, con periodos cortos de vida (Ebrahimi y Okabe, 2014). Debido a estas características, se cree que juegan un papel importante en la formación de nuevas sinapsis mediante la exploración de terminaciones axonales (Yang y Svitkina, 2011). Nuestras observaciones coinciden con estudios que han reportado un aumento tanto en el número como en el tamaño



de espinas inmaduras o filopodias después de la activación de receptores NMDA (Lin y col., 2004; Park y col., 2006; Tian y col., 2007; George y col., 2012), este tipo de espinas largas e inmaduras están relacionadas con la adquisición de nueva información y plasticidad neuronal (Kasai y col., 2003; Qiao y col., 2016; González-Burgos y col., 2017). De manera que, se ha propuesto que las filopodias proporcionan un sustrato para el aprendizaje rápido (Ozcan, 2017). Además de que, durante tratamientos dirigidos a contrarrestar el deterioro cognitivo en la edad se ha observado un incremento en el número de espinas delgadas lo que sugiere que estas espinas son necesarias para restaurar el potencial de la plasticidad sináptica en cerebros envejecidos (Hao y col., 2006).

Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en el número de espinas enanas y en forma de hongo con el tratamiento a ambas dosis (30 y 300 mg/kg), en el caso de las espinas en hongo se ha descrito que por estar en su límite máximo de tamaño y fuerza sináptica no tienen alcance para el fortalecimiento de sinapsis, lo que sugiere que son espinas asociadas más a la memoria que al aprendizaje (Bourne y Harris, 2007; Qiao y col., 2016). En el caso de las espinas enanas, su papel no está del todo claro ya que se ha visto una escasez de este tipo de espinas en el cerebro maduro (Berry y Nedivi, 2017) y se ha propuesto que podrían tener alguna participación en la regulación de la excitabilidad neuronal debido a que la forma de su cuello facilita la difusión del calcio (Bello-Medina y col., 2016).

Como se muestra en la Figura 17, se han propuesto diversas cascadas de señalización mediadas por el receptor NMDA que resultan en estos cambios, se sugiere que las elevaciones de calcio activan proteínas señalizadoras como la Proteína Kinasa C dependiente de calcio (PKC), la Kinasa Dependiente de Calcio/Calmodulina II  $\alpha$  (CaMKII $\alpha$ ) y pequeñas GTPasas como Ras, Cdc42 y RhoA (Colgan y col., 2018; Chang y col., 2019; Tu y col., 2020) llevan a eventos de fosforilación y translocación en el núcleo de diferentes factores de transcripción que inician la expresión de genes que llevan a la remodelación del citoesqueleto de actina (Patterson y Yasuda, 2011; Yasuda, 2016). En este sentido se han propuesto varias

proteínas de unión a actina y entrecruzadoras de actina que participan en la formación y maduración de las espinas dendríticas como la cortactina, drebrina A y neurabina I (Cheng y col., 2006). Posteriormente, la acumulación de parches de actina en la dendrita lleva al reclutamiento de moléculas requeridas para la iniciación y elongación de filopodias como la familia de Rho GTPasas y sus factores río arriba y río abajo, así como la superfamilia BAR, que juegan un rol crítico en la nucleación de actina (Frost y col., 2009; Ahmed y col., 2010). Debido a esto, sugerimos que la unión de D-serina al receptor NMDA puede mediar la activación de estas vías de señalización intracelular que modulan la plasticidad estructural en espinas dendríticas.

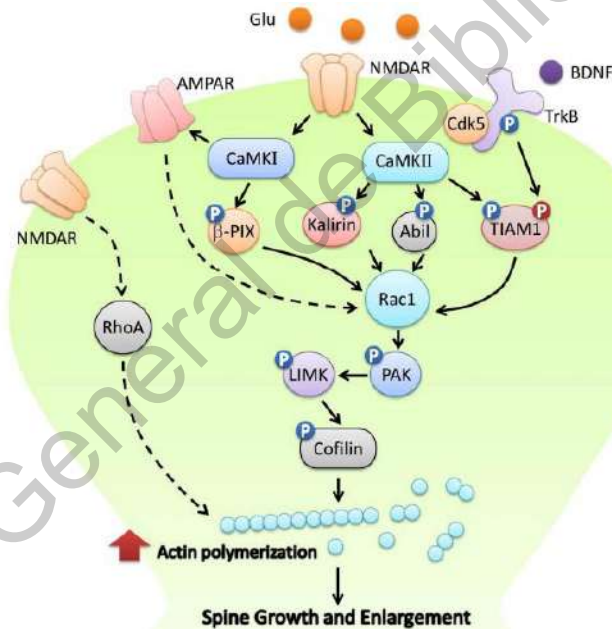


Figura 17. Diagrama de la activación de cascadas de señalización para la formación de nuevas espinas (Lai y Ip, 2013).

### 6.3 Efecto de la D-serina sobre la morfología del riñón

De manera complementaria y considerando la nefrotoxicidad previamente reportada causada por D-serina en ratas, se evaluó la morfología del túbulo recto proximal en riñones. El primer reporte sobre estos daños indica que los cambios en la estructura

renal inician con la contracción, seguido de la hinchazón y la pérdida del citoplasma apical o la lisis inmediata del contenido citoplasmático y nuclear (Ganote y col., 1974). El daño tubular puede avanzar hasta dejar a la membrana basal como la única barrera entre el fluido luminal e intersticial, lo que ocasiona la difusión de proteína y glucosa (proteinuria y glucosuria) a través del epitelio tubular necrótico (Ganote y col., 1974). Ninguna bibliografía revisada realizó un análisis profundo en la cuantificación de las longitudes del túbulo que reflejen las características mencionadas.

En relación al tratamiento que recibieron los animales, se consideraron las características fisiológicas e histológicas reportadas previamente en ratas viejas como la disminución de la función renal reflejada en la disminución del flujo sanguíneo renal y de la filtración glomerular (Melchiorretto y col., 2016). Además, se observó que hay un aumento en el número de quistes en los corpúsculos renales, atrofia tubular y fibrosis intersticial leve (Yabuki y col., 2014), también se ha reportado aumento en los niveles de proteína en la orina (proteinuria), lesión celular y necrosis en túbulos proximales (Haley y Bulger, 1983) que se ve compensado mediante hipertrofia para contrarrestar las pérdidas de las nefronas restantes (Denic y col., 2016). De manera específica, ha habido observaciones mediante microscopía electrónica de la corteza renal que muestran que las microvellosidades del borde en cepillo en los túbulos proximales de ratas viejas eran menores respecto a las jóvenes (Nakano, 1985).

Al cuantificar los datos de los riñones con el tratamiento a dosis altas de D-serina (300 mg/kg) encontramos que la longitud total del túbulo disminuía respecto al control, sin embargo, la longitud de las células que lo conformaban aumentaba, por lo que esta disminución se debía a que se reducía el espacio en el lumen y no al aplanamiento de las células como se indican durante la necrosis tubular. Por otro lado, del tratamiento a dosis bajas de D-serina (30 mg/kg) solo se observó un aumento significativo en la longitud de las células que conformaban al túbulo y sin diferencias significativas con las otras mediciones lo que nos sugiere que en ambas

dosis se mantiene la integridad del tejido en riñones. Esto es consistente con la ausencia de lesiones relacionadas con nefrotoxicidad a dosis bajas (Williams y col., 2003; Hasewaga y col., 2018). Sin embargo, desde que se reportó por primera vez se ha evaluado su administración en ratas jóvenes (Ganote y col., 1974; Peterson y Carone, 1979; Williams y col., 2003; Orozco-Ibarra y col., 2007; Hasewaga y col., 2018) y no se encontraron antecedentes sobre estos experimentos en ratas envejecidas. Por otro lado, experimentos en ratones sugieren que la D-serina podría tener efectos protectores al suprimir el daño tubular renal en un modelo de isquemia (Nakade y col., 2018). Sin embargo, cabe mencionar que la D-serina no es nefrotóxica en ratones, cerdos de guinea, conejos, perros y hamsters (Yamanaka y col., 2012). De manera que, con nuestros resultados podríamos suponer que la D-serina no provoca lesiones relacionadas con nefrotoxicidad en ratas envejecidas ya que podría participar en otros mecanismos relacionados con el receptor NMDA.

En este sentido, se encontró que la subunidad NR1 de este receptor se expresa en corteza, médula y pelvis renal principalmente de riñones de ratas (Ma y col., 2008). Su distribución no es homogénea e incluye el glúmerulo, podocitos y células mesangiales (Dryer, 2015), el túbulo proximal y distal (Gill y Pulido, 2001) y estructuras fibrosas entre el uroepitelio y las capas del músculo liso, además de la parte final de los nervios aferentes renales (Ma y col., 2008). Al mismo tiempo, se ha encontrado evidencia de la presencia de su coagonista D-serina, que también es sintetizado en riñones de rata por la enzima Serina Racemasa (Montesinos y Mani, 2016), esta enzima se expresa principalmente en la pelvis renal y la médula, y en menor cantidad en corteza renal (Ma y col., 2008). Debido a la presencia de ambos en el riñón, se intentó determinar el papel del sistema D-serina-NMDA en sus funciones. Ma y col (2008) reportaron que el receptor NMDA puede actuar como un mecano-receptor que detecta aumentos en la presión intrapélvica respondiendo con la liberación de la sustancia P y aumentado al mismo tiempo la actividad del nervio renal aferente lo que conduce a la inhibición del reflejo renorenal. En una perspectiva diferente, Deng y Thomson (2009) bloquearon el receptor NMDA en una sola nefrona usando el antagonista MK801 que resultó en una disminución en la tasa de

filtración glomerular y en la reabsorción proximal. Además, en estudios sobre la hiperfunción del receptor NMDA se demostró que en un modelo de insuficiencia renal aguda con ratas que padecían endotoxemia inducida por lipopolisacárido (LPS), LPS induce la liberación de IL-1B que causa una sobreactivación de NR-1 y SR que conduce a una insuficiencia de perfusión renal y ultrafiltración (Lin y col., 2015). Tomando en cuenta estos datos, nos indican que los efectos del receptor NMDA a nivel funcional en riñón podrían ser comparables a los que se observan en el sistema nervioso, ya que su actividad promueve la plasticidad neuronal mientras que una sobre activación de este conlleva a neurotoxicidad (Lewerenz y Maher, 2015).

Si el receptor NMDA juega un papel en la filtración glomerular y se ve estimulada incluso en riñones envejecidos donde su función disminuye, el aumento de la longitud de las células en riñones tratados con D-serina podría deberse a un mecanismo compensatorio. Tomando en cuenta que cada célula que conforma al túbulo, está adaptada en su superficie apical, frente a la luz tubular, con microvellosidades densamente compactadas que constituyen el borde en cepillo y poseen propiedades contráctiles para maximizar la eficiencia de reabsorción (Carlson, 2019). La hipertrofia es uno de los mecanismos propuestos que pueden aumentar el área de la superficie apical en las células epiteliales renales (Fattah y col., 2019), ya que se ha visto que durante este periodo se ha reportado un mayor crecimiento en túbulos proximales (Al-Awqati, 2014). Esta se ha asociado con el crecimiento renal compensatorio debido a una reducción en la masa renal, que hace frente a la carga de trabajo adicional y mantiene la función del riñón, aunque el desencadenante real que detecta la mayor carga de trabajo e inicia la hipertrofia aún se desconoce (Wessely y col., 2014). También se ha observado esto mismo en situaciones patológicas, como en los inicios de la diabetes donde hay un incremento en el tamaño de los riñones debido principalmente por el crecimiento de los túbulos proximales como respuesta al aumento en la filtración glomerular (Vallon y Thomson, 2020), lo que podría ser consistente con un reporte de ensanchamiento y alargamiento significativo de riñones de ratas previamente tratadas con D-serina (Williams y col., 2003). Sin embargo, es necesario hacer un análisis histológico en túbulos rectos

proximales de ratas de 6 meses para comparar estas características con las de animales jóvenes.

## 7. CONCLUSIONES

La suplementación crónica de D-serina no modifica la morfología de las ramificaciones dendríticas a ninguna de las dosis administradas. Sin embargo, se observó que a dosis altas (300 mg/kg) aumento el número de espinas filopodias y delgadas. Por otro lado, del análisis de la morfología del riñón se concluye que a dosis altas (300 mg/kg) aumento la longitud de las células que conforman el túbulo mientras que con el tratamiento a dosis bajas (30 mg/kg) se observo un aumento en la longitud de las células pero sin cambios significativos en las otras mediciones. Por lo que podemos concluir que en ratas envejecidas no se observan lesiones relacionadas con nefrotoxicidad en ambas dosis de D-serina.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

**Ahmed S**, Goh WI y Bu W. I-BAR domains, IRSp53 and filopodium formation. *Seminars in Cell Developmental Biology*. **2010**; 21: 350-356.

**Al-Awqati Q**. Kidney growth and hypertrophy: the role of mTOR and vesicle trafficking. *The Journal of clinical investigation*. **2015**; 125: 2267–2270.

**Andreae LC** y Burrone J. Spontaneous Neurotransmitter Release Shapes Dendritic Arbors via Long-Range Activation of NMDA Receptors. *Cell reports*. **2015**; 10: 873–882.

**Angel JL**, Vega W y López-Ortega M. Aging in Mexico: Population Trends and Emerging Issues. *The Gerontologist*. **2016**; 57: 153-162.

**Araque A**, Parpura V, Sanzgiri RP, Haydon PG. Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends Neuroscience*. **1999**; 22: 208-215.

**Arikkath, J**. Molecular mechanisms of dendrite morphogenesis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. **2012**; 6: 61.

**Avellar** M, Scoriels L, Madeira C, Vargas-Lopes C, Marques P, Dantas C, Manhães AC, Leite H y Panizzutti R. The effect of D-serine administration on cognition and mood in older adults. *Oncotarget*. **2016**; 7: 11881-11888.

**Ávila** J, Llorens-Martín M, Pallas-Bazarra N, Bolós Ma, Perea JR, Rodríguez-Matellán A y Hernández F. Cognitive Decline in Neuronal Aging and Alzheimer's Disease: Role of NMDA Receptors and Associated Proteins. *Frontiers in Neuroscience*. **2017**; 11: 626.

**Bado** P, Madeira C, Vargas-Lopes C, Moulin TC, Wasilewska-Sampaio AP, Maretti L, de Oliveira RV, Amaral OB y Panizzutti R. Effects of low-dose D-serine on recognition and working memory in mice. *Psychopharmacology*. **2011**; 218: 461–470.

**Balu** DT, Li Y, Puhl MD, Benneyworth MA, Basu AC, Takagi S, Bolshakov VY y Coyle JT. Multiple risk pathways for schizophrenia converge in serine racemase knockout mice, a mouse model of NMDA receptor hypofunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **2013**; 110: E2400–E2409.

**Balu** DT, Takagi S, Puhl MD, Benneyworth, MA y Coyle JT. D-Serine and Serine Racemase are Localized to Neurons in the Adult Mouse and Human Forebrain. *Cellular and Molecular Neurobiology*. **2014**; 34: 419–435.

**Bardaweel** SK, Alzweiri M y Ishaqat AA. D-Serine in Neurobiology: CNS Neurotransmission and Neuromodulation. *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien Des Sciences Neurologiques*. **2014**; 41: 164–176.

**Bello-Medina** PC, Flores G, Quirarte GL, McGaugh JL y Alcalá RAP. Mushroom spine dynamics in medium spiny neurons of dorsal striatum associated with memory of moderate and intense training. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2016**; 113: E6516-E6525.

**Berry** KP y Nedivi E. Spine Dynamics: Are They All the Same?. *Neuron*. **2017**; 96: 43–55.

**Billard** JM. D-serine in the aging hippocampus. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2015**; 116: 18-24.

**Bloodgood** BL, Sabatini BL. NMDA Receptor-Dependent Long-Term Potentiation and Long-Term Depression (LTP/LTD). En: Van Dongen AM, Ed. *Biology of the NMDA Receptor*. Boca Raton (FL), **2009**: 250.

**Bloom** DE, Canning D y Lubet A. Global Population Aging: Facts, Challenges, Solutions & Perspectives. *Daedalus*. **2015**; 144: 80–92.

**Bloss** EB, Janssen WG, Ohm DT, Yuk FJ, Wadsworth S, Saardi KM, McEwen BS y Morrison JH. Evidence for reduced experience-dependent dendritic spine plasticity in the aging prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience*. **2011**; 31: 7831-7839.

**Boros** BD, Greathouse KM, Gentry EG, Curtis KA, Birchall EL, Gearing M y Herskowitz. Dendritic spines provide cognitive resilience against Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*. **2017**; 82: 602-614.

**Bosch** M y Hayashi Y. Structural plasticity of dendritic spines. *Current opinion in neurobiology*. **2012**; 22: 383–388.

**Bourne** J y Harris KM. Do thin spines learn to be mushroom spines that remember?. *Current opinion in neurobiology*. **2007**; 17: 381–386.

**Caputo** C y Jaffe E. Transmisión sináptica. En: Tresguerres JAF, Ed. *Fisiología humana*. Madrid: McGraw-Hill, **2005**: 56-59.

**Carlson** BM. The Urinary System. En: Carlson BM, Ed. *The human body: Linking Structure and Function*. Londres: Academic Press, **2019**: 357-372.

**Carroll**, MA. Cognitive Aging and Changes in Brain Morphology. *Topics in Geriatric Rehabilitation*. **2018**; 34: 1–7.

**Chang** J, Nakahat Y, Hayano Y y Yasuda R. Mechanisms of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase II activation in single dendritic spines. *Nature Communication*. **2019**; 10: 2784.

**Chen** BS, Thomas EV, Sanz-Clemente A y Roche KW. NMDA receptor-dependent regulation of dendritic spine morphology by SAP102 splice variants. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. **2011**; 31: 89–96.

**Cheng** D, Hoogeraad C, Rush J, Ramm E, Schlager MA, Duong DM, Xu P , Wijayaeardana, SR, Hanfelt J y Nakagawa T. Relative and absolute quantification of postsynaptic density proteome isolated from rat forebrain and cerebellum. *Molecular & Cellular Proteomics*. **2006**; 5: 1158-1170.

**Chudasama** Y. Animal models of prefrontal-executive function. *Behavior Neuroscience*. **2011**; 125: 327–343.



**Cioffi CL.** Modulation of NMDA receptor function as a treatment for schizophrenia. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2013**; 23: 5034–5044.

**Colgan LA,** Hu M, Misler JA, Parra-Bueno P, Moran CM, Leitges M y Yasuda R. PKC $\alpha$  integrates spatiotemporally distinct Ca<sup>2+</sup> and autocrine BDNF signaling to facilitate synaptic plasticity. *Nature Neuroscience*. **2018**; 21: 1027–1037.

**da Costa JP,** Vitorino R, Silva GM, Vogel C, Duarte AC y Rocha-Santos T. A synopsis on aging-Theories, mechanisms and future prospects. *Ageing Research Reviews*. **2016**; 29: 90–112.

**Dajani DR y Uddin LQ.** Demystifying cognitive flexibility: Implications for clinical and developmental neuroscience. *Trends in neurosciences*. **2015**; 38: 571–578.

**Darvas M y Palmiter RD.** Specific contributions of N-methyl-d-aspartate receptors in the dorsal striatum to cognitive flexibility. *Neuroscience*, **2015**; 284: 934–942.

**Dauvermann MR,** Lee G y Dawson, N. Glutamatergic regulation of cognition and functional brain connectivity: insights from pharmacological, genetic and translational schizophrenia research. *British journal of pharmacology*. **2017**; 174: 3136-3160.

**Davalli P,** Mitic T, Caporali A, Lauriola A y D'Arca D. ROS, Cell Senescence, and Novel Molecular Mechanisms in Aging and Age-Related Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2016**: 1-18.

**Deng A y Thomson SC.** Renal NMDA receptors independently stimulate proximal reabsorption and glomerular filtration. *American Journal Physiology - Renal Physiology*. **2009**; 296: F976-F982.

**Denic A,** Glasscock RJ y Rule AD. Structural and Functional Changes With the Aging Kidney. *Advances in chronic kidney disease*. **2016**; 23: 19–28.

**Diamond A.** Executive functions. *Annual Review Psychology*. **2013**; 64: 135–168

**Dickstein DL,** Kabaso D, Rocher AB, Luebke JI, Wearne SL y Hof PR. Changes in the structural complexity of the aged brain. *Aging cell*. **2007**; 6: 275-284.

**Dickstein DL,** Weaver CM, Luebke JI & Hof PR. Dendritic spine changes associated with normal aging. *Neuroscience*. **2012**; 251: 21–32.

**Dorostkar MM,** Zou C, Blazquez-Llorca L y Herms J. Analyzing dendritic spine pathology in Alzheimer's disease: problems and opportunities. *Acta neuropathologica*. **2015**; 130: 1-19.

**Dotson** VM, Szymkowicz SM, Sozda CN, Kirton JW, Green ML, O'Shea A, McLaren ME, Anton SD, Manini TM y Woods AJ. Age differences in prefrontal surface area and thickness in middle aged to older adults. *Frontiers in aging neuroscience*. **2016**; 7: 250.

**Dryer** SE. Glutamate receptors in the kidney. *Nephrology Dialysis Transplantation*. **2015**; 30: 1630–1638.

**Durrant** AR y Heresco-Levy U. D-Serine in Neuropsychiatric Disorders: New Advances. *Advances in Psychiatry*. **2014**; 40: 1-16.

**Ebrahimi** S y Okabe S. Structural dynamics of dendritic spines: Molecular composition, geometry and functional regulation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. **2014**; 1838: 2391–2398.

**Emoto** K. Signaling mechanisms that coordinate the development and maintenance of dendritic fields. *Current Opinion in Neurobiology*. **2012**; 22: 805–811.

**Ewald** RC, Van Keuren-Jensen KR, Aizenman CD y Cline HT. Roles of NR2A and NR2B in the development of dendritic arbor morphology in vivo. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. **2008**; 28: 850–861.

**Fattah** H, Layton A y Vallon V. How do Kidneys Adapt to a Deficit or Loss in Nephron Number? *Physiology*. **2019**; 34: 189–197.

**Forrest** MP, Parnell E y Penzes P. Dendritic structural plasticity and neuropsychiatric disease. *Nature reviews. Neuroscience*. **2018**; 19: 215–234.

**Fortin** DA, Srivastava T y Soderling TR. Structural modulation of dendritic spines during synaptic plasticity. *The Neuroscientist*. **2012**; 18: 326-341.

**Foster** TC, Kyritsopoulos C y Kumar A. Central role for NMDA receptors in redox mediated impairment of synaptic function during aging and Alzheimer's disease. *Behavioral Brain Research*. **2017**; 322: 223–232.

**Frost** A, Unger VM y Camilli PD. The BAR domain superfamily: membrane molding macromolecules. *Cell*. **2009**; 137: 191-196.

**Fuster**, JM. Prefrontal Cortex. En: Squire LR, Ed. *Encyclopedia of Neuroscience*. California: Academic Press, **2009**: 905–908.

**Ganote** CE, Peterson DR y Carone FA. The nature of D-serine induced nephrotoxicity. *American Journal of Pathology*. **1974**; 77: 269-276.

**Gastambide** F, Mitchell SN, Robbins TW, Tricklebank MD, Gilmour G. Temporally distinct cognitive effects following acute administration of ketamine and phencyclidine in the rat. *European Neuropsychopharmacology*. **2013**; 23: 1414–1422.

**George** J, Baden DG, Gerwick WH y Murray TF. Bidirectional influence of sodium channel activation on NMDA receptor-dependent cerebrocortical neuron structural plasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **2012**; 109: 19840–19845.

**Ghani** MU, Mesadi F, Kanik SD, Argunşah AÖ, Hobbiss AF, Israely I, Ünay D, Taşdizen T y Çetin M. Dendritic spine classification using shape and appearance features based on two-photon microscopy. *Journal of Neuroscience Methods*. **2017**; 279: 13–21.

**Gilbert** SF. *Developmental Biology*. 6ta edición. Sunderland: Sinauer Associates, **2000**: 738.

**Gill** SS y Pulido OM. Glutamate Receptors in Peripheral Tissues: Current Knowledge, Future Research, and Implications for Toxicology. *Toxicologic Pathology*. **2001**; 29: 208–223.

**González-Burgos** I, Velázquez-Zamora DA, González-Tapia D, Vázquez-Hernández N y Martínez-Torres NI. Plasticity of Dendritic Spines. Not Only for Cognitive Processes. En: Heinbockel T, Ed. *Synaptic Plasticity*. Croacia :Intech Open, **2017**: 154-166.

**González-González** C, Sánchez-García S, Juárez-Cedillo T, Rosas-Carrasco O, Gutiérrez-Robledo LM y García-Peña C. Health care utilization in the elderly Mexican population: expenditures and determinants. *BMC Public Health*. **2011**; 11:192.

**Goto** Y, Yang CR y Otani, S. Functional and dysfunctional synaptic plasticity in prefrontal cortex: roles in psychiatric disorders. *Biological psychiatry*. **2012**; 67: 199–207.

**Guercio** GD y Panizzutti R. Potential and Challenges for the Clinical Use of D- Serine As a Cognitive Enhancer. *Frontiers of Psychiatry*. **2018**; 9: 14.

**Guercio** GD, Bevictori L, Vargas-Lopes C, Madeira C, Oliveira A, Carvalho VF, d'Avila JC y Panizzutti R. D-serine prevents cognitive deficits induced by acute stress. *Neuropharmacology*. **2014**; 86: 1–8.

**Haley** DP y **Bulger** RE. The aging male rat: structure and function of the kidney. *The American journal of anatomy*. **1983**; 167: 1–13.

**Hao** J, **Rapp** PR, **Leffler** AE, **Leffler** SR, **Janssen** WG, **Lou** W, **McKay** H, **Roberts** JA, **Wearne** SL, **Hof** PR y **Morrison** JH. Estrogen alters spine number and morphology in prefrontal cortex of aged female rhesus monkeys. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. **2006**; 26: 2571–2578.

**Harada** CN, **Natelson Love** MC y **Triebel** KL. Normal cognitive aging. *Clinics in Geriatric Medicine*. **2013**; 29: 737–752.

**Hasegawa** H, **Masuda** N, **Natori** H, **Shinohara** Y y **Ichida** K. Pharmacokinetics and toxicokinetics of D-serine in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biochemical Analysis*. **2018**; 162: 264-271.

**Heresco-Levy** U, **Javitt** DC, **Ebstein** R, **Vass** A, **Lichtenberg** P, **Bar** G, **Catinari** S y **Ermilov** M. D-serine efficacy as add-on pharmacotherapy to risperidone and olanzapine for treatment-refractory schizophrenia. *Biological psychiatry*. **2005**; 57: 577–585

**Hering** H y **Sheng** M. Dendritic spines: structure, dynamics and regulation. *Nature Reviews Neuroscience*. **2001**; 2: 880-888.

**Higley** MJ y **Sabatini** BL. Calcium signaling in dendritic spines. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. **2012**; 4: a005686.

**Holtmaat** A, **Svoboda** K. Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nature Reviews Neuroscience*. **2009**; 10: 647–658.

**Hotulainen** P y **Hoogenraad** CC. Actin in dendritic spines: connecting dynamics to function. *Journal of Cell Biology*. **2010**; 189: 619-629.

**INEGI**. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Mujeres y hombres en México, México. [página de internet]. Ciudad de México, México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2016 [consultado 2019 agosto 28]. Disponible en: <http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/mujeresyhombres.aspx?tema=P>.

**Jan** YN y **Jan** LY. Branching out: mechanisms of dendritic arborization. *Nature reviews. Neuroscience*. **2010**; 11:316–328.

**Jaul** E y **Barron** J. Age-Related Diseases and Clinical and Public Health Implications for the 85 Years Old and Over Population. *Frontiers in Public Health*. **2017**; 5: 335.

**Ju J** y **Zhou Q**. Dendritic Spine Modifications in Brain Physiology. En: Chaban V, Ed. Neuroplasticity - Insights of Neural Reorganization. California: IntechOpen, **2018**: 148- 165.

**Kandel ER** y **Siegelbaum SA**. Integración sináptica. En: Kandel ER, Schwartz JH y Jessell TM, Ed. Principios de Neurociencia. Reino Unido, McGraw Hill, **2013**: 207-228.

**Kane AE** y **Sinclair DA**. Epigenetic changes during aging and their reprogramming potential. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology. **2019**; 54: 61-83.

**Kanjhan R**, **Noakes PG** y **Bellingham MC**. Emerging roles of filopodia and dendritic spines in motoneuron plasticity during development and disease. Neural plasticity. **2016**; 2016.

**Kantrowitz JT**, **Malhotra AK**, **Cornblatt B**, **Silipo G**, **Balla A**, **Suckow RF**, **D'Souza C**, **Saksa J**, **Woods SW** y **Javitt DC**. High dose D-serine in the treatment of schizophrenia. Schizophrenia research. **2010**; 121: 125–130.

**Kasai H**, **Matsuzaki M**, **Noguchi J**, **Yasumatsu N** y **Nakahara H**. Structure-stability-function relationships of dendritic spines. Trends Neuroscience. **2003**; 26: 360–368.

**Kempell AT** y **Fieber LA**. Age-related deficits in synaptic plasticity rescued by activating PKA or PKC in sensory neurons of *Aplysia californica*. Frontiers in aging neuroscience. **2015**; 7: 173.

**Kennedy M. B**. Synaptic Signaling in Learning and Memory. Cold Spring Harbor perspectives in biology. **2013**; 8: a016824.

**Koeberle SC**, **Tanaka S**, **Kuriu T**, **Iwasaki H**, **Koeberle A**, **Schulzs A**, **Helbing DL**, **Yamagata Y**, **Morrison H** y **Okabe S**. Developmental stage-dependent regulation of spine formation by calcium-calmodulin-dependent protein kinase II $\alpha$  and Rap1. Science Report. **2017**; 7: 13409.

**Korobova F** y **Svitkina T**. Molecular architecture of synaptic actin cytoskeleton in hippocampal neurons reveals a mechanism of dendritic spine morphogenesis. Molecular biology of the cell. **2010**; 21: 165–176.

**Kumar** G, Olley J, Steckler T y Talpos, J. Dissociable effects of NR2A and NR2B NMDA receptor antagonism on cognitive flexibility but not pattern separation. *Psychopharmacology*. **2015**; 232: 3991-4003.

**Kumar**, A. NMDA Receptor Function during senescence: implication on cognitive performance. *Frontiers in Neuroscience*. **2015**; 9: 473.

**Kwon** HB y Sabatini BL. Glutamate induces de novo growth of functional spines in developing cortex. *Nature*. **2011**; 474: 100–104.

**Lai** KO y Ip NY. Structural plasticity of dendritic spines: The underlying mechanisms and its dysregulation in brain disorders. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. **2013**; 1832: 2257–2263.

**Lewerenz** J y Maher P. Chronic Glutamate Toxicity in Neurodegenerative Diseases-What is the Evidence?. *Frontiers in neuroscience*. **2015**; 9: 469.

**Li** Z, Van Aelst L y Cline HT. Rho GTPases regulate distinct aspects of dendritic arbor growth in *Xenopus* central neurons in vivo. *Nature neuroscience*. **2000**; 3: 217–225.

**Lin** CS, Hung SF, Huang HS y Ma MC. Blockade of the N-Methyl-D-Aspartate Glutamate Receptor Ameliorates Lipopolysaccharide-Induced Renal Insufficiency. *PLOS ONE*. **2015**; 10: e0132204.

**Lin** H, Huganir R y Liao, D. Temporal dynamics of NMDA receptor-induced changes in spine morphology and AMPA receptor recruitment to spines. *Biochemical and biophysical research communications*. **2004**; 316: 501–511.

**Lipina** T, Labrie V, Weiner I y Roder J. Modulators of the glycine site on NMDA receptors, d-serine and ALX 5407, display similar beneficial effects to clozapine in mouse models of schizophrenia. *Psychopharmacology*. **2005**; 179: 54–67.

**Liu** H, Yang Y, Xia Y, Zhu W, Leak RK, Wei Z, Wang J y Hu, X. Aging of cerebral white matter. *Ageing research reviews*. **2017**; 34: 64-76.

**Liu** J, Chang L, Song Y, Li H y Wu Y. The Role of NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*. **2019**; 13, 43.

**López-Hidalgo** M, Salgado-Puga K, Alvarado Martínez R, Medina Fragoso C, Prado-Alcala R y Garcia Colunga J. Nicotine uses neuron-glia communication to enhance hippocampal synaptic transmission and long-term memory. *PLoS ONE*. **2012**; 7: e49998.

**Lüscher** C y Malenka, RC. NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. **2012**; 4: a005710.

**Ma** MC, Huang HS, Chen YS y Lee SH. Mechanosensitive N-Methyl-D-Aspartate Receptors Contribute to Sensory Activation in the Rat Renal Pelvis. *Hypertension*. **2008**; 52: 938–944.

**MacKay** MB, Kravtsenyuk M, Thomas R, Mitchell ND, Dursun SM y Baker GB. D-Serine: Potential Therapeutic Agent and/or Biomarker in Schizophrenia and Depression?. *Frontiers in Psychiatry*. **2019**;10: 25.

**Maekawa** M, Okamura T, Kasai N, Hori Y, Summer KH y Konno R. D-aminoacid oxidase is involved in D-serine-induced nephrotoxicity. *Chemistry Research in Toxicology*. **2005**; 18: 1678-82.

**Manrique-Espinoza** B, Salinas-Rodríguez A, Moreno-Tamayo KM, Acosta-Castillo I, Sosa-Ortiz AL, Gutiérrez-Robledo LM y Téllez-Rojo MM. Condiciones de salud y estado funcional de los adultos mayores en México. *Salud Pública de México*. **2013**; 55: S323-S331.

**Matsuzaki** M y Kasai H. Two-photon uncaging microscopy. *Cold Spring Harbor protocols*. **2011**; 2011: pdb.prot5620.

**Mattson** MP y Arumugam TV. Hallmarks of Brain Aging: Adaptive and Pathological Modification by Metabolic States. *Cell Metabolism*. **2018**; 27: 1176–1199.

**Maynard** S, Fang EF, Scheibye-Knudsen M, Croteau DL y Bohr VA. DNA Damage, DNA Repair, Aging, and Neurodegeneration. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. **2015**; 5: a025130.

**Mc Auley** MT, Guimera AM, Hodgson D, McDonald N, Mooney KM, Morgan AE y Proctor CJ. Modelling the molecular mechanisms of aging. *Bioscience Reports*. **2017**; 37: BSR20160177.

**Melchiorretto** EF, Zeni M, Veronez DA, Martins EL y Fraga R. Quantitative analysis of the renal aging in rats. Stereological study. *Acta Cirurgica Brasileira*. **2016**; 31: 346–352.

**Montesinos** GC y Mani AR. The role of D-serine in peripheral tissues. *European Journal of Pharmacology*. **2016**; 780: 216–223.

**Morrison** JH y **Baxter** MG. The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline. *Nature reviews. Neuroscience*. **2012**; 13: 240–250.

**Mota** C, **Taipa** R, **das Neves** SP, **Monteiro-Martins** S, **Monteiro** S, **Palha** JA, **Sousa** N, **Sousa** JC y **Cerqueira** JJ. Structural and molecular correlates of cognitive aging in the rat. *Scientific reports*. **2019**; 9: 1-14.

**Mota** SI, **Ferreira** IL y **Rego** AC. Dysfunctional synapse in Alzheimer's disease – A focus on NMDA receptors. *Neuropharmacology*. **2014**; 76: 16–26.

**Murman** DL. The impact of age on cognition. *Seminars in Hearing*. **2015**; 36: 111-121.

**Nakade** Y, **Iwata** Y, **Furuichi** K, **Mita** M, **Hamase** K, **Konno** R, **Miyake** T, **Sakai** N, **Kitajima** S, **Toyama** T, **Shinozaki** Y, **Sagara** A, **Miyagawa** T, **Hara** A, **Shimizu** M, **Kamikawa** Y, **Sato** K, **Oshima** M, **Yoneda-Nakagawa** S, **Yamamura** Y, **Kaneko** S, **Miyamoto** T, **Katane** M, **Homma** H, **Morita** H, **Suda** W, **Hattori** M y **Wada** T .Gut microbiota-derived D-serine protects against acute kidney injury. *JCI Insight*. **2018**; 3: 20.

**Nakano** M, **Ito** Y, **Kohtani** K, **Mizuno** T y **Tauchi** H. Age-related change in brush borders of rat kidney cortex. *Mechanisms of ageing and development*. **1985**; 33: 95–102.

**Nava-Gómez** L, **Calero-Vargas** A, **Higinio-Rodríguez** F, **Vázquez-Prieto** B, **Olivares-Moreno** R, **Ortiz-Retana** J, **Hernández-Chan** N, **Rojas-Piloni** G, **Alcauter-Solórzano** S, **López-Hidalgo** M. **2020**. Aging Associated cognitive flexibility decline is prevented by d-serine. En preparación.

**Navaratnarajah** A y **Jackson** SHD. The physiology of ageing. *Medicine*. **2017**; 45: 6–10.

**Ng** AN, **Doherty** AJ, **Lombroso** PJ, **Emptage** NJ y **Collingridge** GL. Rapid regulation of endoplasmic reticulum dynamics in dendritic spines by NMDA receptor activation. *Molecular Brain*. **2014**; 7: 60.

**Niccoli** T y **Partridge** L. Ageing as a Risk Factor for Disease. *Current Biology*. **2012**; 22: R741–R752.

**Nikolich-Zugich** J, **Goldman** DP, **Cohen** PR, **Cortese** D, **Fontana** L, **Kennedy** BK, **Mohler** MJ, **Olshansky** SJ, **Perls** T, **Perry** D, **Richardson** A, **Ritchie** C, **Wertheimer**,



AM, Faragher RG y Fain MJ. Preparing for an Aging World: Engaging Biogerontologists, Geriatricians, and the Society. *The Journals of Gerontology*. **2015**; 71: 435-44.

**Nimchinsky** EA, Sabatini BL y Svoboda K. Structure and Function of Dendritic Spines. *Annual Review of Physiology*. **2002**; 64: 313–353.

**Noguchi** J, Nagaoka A, Hayama, T, Ucar H, Yagishita H, Takahashi N y Kasai H. Bidirectional *in vivo* structural dendritic spine plasticity revealed by two-photon glutamate uncaging in the mouse neocortex. *Science Report*. **2019**; 9: 13922.

**Nyberg** L, Salami A, Andersson M, Eriksson J, Kalpouzos G, Kauppi K, Lind J, Pudas S, Persson J y Nilsson, LG. Longitudinal evidence for diminished frontal cortex function in aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2010**; 107: 22682-22686.

**Orozco-Ibarra** M, Medina-Campos ON, Sánchez-González DJ, Martínez-Martínez CM, Floriano-Sánchez E, Santamaría A, Pedraza-Chaverri J. Evaluation of oxidative stress in d-serine induced nephrotoxicity. *Toxicology*. **2007**; 229: 123–135.

**Ozcan** AS. Filopodia: A Rapid Structural Plasticity Substrate for Fast Learning. *Frontiers in synaptic neuroscience*. 2017; 9: 12.

**Panatier** A, Arizono M y Nägerl UV. Dissecting tripartite synapses with STED microscopy. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. **2014**, 369: 20130597.

**Pannese** E. Morphological changes in nerve cells during normal aging. *Brain Structure and Function*. **2011**; 216: 85–89.

**Park** M, Salgado JM, Ostroff L, Helton TD, Robinson CG, Harris KM y Ehlers MD. Plasticity-induced growth of dendritic spines by exocytic trafficking from recycling endosomes. *Neuron*. **2006**; 52: 817–830.

**Park** P, Volianskis A, Sanderson TM, Bortolotto ZA, Jane DE, Zhuo M, Kaang BK and Collingridge GL. NMDA receptor-dependent long-term potentiation comprises a family of temporally overlapping forms of synaptic plasticity that are induced by different patterns of stimulation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. **2014**; 369: 20130131.

**Patterson** M y Yasuda R. Signalling pathways underlying structural plasticity of dendritic spines. *British Journal of Pharmacology*. **2011**; 163: 1626–1638.

**Peters** A y Kaiserman-Abramof IR. The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex. The perikaryon, dendrites and spines. *The American journal of anatomy*. **1970**; 127: 321–355.

**Peters** R. Ageing and the brain. *Postgraduate medical journal*. **2006**; 82: 84–88.

**Peterson** DR y Carone FA. Renal regeneration following D-serine induced acute tubular necrosis. *The Anatomical Record*. **1979**; 193: 383–387.

**Petralia** RS, Mattson MP y Yao PJ. Communication breakdown: the impact of ageing on synapse structure. *Ageing research reviews*. **2014**; 14, 31–42.

**Pini** L, Pievani M, Bocchetta M, Altomare D, Bosco P, Cavedo E, Galluzzi S, Marizzoni M y Frisoni GB. Brain atrophy in Alzheimer's Disease and aging. *Ageing Research Reviews*. **2016**; 30: 25-48.

**Potier** B, Turpin F, Sinet PM, Rouaud E, Mothet JP, Videau C, Epelbaum J, Dutar P, Billard JM. Contribution of the D-Serine-dependent pathway to the cellular mechanisms underlying cognitive aging. *Frontiers in Aging Neuroscience*. **2010**; 2: doi.org/10.3389/neuro.24.001.2010.

**Prasad** KN, Wu M y Bondy SC. Telomere shortening during aging: Attenuation by antioxidants and anti-inflammatory agents. *Mechanisms of Ageing and Development*. **2017**; 164: 61-66.

**Purves** D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, LaMantia AS, McNamara JO y Williams SM. *Neuroscience*. 2da edición. Sunderland: Sinauer Associates, **2001**:132-133.

**Qiao** H, Li MX, Xu C, Chen HB, An SC y Ma XM. Dendritic Spines in Depression: What We Learned from Animal Models. *Neural Plasticity*. **2016**; 2016: 1–26.

**Rattan** SI. Aging is not a disease: implications for intervention. *Aging and disease*. **2014**; 5: 196–202.

**Risher** WC, Patel S, Kim IH, Uezu A, Bhagat S, Wilton DK, Pilaz LJ, Alvarado JS, Calhan OY, Silver DL, Stevens B, Calakos N, Soderling SH y Eroglu C. Astrocytes refine cortical connectivity at dendritic spines. *eLife*. **2014**; 3: e04047.

**Risher** WC, Ustunkaya T, Singh Alvarado J y Eroglu C. Rapid Golgi analysis method for efficient and unbiased classification of dendritic spines. *PloS one*. **2014**; 9: e107591.

**Rizzo** V, Richman J y Puthanveettil SV. Dissecting mechanisms of brain aging by studying the intrinsic excitability of neurons. *Frontiers in aging neuroscience*. **2015**; 6: 337.

**Salavati** B, Daskalakis ZJ, Zomorodi R, Blumberger DM, Chen R, Pollock BG y Rajji TK. Pharmacological Modulation of Long-Term Potentiation-Like Activity in the Dorsolateral Prefrontal Cortex. *Frontiers in Human Neuroscience*. **2018**; 12: 155.

**Salinas-Rodríguez** A, Manrique-Espinoza B, Heredia-Pi I, Rivera-Almaraz A y Ávila-Funes JA. Healthcare costs of frailty: Implications of Long-term care. *The Journal of Post-Acute and Long-Term Care Medicine*. **2019**; 20:102-103.

**Seely** JC, Hard GC y Blankenship B. Urinary Tract. En: Suttie AW, Leininger JR y Bradley AE, Ed. *Boorman's Pathology of the rat*. Londres: Academic Press, **2018**: 125-166.

**Siddiqui** SV, Chatterjee U, Kumar D, Siddiqui A y Goyal, N. Neuropsychology of prefrontal cortex. *Indian journal of psychiatry*. **2008**; 50: 202.

**Sigler** A, Oh WC, Imig C, Altas B, Kawabe H, Cooper BH, Kwon HB, Rhee JS y Brose N. Formation and Maintenance of Functional Spines in the Absence of Presynaptic Glutamate Release. *Neuron*. **2017**; 94: 304–311.e4.

**Sin** WC, Haas K, Ruthazer ES, Cline HT. Dendrite growth increased by visual activity requires NMDA receptor and Rho GTPases. *Nature*. **2002**; 419: 475-480

**Solbakk** AK, Alpert GF, Furst AJ, Hale LA, Oga T, Chetty y Knight RT. Altered prefrontal function with aging: insights into age-associated performance decline. *Brain research*. **2008**; 1232; 30-47.

**Suzuki** M, Imanishi N, Mita M, Hamase K, Aiso S & Sasabe J. Heterogeneity of D-Serine Distribution in the Human Central Nervous System. *ASN Neuro*. **2017**; 9: 175909141771390.

**Tian** L, Stefanidakis M, Ning L, Van Lint P, Nyman-Huttunen H, Libert C, Itohara S, Mishina M, Rauvala H y Gahmberg CG. Activation of NMDA receptors promotes

dendritic spine development through MMP-mediated ICAM-5 cleavage. *The Journal of cell biology*. **2007**; 178: 687–700.

**Titorenko** VI. Molecular and Cellular Mechanisms of Aging and Age-related Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*. **2018**; 19, 2049.

**Tønnesen** J y Nägerl UV. Dendritic spines as tunable regulators of synaptic signals. *Frontiers in psychiatry*. **2016**; 7: 101.

**Tu** X, Yasuda R y Colgan LA. Rac1 is a downstream effector of PKC $\alpha$  in structural synaptic plasticity. *Scientific Report*. **2020**: 10, 1777.

**United Nations**. World Population Ageing 2017 - Highlights. Department of Economic and Social Affairs. **2017**:1-40.

**Urbanska** M, Blazejczyk M y Jaworski J. Molecular basis of dendritic arborization. *Acta neurobiologiae experimentalis*. **2008**; 68: 264–288.

**Uytun** MC. Development Period of Prefrontal Cortex. En: Starcevic A y Filipovic B, Ed. *Prefrontal Cortex*. Londres :IntechOpen, **2018**:4-22.

**Vallon** V, Thomson SC. The tubular hypothesis of nephron filtration and diabetic kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*. **2020**; 16: 317–336.

van Spronsen M y Hoogenraad CC. Synapse pathology in psychiatric and neurologic disease. *Current neurology and neuroscience reports*. 2010; 10: 207–214.

**Viadero** CF, Vélez RV y Santiago DC. Patrones de envejecimiento cerebral. *Revista Española de Geriátría y Gerontología*. **2017**; 52: 7-14.

**Wang** S, Chen M, Li Y, Shao Y, Zhang Y, Du S y Wu J. Morphological analysis of dendrites and spines by hybridization of ridge detection with twin support vector machine. *PeerJ*. **2016**. doi: 10.7717/peerj.2207.

**Wessely** O, Cerqueira DM, Tran U, Kumar V, Hassey JM y Romaker D. The bigger the better: determining nephron size in kidney. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*. **2014**; 29: 525–530.

**Williams** RE, Jacobsen M y Lock EA. <sup>1</sup>H NMR pattern recognition and <sup>31</sup>P NMR studies with d-Serine in rat urine and kidney, time- and dose-related metabolic effects. *Chemical Research in Toxicology*. **2003**; 162: 264-271.

**Wolosker**, H. The Neurobiology of d -Serine Signaling. *Advances in Pharmacology*. **2018**; 82: 325-48

**Wong** R, Michaels-Obregón A, Palloni A, Gutiérrez-Robledo LM, González-González C, López-Ortega M, Téllez-Rojo MM y Mendoza-Alvarado LR. Progression of aging in Mexico: the Mexican Health and Aging Study (MHAS) 2012. *Salud Pública de México*. **2015**; 57: S79-S89.

**Yabuki** A, Yoneshige S, Tanaka S, Tsujio M, Mitani S y Yamato O. Age-related histological changes in kidneys of Brown Norway rat. *The Journal of veterinary medical science*. **2014**; 76: 277–280.

**Yamanaka** M, Miyoshi Y, Ohide H, Hamase K y Konno R. D-Amino acids in the brain and mutant rodents lacking D-amino-acid oxidase activity. *Amino Acids*. **2012**; 43: 1811–1821.

**Yang** C y Svitkina, T. Filopodia initiation: focus on the Arp2/3 complex and formins. *Cell adhesion & migration*. **2011**; 5: 402–408.

**Yasuda** R. Molecular signaling during plasticity of dendritic spines. En: Stuart G, Spruston N, Hausser M, ed. *Dendrites*. Oxford University Press; Oxford, **2016**: 581-602.

**Zhou** Q, Homma KJ y Poo M. Shrinkage of Dendritic Spines Associated with Long-Term Depression of Hippocampal Synapses. *Neuron*. **2004**; 44: 749–757.

**Zhu** S, Stein RA, Yoshioka C, Lee CH, Goehring A, Mchaourab HS y Gouaux E. Mechanism of NMDA Receptor Inhibition and Activation. *Cell*. **2016**; 165: 704–714.