



División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Posgrado en Biología Experimental

**“EFECTO DE LA RESTRICCIÓN CRÓNICA DE SUEÑO SOBRE LA FUNCIÓN  
DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA, SENESCENCIA CELULAR,  
NEUROINFLAMACIÓN Y FUNCIÓN COGNITIVA DURANTE EL  
ENVEJECIMIENTO EN RATAS HEMBRA”**

**T E S I S**

Que para tener el grado de  
**Maestra en Biología Experimental**

P R E S E N T A

**ANA BELÉN RAMÍREZ LÓPEZ**

Matrícula: 2233803991

Correo: anarambel98@gmail.com

**DIRECTORA DE TESIS:**

Dra. Mina Königsberg Fainstein

**Asesora:** Dra. Anahí Chavarría Krauser

**Asesora:** Dra. María Fernanda Medina Flores

**Jurado:**

**Presidenta:** Dra. Adriana Alarcón Aguilar

**Secretaria:** Dra. Anahí Chavarría Krauser

**Vocal:** Dra. Mara Alaide Guzmán Ruiz

**Vocal:** Dra. Beatriz Gómez González

**Iztapalapa, Ciudad de México a 8 de enero del 2026**

“El Programa de Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del SECIHTI (ANTES CONACYT), registro 001481, en el Nivel Consolidado, y cuenta con apoyo del mismo Consejo, clave DAFCYT-2003IMPTNNN0020”.

Beca de manutención otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONAHCYT, ahora SECIHTI) para realizar estudios de posgrado (Número de registro de la beca otorgada por SECIHTI: **401433**)

Este trabajo de investigación fue realizado en el “Laboratorio de Neuropsicobiología” en el Área de Neurociencias, Departamento de Biología de la Reproducción, División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Así como en el “Laboratorio de Bioenergética y Envejecimiento Celular”, Departamento de Ciencias y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, México.

Parte de este trabajo se realizó en el Hospital General de México “Dr, Eduardo Liceaga” en el laboratorio de Neuroinmunología de la Unidad de Investigación en Medicina Experimental “Dr. Ruy Pérez Tamayo” de la Facultad de Medicina de la UNAM y en el “Laboratorio de sensorial II” del Departamento de Fisiología, de la Facultad de Medicina de la UNAM.

## **COMITÉ TUTORAL**

**Directora:**

**Dra. Mina Königsberg Fainstein**

Departamento de Ciencias Biológicas y de la Salud, CBS, Universidad Autónoma  
Metropolitana, Unidad Iztapalapa, México.

**Asesora:**

**Dra. Anahí Chavarría Krauser**

Facultad de Medicina, Unidad de Investigación en Medicina Experimental,  
Universidad Nacional Autónoma de México, México.

**Asesora:**

**Dra. María Fernanda Medina Flores**

Department of Cell Biology, Emory University School of Medicine, Atlanta, USA.

AGRADECIMIENTOS (Financiamiento).

Parte de este trabajo fue financiado por los proyectos:

Facultad de Medicina, UNAM, Dirección General de Personal Académico-PAPIIT  
(IN214821 and IN224624), UNAM, CONAHCYT Ciencia de Frontera 2019 (1783),  
and FORDECYT-PRONACES/263957

Ciencia Básica y de Frontera 2023-2024 CBF2023-2024-870

UNAM-PAPIIT: IA205523

## **DEDICATORIA**

La presente tesis la dedico a toda mi familia, especialmente a mi mamá Eva, porque a pesar de estar lejos de casa durante estos años siempre me diste tu apoyo y amor incondicional, gracias por ser siempre mi fuente de inspiración en cada paso que doy.

A mis hermanas, Suleima y Yuliana, a mis sobrinos Emir, Isai y Samara que siempre estuvieron ahí para animarme con cada muestra de cariño y amor. Gracias por confiar en mí siempre.

## **IN MEMORIAM**

En honor a mi papá Carlos Ramírez Quintana, quien fue y seguirá siendo mi fuente de inspiración y sabiduría. Aunque ya no estas físicamente conmigo, tu amor camina junto a mi corazón guiándome en cada paso que doy, cada logro siempre será por ti y para ti.

## **AGREDECIMIENTOS**

Desde el fondo de mi corazón agradezco a cada una de las personas que me acompañaron en este camino e hicieron posible culminar este proyecto.

Agradezco a la Dra. Mina Königsberg por haberme guiado en el proceso como mi directora de tesis. Gracias por la confianza brindada para poder llevar a cabo este proyecto, sus palabras de aliento en cada momento fueron parte fundamental para culminar esta etapa, fue un honor aprender de usted.

A la Dra. Beatriz Gómez por haberme abierto las puertas de su laboratorio y permitirme trabajar en el área que más me apasiona: las neurociencias. Me llevo grandes enseñanzas de su línea de investigación.

A la Dra. Anahí Chavarría por aceptar ser mi asesora en este proyecto, cada uno de sus comentarios enriquecieron este proyecto y mi formación académica, gracias por abrirme las puertas de su laboratorio para aprender de sus técnicas.

A la Dra. Mara Guzmán por sus valiosos comentarios y apoyo incondicional en mi último año de maestría, aprendí mucho de ti a lo largo de este tiempo. Gracias por enseñarme inmunofluorescencia y por permitirme terminar mis últimos experimentos en tu laboratorio.

A la Dra. Jessica Avilez, gracias por ser mi mentora desde licenciatura, he aprendido mucho de ti en el ámbito profesional como personal, gracias por nunca dejarme sola en cada uno de mis experimentos, sin tu ayuda no hubiera podido concluir.

A la Dra. Fernanda Medina por cada uno de tus comentarios y aportaciones para la realización de este proyecto.

Por último, pero no menos importante, a mis amigos quienes a lo largo de este tiempo se han convertido en mi segunda familia por elección.

A Yare Cruz, gracias por ser una de mis mejores amigas, por nunca soltarme cuando más lo necesitaba. Desde que me mudé a esta gran ciudad tu amistad fue un apoyo incondicional para mí, por cada momento compartido y por los que están por venir.

A Magy Jiménez, gracias por acompañarme nuevamente en otra meta personal y profesional. Gracias por tu amistad en estos años, tus palabras de aliento, así como risas compartidas hicieron el camino más ameno.

A mis amigos, Esmeralda Buendía y Mauricio Hernández, por las risas compartidas y los momentos amenos en los últimos meses, gracias por estar aun y en la distancia.

## RESUMEN EJECUTIVO

La barrera hematoencefálica (BHE) desempeña un papel esencial en el mantenimiento de la homeostasis y la integridad del sistema nervioso central. Diversa evidencia indica que la restricción de sueño induce un estado inflamatorio de bajo grado en el cerebro, el cual favorece la disfunción de la BHE y altera la expresión de proteínas de las uniones estrechas. Evidencia previa sugiere que la restricción de sueño a lo largo de 10 días en ratones macho jóvenes incrementa progresivamente la permeabilidad de la BHE, acompañada de un aumento de citocinas proinflamatorias como IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , así como de marcadores de senescencia celular, incluyendo la enzima  $\beta$ -galactosidasa y la proteína p21, tanto en corteza cerebral como en hipocampo. No obstante, se desconoce cómo estos mecanismos se manifiestan en hembras sometidas a restricción crónica de sueño durante el envejecimiento.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la restricción crónica de sueño sobre la integridad de la BHE, la neuroinflamación, la senescencia celular y la memoria declarativa durante el envejecimiento en ratas hembra. Se utilizaron ratas Wistar hembra sometidas a restricción de sueño durante 10 días consecutivos cada tres meses, desde los 6 hasta los 18 meses de edad (CSR old), así como un grupo de ratas jóvenes de 3 meses sometidas a una única restricción de sueño (SR young). Cada grupo contó con su respectivo control de edad. La restricción de sueño se realizó mediante la técnica de plataformas múltiples modificada.

Los resultados mostraron que la restricción crónica de sueño durante el envejecimiento incrementó la permeabilidad de la BHE en la corteza cerebral a trazadores de diferente peso molecular. En contraste, la restricción aguda de sueño en ratas jóvenes aumentó la permeabilidad únicamente al sodio fluoresceína en corteza cerebral e hipocampo. Estos cambios se asociaron con una disminución de la expresión de la proteína ZO-1 en la corteza cerebral, observándose niveles similares entre los grupos restringidos y el control envejecido.

En cuanto a la respuesta inflamatoria, los niveles de TNF- $\alpha$  estaban incrementados de igual manera en los grupos SR young, CSR old y su control, mientras que IL-1 $\beta$  se mantuvo sin cambios en la condición de restricción crónica y su control envejecido. En el hipocampo, la restricción aguda de sueño indujo un aumento de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, mientras que la restricción crónica solo se asoció con un incremento de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Respecto a la senescencia celular, la densidad óptica de SA- $\beta$ -galactosidasa en la corteza cerebral fue similar entre los grupos restringidos y el control envejecido, mientras que en el hipocampo el mayor incremento se observó en el grupo SR young.

Además, una sola restricción de sueño en ratas jóvenes es suficiente para deteriorar la memoria declarativa. En ratas envejecidas, la restricción crónica de sueño no agrava significativamente el deterioro cognitivo más allá del observado en el envejecimiento per se. En conjunto, estos hallazgos indican que la restricción de sueño tiene un impacto diferencial dependiente de la edad y región cerebral, siendo la restricción aguda en etapas tempranas de la vida un factor crítico para la inducción de disfunción de la BHE, neuroinflamación, senescencia celular y disfunción cognitiva, mientras que durante el envejecimiento la restricción crónica parece acelerar algunos procesos ya instaurados.

## LISTADO DE ABREVIATURAS UTILIZADAS

**A2AR:** Receptor de adenosina A2A

**BDNF:** Factor neurotrófico derivado del cerebro

**BHE:** Barrera hematoencefálica

**GFAP:** Proteína ácida fibrilar glial

**IBA-1:** molécula adaptadora 1 de unión a calcio ionizado

**IFN- $\gamma$ :** Interferón gamma

**IL-10:** Interleucina 10

**IL-1 $\beta$ :** Interleucina 1 beta

**IL-6:** Interleucina 6

**MCP-1:** Proteína quimioatrayente de monocitos-1

**MMP-9:** Metaloproteinasa de matriz 9

**MOR:** Movimientos oculares rápidos

**Na-F:** Sodio fluoresceína

**NF $\kappa$ B:** Factor nuclear kappa B

**NOMOR:** No movimientos oculares rápidos

**PCR:** Proteína c reactiva

**PDGFR - $\beta$ :** Receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas

**SASP:** Fenotipo secretor asociado a la senescencia

**SA- $\beta$ -gal:** enzima  $\beta$ -galactosidasa asociada a la senescencia

**TNF- $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral alfa

**ZO-1:** Zonula occludens 1

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1</b> Barrera hematoencefálica (BHE) .....	<b>1</b>
<b>1.2</b> Células endoteliales .....	<b>2</b>
<b>1.3</b> Uniones intercelulares .....	<b>3</b>
<b>1.4</b> Fisiología del sueño .....	<b>5</b>
<b>1.5</b> Restricción de sueño .....	<b>6</b>
<b>1.6</b> El sueño regula las funciones de la BHE .....	<b>7</b>
<b>1.7</b> Mediadores inflamatorios en la regulación de la BHE .....	<b>7</b>
<b>1.8</b> Envejecimiento .....	<b>9</b>
<b>1.9</b> Senescencia celular .....	<b>9</b>
<b>1.10</b> Deterioro cognitivo durante el envejecimiento .....	<b>11</b>
<b>1.11</b> Cambios en el sueño durante el envejecimiento .....	<b>13</b>
<b>1.12</b> Estudio del sueño en mujeres y modelos experimentales hembra .....	<b>14</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	<b>16</b>
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>17</b>
<b>4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>18</b>
<b>5. HIPÓTESIS</b> .....	<b>18</b>
<b>6. OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>19</b>
<b>7. OBJETIVOS PARTICULARES</b> .....	<b>19</b>
<b>8. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>19</b>
<b>8.1</b> Modelo animal .....	<b>19</b>
<b>8.2</b> Restricción crónica de sueño .....	<b>21</b>
<b>8.3</b> Ensayo de permeabilidad de la barrera hematoencefálica .....	<b>22</b>
<b>8.4</b> Western blot .....	<b>22</b>
<b>8.5</b> Procesamiento de cerebros para ELISA de citocinas y factor neurotrófico .....	<b>23</b>
<b>8.6</b> Evaluación de los niveles de citocinas y factor neurotrófico .....	<b>24</b>

8.7 Preparación de tejido cerebral para cortes histológicos.....	24
8.8 Ensayo de actividad de la enzima $\beta$ -galactosidasa asociada a la senescencia (SA- $\beta$ -gal) .....	25
8.9 Prueba de reconocimiento de objeto novedoso .....	26
8.10 Análisis estadístico .....	27
<b>9. RESULTADOS .....</b>	<b>28</b>
9.1 La restricción de crónica de sueño incrementa la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en la corteza cerebral de ratas hembra durante el envejecimiento .....	28
9.2 La restricción de sueño y el envejecimiento disminuyen la expresión de ZO-1 en la corteza cerebral de ratas hembra .....	30
9.3 La restricción crónica de sueño promueve un perfil inflamatorio en el hipocampo de ratas hembra durante el envejecimiento .....	32
9.4 La restricción crónica de sueño disminuye los niveles de IL-10 y BDNF en el hipocampo de ratas hembra durante el envejecimiento .....	34
9.5 La restricción de crónica de sueño no incrementa la actividad relativa de la enzima $\beta$ -galactosidasa en la corteza cerebral e hipocampo de ratas hembra durante el envejecimiento .....	36
9.6 La restricción de sueño no agrava el deterioro de la memoria en ratas hembra durante el envejecimiento .....	40
<b>10. DISCUSIÓN .....</b>	<b>44</b>
10.1 La restricción de sueño promueve cambios diferenciales en la permeabilidad de la BHE en ratas hembra .....	45
10.2 La restricción de sueño en diferentes etapas de la vida en ratas hembra promueve la inflamación hipocampal .....	46
10.3 La corteza cerebral no muestra un efecto inflamatorio acumulativo de la restricción crónica de sueño durante el envejecimiento .....	48

10.4 La restricción crónica de sueño no exagera la senescencia celular en el cerebro envejecido .....	49
10.5 La restricción de sueño no agrava el deterioro de la memoria durante el envejecimiento .....	50
11. CONCLUSIÓN .....	51
12. PERSPECTIVAS .....	52
13. REFERENCIAS .....	52

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura general de la barrera hematoencefálica .....	<b>2</b>
<b>Figura 2.</b> Uniones principales entre células endoteliales cerebrales .....	<b>4</b>
<b>Figura 3.</b> Diseño experimental .....	<b>21</b>
<b>Figura 4.</b> Imagen representativa de un corte coronal de cerebro de rata .....	<b>25</b>
<b>Figura 5.</b> La restricción crónica de sueño incrementa la permeabilidad de la BHE durante el envejecimiento .....	<b>29</b>
<b>Figura 6.</b> La restricción crónica de sueño disminuye los niveles de la proteína ZO-1 en la corteza cerebral durante el envejecimiento .....	<b>31</b>
<b>Figura 7.</b> La restricción crónica de sueño incrementa los niveles de citocinas proinflamatorias en el hipocampo durante el envejecimiento .....	<b>34</b>
<b>Figura 8.</b> La restricción crónica de sueño disminuye los niveles de IL-10 y BDNF en el hipocampo durante el envejecimiento en hembras .....	<b>36</b>
<b>Figura 9.</b> La restricción de sueño crónica no incrementa la actividad de la SA- $\beta$ -gal en corteza cerebral durante el envejecimiento .....	<b>37</b>
<b>Figura 10.</b> La restricción de sueño en hembras jóvenes incrementa la actividad de la SA- $\beta$ -gal en el hipocampo .....	<b>39</b>
<b>Figura 11.</b> La memoria declarativa disminuye en hembras envejecidas .....	<b>40</b>
<b>Figura 12.</b> La restricción crónica de sueño durante el envejecimiento causa una disminución en la memoria declarativa .....	<b>42</b>
<b>Figura 13.</b> La recuperación de sueño no mejora la memoria declarativa .....	<b>43</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Ejemplos de senescencia celular en células del sistema nervioso central .....	<b>10</b>
--	-----------

## **1. INTRODUCCIÓN**

El cerebro humano es el principal órgano que consume energía, recibiendo para esto el 20% del gasto cardiaco. Esta necesidad se ve reflejada en su alta irrigación sanguínea, ya que posee vasos sanguíneos que proporcionan oxígeno, energía, metabolitos y nutrientes a las células cerebrales, al tiempo que eliminan el dióxido de carbono y otros desechos metabólicos al sistema circulatorio (Kisler et al. 2017). El cerebro requiere el 20% de la glucosa y el oxígeno del cuerpo, mientras que representa solo el 2% de la masa corporal total, por lo que, para aumentar rápidamente el suministro de sangre y la transferencia de oxígeno a sus áreas activas, emplea un mecanismo que se conoce como acoplamiento neurovascular (Iadecola. 2013).

La actividad cerebral es altamente dependiente del equilibrio del medio extracelular, el balance iónico y la presencia de diversas sustancias químicas como neurotransmisores son cruciales para el funcionamiento de los diversos núcleos y ganglios del sistema nervioso, es por esta razón que el transporte de solutos este sistema está altamente regulado y controlado por una barrera que separa las principales interfaces entre la sangre y el tejido neural entre ellas, la principal es la barrera hematoencefálica (BHE) (Bernardo-Castro et al. 2020).

### **1.1 Barrera hematoencefálica**

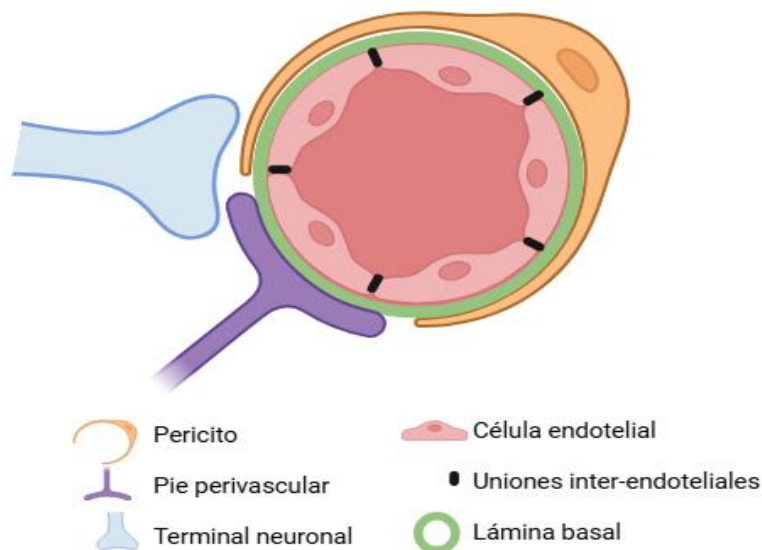
La BHE es una estructura fisiológica dinámica que constituye una interfaz entre el sistema vascular y el parénquima del sistema nervioso, regulando diversos procesos como el flujo sanguíneo cerebral, la angiogénesis, el desarrollo neuronal y la actividad sináptica (Pandit, Chen & Götz. 2020). También actúa como una barrera física y metabólica (Xie et al. 2019) que regula el transporte de sustancias de forma bidireccional (Jiang et al. 2018) y protege al sistema nervioso central (SNC) de compuestos potencialmente neurotóxicos, con lo que desempeña un papel crucial en el mantenimiento de su homeostasis (Xie et al. 2019, Jiang et al. 2018).

La BHE, además, evita que las células sanguíneas, los componentes plasmáticos y los patógenos ingresen al cerebro. La BHE está constituida por células vasculares

(células endoteliales, pericitos), la glía (astrocitos) y las neuronas que en conjunto trabajan para preservar los componentes químicos del entorno neuronal y así mantener el cerebro funcionando adecuadamente (**Fig. 1**) (Zlokovic. 2011, Zhao et al. 2015).

## 1.2 Células endoteliales

Las células endoteliales microvasculares del cerebro representan el componente central de la BHE y el sitio fundamental de depuración de posibles metabolitos de desecho (Wei et al. 2023). Presentan características morfológicas, estructurales y funcionales que las distinguen de otros endotelios vasculares. Estos incluyen: (1) la expresión de uniones estrechas, que sellan las vías paracelulares entre células endoteliales adyacentes, impidiendo así el paso no regulado de moléculas polares entre la sangre y el cerebro; (2) la ausencia de fenestraciones; (3) la baja actividad pinocítica y la expresión de mecanismos de transporte activo para regular el paso de moléculas esenciales (incluidos nutrientes y aminoácidos esenciales) al tiempo que bloquea el paso de sustancias potencialmente neurotóxicas (tanto endógenas como xenobióticas) (Ballabh et al. 2004).



**Figura 1 | Estructura general de la barrera hematoencefálica.** La imagen muestra la organización de las células que forman la barrera hematoencefálica.

### 1.3 Uniones intercelulares

Las uniones ocluyentes y adherentes constituyen el complejo de unión intercelular de la BHE y están presentes en los sitios de fusión que involucran la superficie externa de la membrana plasmática de las células endoteliales adyacentes o de la misma célula. Este tipo de uniones sellan los puntos de contacto entre las células endoteliales, impidiendo el transporte paracelular de iones, macromoléculas y solutos polares (**Fig. 2**) (Nishibori et al. 2020).

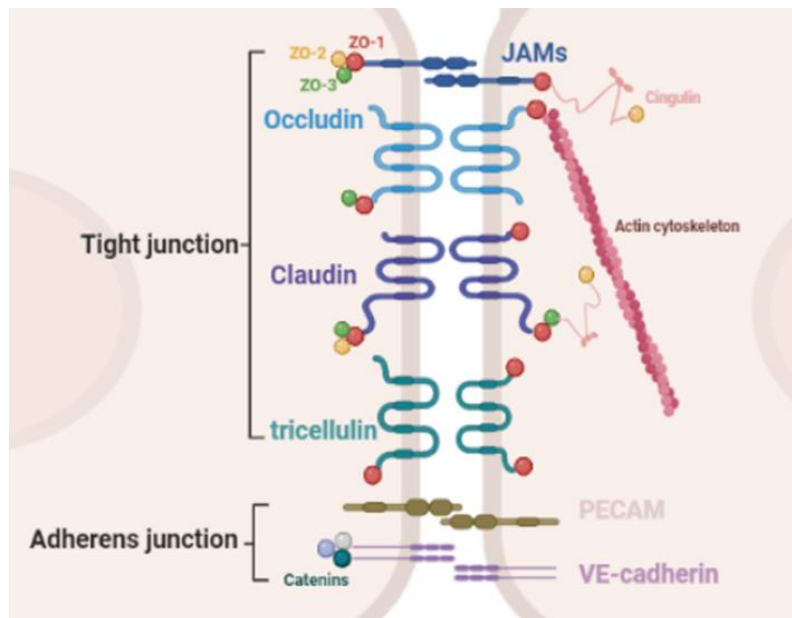
Las uniones adherentes están compuestas por un complejo de cadherina-catenina y sus proteínas asociadas; mientras que las uniones ocluyentes constan de tres proteínas integrales de membrana: claudina, ocludina, (JAMS). Además de varias proteínas accesorias citoplasmáticas, incluidas las proteínas zónula occludens-1, -2, -3 (ZO-1, ZO-2, ZO-3), cingulina y otras. Las proteínas citoplasmáticas unen las proteínas de membrana con la actina, que es la proteína principal del citoesqueleto para el mantenimiento de la integridad estructural y funcional del endotelio (Kadry, Noorani & Cucullo. 2020).

A diferencia de las uniones ocluyentes, responsables de regular las propiedades de barrera paracelular del endotelio, las uniones adherentes son esenciales para la formación y estabilización de esas uniones ocluyentes, así como para mediar las interacciones adhesivas entre células (Tietz & Engelhardt. 2015, Qin et al. 2019). Estas uniones adherentes sostienen la integridad del tubo vascular y contribuyen al mantenimiento de la BHE principalmente a través de la cadherina endotelial vascular, cuya modulación impacta directamente en la permeabilidad paracelular. Se localizan predominantemente en la cara basolateral de las células endoteliales, mientras que las uniones estrechas se sitúan en la región apical y se encuentran estructuralmente integradas dentro del complejo adherente (Komarova et al. 2017, Alcaide et al. 2008).

Las uniones ocluyentes separan la porción luminal de la región basolateral de las células endoteliales (Liebner, Czupalla & Wolburg. 2011). A través del endotelio, hay una rápida difusión libre de oxígeno de la sangre al cerebro y una difusión de dióxido de carbono en la dirección opuesta, lo cual es esencial para el metabolismo cerebral

normal y la regulación del pH en el líquido intersticial cerebral, las neuronas y otras células de la unidad neurovascular. Además, pequeñas moléculas lipofílicas, con un peso molecular <400 daltones pueden cruzar la BHE (Pardridge. 2015). La glucosa, los aminoácidos y otros nutrientes ingresan al cerebro a través de transportadores. Por el contrario, la captación de moléculas más grandes como la insulina, la leptina y la transferrina se facilita mediante la endocitosis mediada por receptores (Pardridge, Eisenberg & Yang. 1985, Zhang & Pardridge. 2001).

Además de la influencia de las uniones ocluyentes y adherentes en la permeabilidad de la BHE, la integridad de la BHE puede ser regulada por otras proteínas de unión asociadas a las células endoteliales, como las integrinas, las anexinas, y la molécula de adhesión de células endoteliales plaquetarias-1 (PECAM-1) (Zaho et al. 2022).



**Figura 2 | Uniones principales entre células endoteliales cerebrales.** Se muestra la organización de las uniones estrechas y las uniones adherentes, así como las proteínas que las conforman. ZO-1, 2, 3 (zónula ocludens-1, -2, -3), JAMs (moléculas de adhesión de unión), PECAM (molécula de adhesión de células endoteliales plaquetarias), VE-cadherin (cadherina endotelial vascular). (Tomada de Zaho et al. 2022).

## 1.4 Fisiología del sueño

El sueño es un estado fisiológico activo, recurrente y reversible, caracterizado por una desconexión sensorial parcial y una disminución transitoria de la respuesta al entorno, que se repite cada 24 h. El propósito exacto del sueño no se ha dilucidado por completo, pero existen varias funciones que se realizan en este estado (Brinkman, Reedy & Sharma. 2023).

El sueño sigue un patrón cíclico relativamente predecible compuesto por dos estados principales: el sueño sin movimientos oculares rápidos (NOMOR o NREM) y el sueño con movimientos oculares rápidos (MOR o REM). El sueño NOMOR se subdivide en tres etapas (N1–N3) que representan una transición gradual desde un sueño ligero hasta un sueño profundo, cada una con características distintivas en la actividad electroencefalográfica, el tono muscular y los movimientos oculares. Como indica su nombre, el sueño NOMOR se caracteriza por movimientos oculares lentos poco frecuentes, mientras que el sueño MOR se define por la presencia de movimientos oculares rápidos (Brinkman, Reedy & Sharma. 2023).

El sueño inicia en las etapas ligeras NOMOR 1 y 2, y posteriormente progresa hacia la etapa profunda NOMOR 3. En conjunto, el sueño NOMOR constituye aproximadamente el 75–80% del tiempo total de sueño, mientras que el sueño MOR representa el 20–25% restante. Esta secuencia de etapas se repite a lo largo de la noche en ciclos sucesivos. El primer ciclo suele durar entre 70 y 100 minutos, mientras que los ciclos posteriores se prolongan entre 90 y 120 minutos cada uno. La proporción de sueño MOR aumenta progresivamente conforme avanza la noche: es mínima en los primeros ciclos y puede alcanzar hasta el 30% de los ciclos finales. En una noche típica se completan entre cuatro y cinco ciclos de esta arquitectura (Brinkman, Reedy & Sharma. 2023).

El requerimiento diario de sueño es distinto en todos los individuos, ya que depende de factores como la edad y el sexo, teniendo en cuenta que con menor edad es mayor el requerimiento de sueño diario. Es decir, durante la infancia se requiere alrededor de 18 h diarias de sueño en comparación a la adultez, donde la recomendación de sueño diaria es de 7-8 h continuas (Hirshkowitz et al. 2015). Sin

embargo, actualmente la calidad y cantidad de sueño se ha visto afectado por diversos factores que incluyen el ritmo de vida acelerado, las condiciones ambientales, así como el acceso a dispositivos electrónicos en horarios inadecuados, considerándose así un problema de salud pública (Chattu et al. 2018, Lim et al. 2023).

### **1.5 Restricción de sueño**

En condiciones experimentales de laboratorio se han generado paradigmas de reducción del tiempo de sueño, ya sea por privación de sueño, que se refiere a períodos continuos de ausencia total de sueño; fragmentación del sueño, que conlleva breves despertares a lo largo del episodio consolidado de sueño; y la restricción de sueño, también llamada privación parcial de sueño, que se define como la reducción de las horas de sueño por noche (Banks & Dinges. 2007, Magee et al. 2010, Mezick et al. 2013, Medina-Flores & Gómez-González. 2019). Los experimentos de restricción de sueño tratan de emular las condiciones de sueño del humano actual, el cual se restringe de sueño por una amplia gama de factores como: estudio, trabajos nocturnos, enfermedades, trastornos del sueño, responsabilidades sociales y domésticas, así como el uso de medios electrónicos durante la noche (Durmer & Dinges. 2005).

Como resultado de la interrupción del sueño, se han reportado numerosas consecuencias para la salud. Las consecuencias a corto plazo incluyen mayor sensibilidad al estrés; problemas somáticos; reducción de la calidad de vida; angustia emocional; trastornos del estado de ánimo y otros problemas de salud mental; déficits cognitivos, de memoria y de rendimiento (Medic, Wille, & Hemels. 2017), alteración de la BHE (Hurtado-Alvarado et al. 2017). Mientras que las consecuencias a largo plazo de la interrupción del sueño en personas sanas incluyen hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, problemas de peso, síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2 (Narang et al. 2012). La evidencia sugiere que la interrupción del sueño puede aumentar el riesgo de ciertos tipos de cáncer y de muerte. Además, puede empeorar los síntomas de algunos trastornos gastrointestinales (Medic, Wille, & Hemels. 2017).

En conjunto, estas consecuencias subrayan la importancia de estudiar la falta de sueño, ya que comprender sus mecanismos permite dimensionar su impacto real en la salud cerebral y general, así como identificar estrategias para prevenir o mitigar sus efectos a corto y largo plazo.

### **1.6 El sueño regula las funciones de la BHE**

Existe evidencia que demuestra que la endocitosis, un proceso involucrado en la eliminación de debris celulares, ocurre a través de la BHE durante el sueño, y la inhibición de este proceso aumenta la necesidad de dormir (Artiushin et al. 2018).

Por otro lado, se ha reportado que la restricción de sueño aumenta la permeabilidad de la BHE por medio del aumento de la señalización inflamatoria y la regulación a la baja de las proteínas de unión estrecha (He et al. 2014, Rochfort & Cummins. 2015, Hurtado-Alvarado et al. 2018), lo que induce la ruptura de la BHE y el incremento de su permeabilidad.

Nuestro grupo de investigación ha demostrado, en estudio pionero, que existe una correlación entre el sueño y el tráfico vesicular a través de la BHE en el modelo de restricción del sueño por 20 h al día con 4 h de oportunidad de sueño durante 10 días consecutivos. Usando la técnica de plataformas múltiples modificada, el estudio reveló un incremento en la permeabilidad de la BHE al trazador azul de Evans en casi todo el cerebro en los animales restringidos. Adicionalmente se encontró un aumento de 3 veces en el número de vesículas pinocíticas en las células endoteliales de la región CA3 del hipocampo. Mientras que breves períodos de recuperación de sueño restauraron parcialmente la permeabilidad de la BHE al reducir la transferencia del trazador azul de Evans de la sangre al cerebro. Estos datos sugieren que el sueño regula las propiedades físicas de la BHE (Gómez-González et al. 2013).

### **1.7 Mediadores inflamatorios en la regulación de la BHE**

Las consecuencias graves de la pérdida de sueño incluyen: disminución de la neurogénesis, disfunción cognitiva (déficits en el aprendizaje, la memoria y la toma de decisiones), alteraciones metabólicas, enfermedades cardiovasculares,

trastornos inmunitarios y disrupción de la BHE entre otras (Hurtado-Alvarado et al. 2016).

La investigación experimental ha demostrado que la pérdida de sueño aguda y crónica da lugar a alteraciones en la respuesta inmunitaria, caracterizada por déficits en el componente celular (tanto en número como en función) e induce un estado proinflamatorio leve a nivel sistémico caracterizado por el aumento de niveles circulantes de moléculas proinflamatorias, como el factor de crecimiento tumoral-  $\alpha$  (TFN- $\alpha$ ), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleucina 6 (IL-6), interleucina IL-17A (IL-17A) y la proteína C reactiva (PCR) (Hurtado-Alvarado et al. 2013, Avilez-Avilez et al. 2025). Así como un aumento en los niveles de otras moléculas inflamatorias como la ciclooxygenasa-2 (He et al. 2014), la enzima óxido nítrico sintasa, la endotelina-1, el factor de crecimiento endotelial vascular y el factor de crecimiento similar a la insulina-1 (He et al. 2014, Ibrahim et al. 2011).

Como se mencionó anteriormente, las uniones ocluyentes son componentes vitales que mantienen la integridad de la BHE y su funcionamiento normal, de modo que los cambios en estas uniones conducen directamente a la alteración de la BHE. Por ejemplo, las citocinas como IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y MCP-1, pueden conducir a una disminución en la expresión de proteínas de uniones ocluyentes, así como alteraciones en su acomodo (Huang, Hussain, & Chang. 2021, Nita et al. 2003).

Se ha reportado que ratones de la cepa C57BL/6 restringidos de sueño durante 10 días consecutivos durante 20 h por día con 4 h de oportunidad de sueño, incrementaron los niveles séricos de TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , además de un aumento en la permeabilidad de la BHE. El hipocampo de estos animales también mostró un proceso neuroinflamatorio, es decir la secreción de mediadores inflamatorios en SNC, como el marcador de macrófagos, IBA-1, del receptor de adenosina 2A (A2AR) y de la metaloproteinasas de matriz-9 (MMP-9). Estos datos sugieren que las citocinas podrían desempeñar un papel clave en la modulación de la función de la BHE durante la restricción de sueño, y probablemente los efectos estén relacionados con la sobreexpresión de dichos marcadores neuroinflamatorios (Hurtado-Alvarado et al. 2018).

Un factor clave que contribuye al desarrollo de neuroinflamación en el (SNC) es el envejecimiento. Cuando este proceso se combina con las alteraciones del sueño características de los adultos mayores, se vuelve especialmente relevante estudiar cómo los cambios inducidos por la edad pueden modificar la función del SNC y favorecer estados inflamatorios o disfuncionales.

## **1.8 Envejecimiento**

El envejecimiento es un proceso universal que provoca un declive gradual, tanto en las funciones celulares como en las tisulares, elevando significativamente la susceptibilidad a enfermedades y muerte. Siendo así, el envejecimiento el principal factor de riesgo para desarrollar enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y de Parkinson (López-Otín et al. 2023).

Durante el envejecimiento el cerebro humano reduce su tamaño. Se observa una reducción tanto de la materia gris como de la materia blanca las cuales disminuyen a una tasa que oscila entre el 0.2 y el 0.5 % al año (con tasas crecientes en edades más avanzadas). Como consecuencia se observa incremento compensatorio del volumen ventricular y del espacio subaracnoideo (Blinkouskaya et al. 2021).

Diversos estudios muestran varias características distintivas del envejecimiento cerebral como: (1) disfunción mitocondrial; (2) acumulación intracelular de proteínas, ácidos nucleicos y peroxidación lipídica; (3) metabolismo energético desregulado; (4) mecanismos de eliminación de desechos celulares deteriorados; (5) señalización de respuesta al estrés adaptativo deteriorada; (6) reparación del ADN comprometida; (7) actividad aberrante de la red neuronal; (8) manejo neuronal desregulado del  $Ca^{+2}$ ; (9) agotamiento de células madre; e (10) inflamación (Mattson & Arumugam. 2018).

## **1.9 Senescencia celular**

La senescencia celular es una de las características del envejecimiento (López-Otín et al. 2023). Este es un mecanismo celular que se desencadena en respuesta al estrés, se caracteriza por la detención del ciclo celular y está estrechamente vinculado a la expresión elevada de inhibidores de las cinasas dependientes de

ciclina (CDKs), en particular CDKN2A/p16<sup>Ink4a</sup> y CDKN1A/p21<sup>CIP1/WAF1</sup> (Idda et al. 2020).

Las células senescentes presentan un aumento del volumen celular, acompañado de un incremento en la actividad lisosomal, esta última se determina por un incremento en la actividad de la enzima β-galactosidasa la cual está asociada a la senescencia (SA-β-gal) (Lee et al. 2006).

Además, las células senescentes presentan un incremento en la expresión nuclear de proteínas de respuesta al daño al ADN, aumento de la fosforilación de la histona H2AX, la atenuación concurrente de la expresión de la proteína de la lámina nuclear B1; la formación de focos heterocromáticos, visualizados como focos nucleares HP1γ (proteína 1 gamma de heterocromatina) o SAHF (foci de heterocromatina asociada a la senescencia); niveles elevados de especies reactivas de oxígeno, así como el aumento de mediadores que conforman al fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP) (Rodier et al. 2011).

La característica más importante de las células senescentes es la secreción del SASP, que está compuesto de diversas citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, proteasas y lípidos (Xue et al. 2007, Yun, Davaapil, & Brockes. 2015), La composición de este secretoma es variable y depende del factor desencadenante de la senescencia, del tipo celular y del tiempo (**Tabla 1**).

Tipo celular	Inductor de senescencia	Tiempo/condiciones experimentales	Tipo de secretoma observado	Referencia
<b>Neuronas corticales</b>	Disfunción de autofagia (estrés celular).	Neuronas corticales en cultivo desarrollaron senescencia celular antes que glía.	MCP-1.	(Moreno-Blas et al. 2019).
<b>Astroцитos</b>	Estrés oxidativo (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) o pasajes seriales en cultivo. Inhibición del proteosoma.	Inducida <i>in vitro</i> ; exposición prolongada a estrés oxidativo.	IL-6, IL-1β e IL-1α.	(Han et al. 2024, Maciel-Barón et al. 2018).
<b>Células endoteliales</b>	Senescencia replicativa y/o estrés oxidativo.	Inducida <i>in vitro</i> en células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC).	IL-6, IL-1β e IL-8.	(Giuliani et al. 2023).

**Tabla 1 | Ejemplos de senescencia celular en células del sistema nervioso central.** La tabla muestra ejemplos de senescencia celular en diferentes tipos celulares del sistema nervioso, incluyendo astrocitos, células endoteliales y neuronas. Para cada caso se indican el estímulo inductor de senescencia, el tiempo o condiciones experimentales evaluadas y las principales características del secretoma asociado a la senescencia.

El SASP puede tener efectos benéficos, como el reclutamiento de células del sistema inmunitario hacia el sitio del daño, ayudando a promover la reparación del tejido (Campisi. 2013). Durante el cáncer, el arresto del ciclo celular previene la división patológica de células retrasando o impidiendo el desarrollo tumoral (Bavik et al. 2006). A pesar de que la senescencia puede ser un mecanismo protector, la secreción persistente de los factores proinflamatorios como IL-6 e IL-1 $\beta$  induciendo proliferación, angiogénesis y más inflamación en el medio circundante (Kauser, Campisi & Beauséjour. 2006).

Durante el envejecimiento el sistema inmune reduce su capacidad de eliminar a las células senescentes, las cuales se acumulan y contribuyen a la inflamación crónica de bajo grado característica de la vejez. Dentro del SNC, la acumulación de células senescentes puede desencadenar neuroinflamación, lo que conduce a la infiltración gradual de células inmunes al parénquima cerebral induciendo daño neuronal que puede causar diversos grados de déficits cognitivos (Lopes-Paciencia et al. 2019).

### **1.10 Deterioro cognitivo durante el envejecimiento**

Durante el envejecimiento se presenta una disminución progresiva de las capacidades funcionales del cerebro, asociada al incremento en la neuroinflamación, el estrés oxidante y otros procesos biológicos que comprometen la homeostasis neuronal. Estos cambios se manifiestan como reducciones en el aprendizaje y la memoria, en la atención, en la velocidad de procesamiento y toma de decisiones, así como en la percepción sensorial —incluida la visión, audición, tacto, olfato y gusto— y en la coordinación motora (Alexander et al. 2012, Dykiert et al. 2012, Levin et al. 2014). El rendimiento cognitivo se ve afectado en múltiples dominios, entre los cuales destacan la función ejecutiva, la memoria de trabajo

(especialmente la capacidad de cambio de tareas) y la memoria episódica (Alexander et al. 2012).

En adultos mayores es frecuente observar dificultades para comprender el habla rápida, resultado de la ralentización cognitiva y la pérdida auditiva; también se reporta una menor comprensión de oraciones sintácticamente complejas y un deterioro en la capacidad de evocación verbal (Alexander et al. 2012). La trayectoria temporal del deterioro cognitivo relacionado con la edad es paralela al declive funcional de otros sistemas orgánicos y muestra una aceleración notable a partir de los 50 años (Mendonca et al. 2017).

Conforme las personas avanzan hacia la sexta, séptima y octava décadas de vida, aumenta la probabilidad de desarrollar un trastorno neurodegenerativo, siendo la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson las entidades más comunes (Mattson. 2004, Kalia & Lang. 2015, Scheltens et al. 2016, Aarsland et al. 2017). En México, Juárez-Cedillo et al. (2022) estimaron que la prevalencia global de demencia en adultos mayores alcanza 7.8% para enfermedad de Alzheimer, 4.3% para demencia vascular y 2.1% para demencia mixta, con una mayor prevalencia en mujeres que en hombres. Estos datos son congruentes con los hallazgos del primer estudio nacional sobre prevalencia del deterioro cognitivo y factores asociados en adultos mayores (ENASEM. 2001).

Además de los cambios propios del envejecimiento, diversos factores ambientales experimentados durante la juventud y la mediana edad pueden modular la vulnerabilidad al deterioro cognitivo y a las enfermedades neurodegenerativas en etapas posteriores de la vida (Mattson & Arumugam. 2018). En este sentido, se ha demostrado que la privación crónica de sueño en ratones adultos jóvenes induce cambios degenerativos irreversibles en regiones cerebrales altamente vulnerables a la enfermedad de Alzheimer, como el locus coeruleus y el hipocampo, efectos que se mantienen incluso un año después de la exposición a la falta de sueño. De manera notable, la presencia de una predisposición genética no es necesaria para que la privación crónica de sueño genere daño significativo y duradero (Owen et al. 2021).

### **1.11 Cambios en el sueño durante el envejecimiento**

Tanto la estructura del sueño a nivel macro —es decir, la duración total del sueño y la distribución de sus etapas— como su arquitectura a nivel micro —incluida la cantidad, continuidad y calidad de las oscilaciones características del sueño— cambian de manera sistemática conforme avanzamos hacia la edad adulta tardía (Mander, Winer & Walker. 2017).

El envejecimiento se asocia con un conjunto de alteraciones bien caracterizadas en la arquitectura del sueño, entre las que destacan: (1) un adelanto del horario de sueño, reflejado en la tendencia de las personas mayores a acostarse y despertarse más temprano; (2) un aumento en la latencia de inicio del sueño, es decir, mayor dificultad para conciliarlo; (3) una reducción en la duración total del período de sueño; (4) un incremento en la fragmentación del sueño, con menor consolidación y más despertares o transiciones hacia etapas más ligeras; (5) una mayor fragilidad del sueño, lo que implica mayor susceptibilidad a ser despertado por estímulos sensoriales; (6) una disminución en la cantidad de sueño NOMOR profundo o sueño de ondas lentas; (7) un incremento en el tiempo dedicado a las etapas NOMOR más ligeras (1 y 2); (8) un acortamiento de los ciclos completos NOMOR–MOR y una reducción en su número por noche; y (9) un aumento en el tiempo transcurrido despierto durante la noche (Conte et al. 2014, Kales et al. 1967, Klerman & Dijk. 2008, Landolt et al. 1996, Ohayon et al. 2004, Redline et al. 2004, Van Cauter et al. 2000, Vienne et al. 2016, Webb & Campbell. 1979, Zepelin et al. 1984).

Los factores ambientales experimentados durante la juventud y la mediana edad también pueden influir en la propensión de un funcionamiento cerebral deficiente y de desarrollar enfermedades neurodegenerativas en la vejez (Mattson & Arumugam et al. 2018). Diversos estudios han demostrado que la pérdida de sueño produce alteraciones agudas en la homeostasis cerebral; sin embargo, la evidencia sobre sus efectos a largo plazo ha sido más limitada.

En este contexto, se ha reportado que la restricción de sueño durante la adultez temprana induce alteraciones neurobiológicas persistentes que se manifiestan meses después de finalizada la restricción de sueño. En un modelo murino sin

predisposición genética a la enfermedad de Alzheimer, la restricción de sueño en etapas juveniles fue suficiente para provocar, doce meses después, una reducción en el número y volumen de neuronas CA1 del hipocampo, pérdida de neuronas del locus coeruleus, activación glial y deterioro de la memoria espacial. De manera relevante, estos cambios estructurales y funcionales se acompañaron de incrementos sostenidos de  $A\beta_{42}$  y tau hiperfosforilada en la región CA1, aun en ausencia de placas amiloides u ovillos neurofibrilares. En conjunto, estos hallazgos demuestran que la restricción de sueño no solo produce efectos inmediatos, sino que desencadena procesos neurodegenerativos latentes que perduran en el tiempo, apoyando la noción de que el sueño insuficiente constituye un factor de riesgo independiente para el deterioro cerebral asociado al envejecimiento (Owen et al. 2021).

### **1.12 Estudio del sueño en mujeres y modelos experimentales hembra**

Aunque existen diferencias entre hombres y mujeres en el sueño durante el envejecimiento, los trastornos del sueño son especialmente frecuentes en mujeres mayores. Se estima que entre el 40% y el 60% de las mujeres en etapa perimenopáusica o posmenopáusica los experimentan, al grado de que la Declaración de la Conferencia sobre el Estado de la Ciencia de los Institutos Nacionales de Salud (NIH. 2005) reconoce a las alteraciones del sueño como un síntoma central de la menopausia. Además, la falta de sueño en mujeres perimenopáusicas o posmenopáusicas se ha asociado con niveles elevados de inflamación sistémica, mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares y metabólicas, alteraciones del estado de ánimo y un incremento en la vulnerabilidad a enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (Huang et al. 2017, Zhou et al. 2017, Hita-Contreras et al. 2018, Chair et al. 2017).

Por otra parte, se ha reportado que 4 h de restricción de sueño durante tres noches disminuyeron significativamente las funciones cognitivas principalmente en tiempos de reacción en pruebas neuroconductuales simples como la evaluación de la atención y memoria mediante la prueba de Buschke en mujeres sanas jóvenes (20-30 años) y mayores (55-65 años), en cambio en tareas más complejas como la

memoria lógica y suma de números no se vieron afectadas. Lo que demuestra que incluso períodos cortos de restricción de sueño impactan negativamente en funciones cognitivas relevantes en mujeres (Stenuit & Kerkhofs. 2008).

En otro estudio realizado por Li et al. 2024, utilizando el método de plataforma múltiple modificado se restringió de sueño a ratones hembra C57BL/6J de seis semanas de edad, 20 h por día con 4 h de oportunidad para dormir durante 48 días consecutivos. Se encontró que las hembras sometidas a este protocolo presentaron un comportamiento ansioso/depresivo mediante las pruebas de campo abierto y laberinto elevado en cruz, así como una disminución significativa en la memoria declarativa evaluada en la prueba de reconocimiento novedoso.

Recientemente se ha reportado que existe una regulación específica dependiente del sexo en transcriptoma cortical en respuesta a la privación del sueño durante 6h, tras la comparación entre ratones C57BL/6J machos y hembras mayores de 8 semanas, se encontró que en la corteza de machos frente las hembras, hay una transcripción diferencial en varias vías relacionadas con señalización sináptica y reorganización celular, por ejemplo, el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y sus genes tempranos inmediatos *Egr3*, *Fosb* y *Fosl2* se regulan positivamente más en los machos después de la privación del sueño (Shi et al. 2024). Esto sugiere que machos y hembras no activan los mismos programas transcripcionales en la corteza cerebral tras la privación de sueño, los genes que cambian y las vías activadas son distintas, lo que indica que el cerebro femenino y masculino procesan el estrés del sueño de forma diferente a nivel molecular.

Por otro lado, son limitados los estudios donde se utilicen roedores de edad media bajo condiciones de restricción de sueño. En el estudio de Wang et al. 2024, se reportó que en ratas hembra C57BL/6J de 10 meses de edad a las que se les restringió de sueño 10 h durante 6 meses, utilizando la prueba de laberinto en Y para evaluar la capacidad de memoria de aprendizaje espacial se encontró que el número total de entradas en los brazos fue menor en este grupo en comparación con las condiciones control, interesantemente, también observaron aumentos significativos en la expresión de oligómeros A $\beta$ , tanto en el hipocampo como en el

cerebelo y una disminución la expresión de las proteínas de densidad postsináptica-95 (PSD-95) y la sinaptofisina (SYP) (Wang et al. 2024), lo que sugiere que la restricción de sueño crónica puede tener efectos similares a los de la enfermedad de Alzheimer en edades medianas en ratas hembra.

## **2. ANTECEDENTES**

Medina-Flores et al. 2020, demostraron que la restricción crónica del sueño durante 10 días consecutivos en ratas Wistar macho altera las interacciones entre los pericitos y las células endoteliales cerebrales, debido a que se reduce la expresión de PDGFR- $\beta$  y conexina 43 en aislados de microvasos sanguíneos. En ese mismo estudio se encontró que, a pesar de que los pericitos se desprendieron de las paredes capilares, no experimentaron apoptosis. La restricción del sueño también disminuyó la expresión de proteínas de unión estrecha en aislados de microvasos sanguíneos y aumentó la permeabilidad de la BHE a trazadores de bajo y alto peso molecular en ensayos de permeabilidad *in vivo*. Estas alteraciones parecieron depender de un estado inflamatorio de bajo grado, como se refleja en el aumento de la expresión de NF $\kappa$ B fosforilado y el receptor de adenosina A<sub>2A</sub> en células endoteliales cerebrales.

Recientemente nuestro grupo de investigación, utilizando el mismo protocolo de restricción de sueño, pero ahora a diferentes tiempos: 3, 5 y 10 días, reportó que la permeabilidad de la BHE incrementa progresivamente. Así mismo se encontró una mayor expresión del marcador de la proteína ácida fibrilar (GFAP), y la expresión del componente C3 del complemento. Además, las citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 aumentaron de forma dependiente de la región cerebral. Este mismo estudio demostró, por primera vez, que la restricción de sueño aumenta progresivamente la expresión de marcadores de senescencia celular como la actividad de la enzima  $\beta$ -galactosidasa y el inhibidor del ciclo celular p21, en corteza e hipocampo; lo anterior fue acompañado de una de una respuesta astrogliar neurotóxica. Estos datos sugieren que la restricción del sueño promueve la senescencia celular en la corteza cerebral y el hipocampo de ratones macho jóvenes (Avilez-Avilez et al. 2025).

Por otro lado, otro grupo de investigación reportó que una noche de privación parcial de sueño en adultos mayores (61 y 86 años) indujo cambios en la expresión génica consistentes con un aumento en la respuesta al daño del ADN y la promoción del SASP, caracterizado por un perfil proinflamatorio e iniciado a través de la regulación transcripcional de NF- $\kappa$ B en células mononucleares de sangre periférica. Estos hallazgos vinculan causalmente la privación de sueño con los procesos biológicos intrínsecos del envejecimiento y respaldan la hipótesis de que la falta de sueño puede ser un factor de riesgo que contribuya con el desarrollo de enfermedades crónicas a través de la activación de vías moleculares que impulsan el envejecimiento biológico (Carroll et al. 2016).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Un sueño adecuado es fundamental para el mantenimiento de la salud física y mental, así como para una adecuada calidad de vida. No obstante, la restricción de sueño representa actualmente un problema crónico y ampliamente extendido en la sociedad moderna, con consecuencias significativas a nivel cognitivo, metabólico e inmunológico. Diversos estudios epidemiológicos han demostrado que este problema afecta de manera desproporcionada a las mujeres, quienes a lo largo de su vida presentan una mayor vulnerabilidad a la pérdida de sueño como resultado de factores hormonales, cambios asociados con el ciclo reproductivo y la menopausia, exigencias sociales y laborales, así como del propio proceso de envejecimiento (Avilez-Avilez, Ramírez-López & Guzmán Ruiz. 2025).

A pesar de esta evidencia, la investigación experimental en el campo del sueño continúa basándose predominantemente en modelos animales machos, lo que ha generado un vacío importante en el conocimiento sobre los efectos agudos y crónicos de la restricción de sueño en organismos femeninos. Esta omisión limita la comprensión de los mecanismos fisiológicos específicos que subyacen a las respuestas al déficit de sueño en las hembras y reduce la posibilidad de extrapolar los hallazgos preclínicos a la población femenina humana de manera precisa.

La necesidad de estudiar los efectos de la restricción de sueño en modelos femeninos ha cobrado especial relevancia en los últimos años, particularmente en

el contexto del envejecimiento. Se ha documentado que la calidad de vida de las mujeres en edades avanzadas tiende a ser menor, y que muchas de las condiciones que las afectan a lo largo de su vida han sido históricamente subrepresentadas o ignoradas en la investigación biomédica. Esta brecha ha contribuido a un retraso significativo en la identificación de mecanismos fisiopatológicos específicos, en la caracterización de síntomas diferenciales y en el desarrollo de estrategias terapéuticas adecuadas para este grupo poblacional.

En este contexto, el presente proyecto se justifica por la necesidad de generar evidencia experimental que permita comprender de manera integral cómo la restricción aguda y crónica del sueño impacta en organismos femeninos, considerando además el efecto del envejecimiento. El abordaje de estas preguntas no solo contribuirá a reducir el sesgo de sexo existente en la investigación en neurociencias y fisiología del sueño, sino que también permitirá sentar las bases para el desarrollo de intervenciones más precisas y equitativas, orientadas a mejorar la salud y la calidad de vida de las mujeres a lo largo de su ciclo vital.

#### **4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cómo influye la restricción crónica de sueño en la integridad de la barrera hematoencefálica, la neuroinflamación, la senescencia celular y la memoria declarativa durante el envejecimiento en ratas hembra?

#### **5. HIPÓTESIS**

La restricción crónica de sueño en ratas hembra acelerará los procesos asociados al envejecimiento, produciendo un aumento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, una mayor expresión de mediadores neuroinflamatorios, un incremento en los marcadores de senescencia celular y un deterioro significativo de la memoria declarativa, en comparación con hembras envejecidas con sueño normal.

## 6. OBJETIVO GENERAL

Evaluar cómo la restricción crónica de sueño modula la integridad de la barrera hematoencefálica, la neuroinflamación, la senescencia celular y la memoria declarativa durante el envejecimiento en ratas hembra.

## 7. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en el envejecimiento en ratas hembra sometidas al modelo de restricción crónica de sueño.
2. Evaluar la expresión de mediadores inflamatorios en el sistema nervioso central durante el envejecimiento en ratas hembra sometidas al modelo de restricción crónica de sueño.
3. Evaluar la senescencia celular en el envejecimiento en ratas hembra sometidas al modelo de restricción crónica de sueño.
4. Determinar los cambios que ocurren en la memoria declarativa en el envejecimiento en ratas hembra sometidas al modelo de restricción crónica de sueño.

## 8. MATERIAL Y MÉTODOS

### 8.1 Modelo animal

Se utilizaron 41 ratas hembra de la cepa Wistar de distintas edades. Como control se emplearon dos grupos de ratas jóvenes de 3 meses de edad:

1. Grupo control joven (**Ctrl young**), al cual se le dejó dormir *ad libitum*.
2. Grupo joven restringido de sueño (**SR young**). Se le restringió de sueño durante 10 días como se explica en el siguiente apartado.

Las ratas de los grupos experimentales iniciaron a los 6 meses de edad y se asignaron al azar a cada una de las siguientes condiciones:

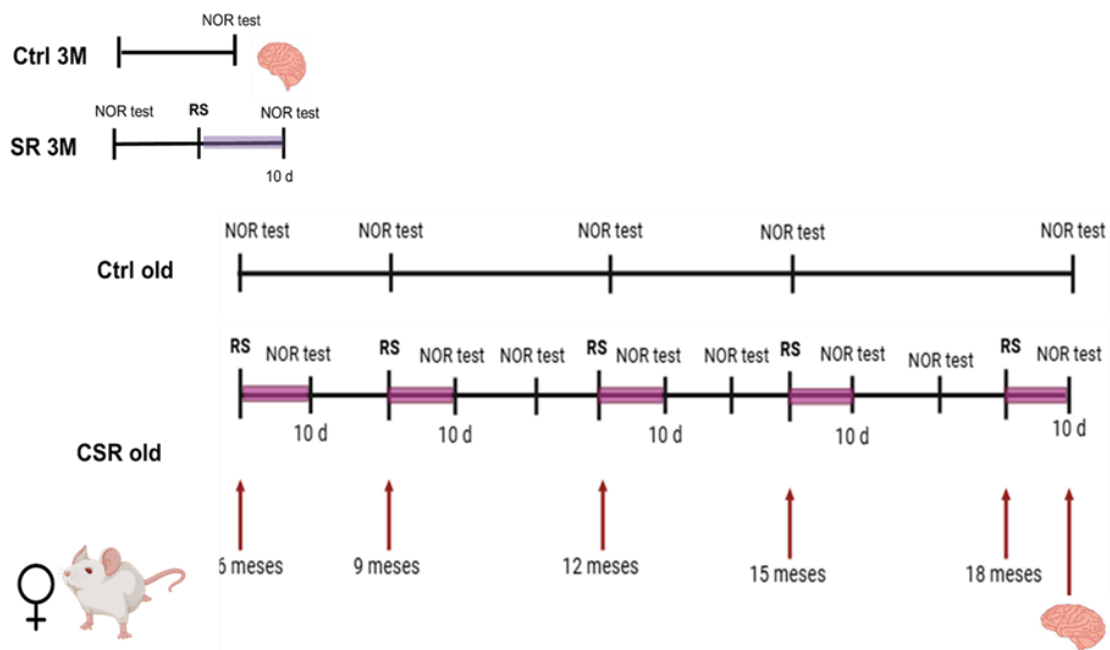
3. Grupo control envejecido (**Ctrl old**). Al cual se le dejó dormir *ad libitum* y se eutanizó a los 18 meses de edad.

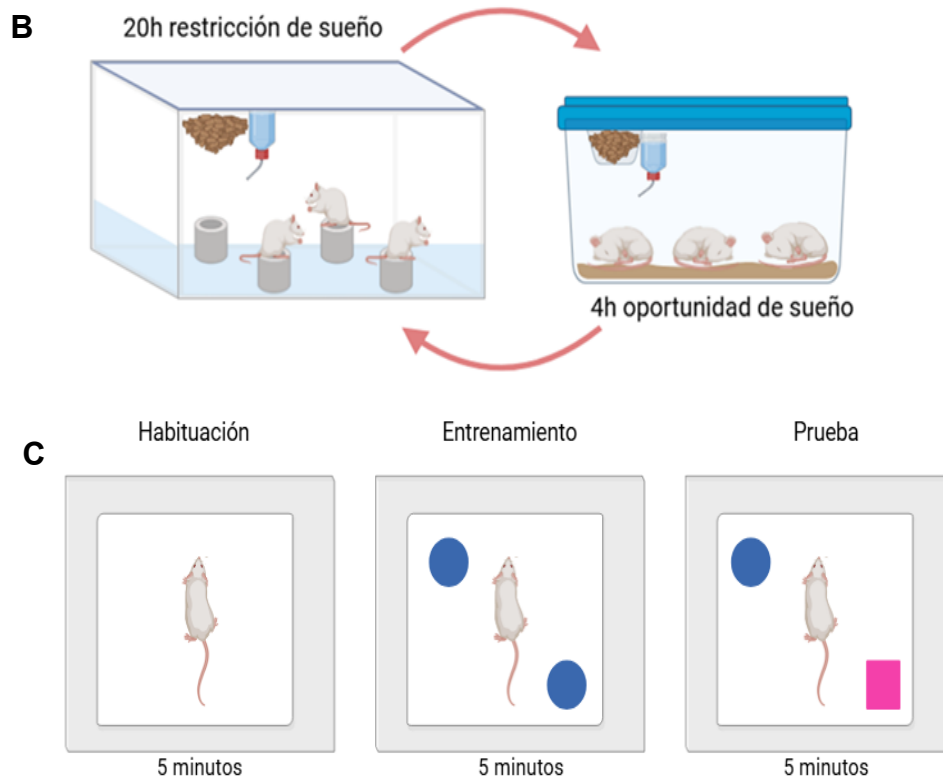
4. Grupo restringido de sueño crónico envejecido (**CSR old**). A partir de los 6 meses de edad se les restringió de sueño durante 10 días consecutivos, cada tres meses, hasta los 18 meses.

Las muestras cerebrales se obtuvieron en el último día de restricción de sueño (**Fig. 3A**). Los animales permanecieron bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 h, a temperatura ambiente de 20-23°C y fueron alimentados con comida comercial para ratas y agua *ad libitum*. Se consideró un buen estado de salud cuando los animales no presentaron tumores, infecciones cutáneas ni de oído, y cuando comieron y bebieron adecuadamente. Todos los procedimientos con animales se realizaron estrictamente de acuerdo con la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de los Institutos Nacionales de Salud, y los Principios de la Norma Oficial Mexicana de Ética 062-ZOO-1999 y la Norma para la disposición de desechos biológicos (NOM-087- SEMARNAT-SSA1-2002).

Este proyecto fue aprobado por el comité de ética de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud con el número CECBS22-21.

**A**





**Figura 3 | Diseño experimental.** A) Se muestran los cuatro grupos experimentales, en el mes 3 o 18 de edad se sacrificaron para obtener el tejido cerebral para su posterior procesamiento. B) Se muestra la técnica de restricción de sueño por el método de plataformas múltiples modificada. C) Se muestran las tres fases de la prueba de reconocimiento de objeto novedoso.

## 8.2 Restricción crónica de sueño mediante técnica de plataformas múltiples

Se sometió a las ratas a la restricción del sueño mediante la técnica modificada de plataformas múltiples, que suprime por completo el sueño de movimientos oculares rápidos y reduce ligeramente el sueño NOMOR (Gómez-González et al. 2013). Para ello, las ratas se colocaron durante 20 h diarias en una caja de acrílico (82 x 59 x 48 cm) con plataformas de 7 cm de diámetro rodeadas de agua, con la oportunidad de dormir en sus jaulas durante las últimas 4 h de la fase de luz, durante 10 días consecutivos (Gómez-González et al. 2013). Para reducir el estrés social, las ratas permanecieron en su mismo grupo social durante los periodos de restricción de sueño, y para reducir el estrés por inmovilidad se añadió una plataforma adicional a

la caja de acrílico para facilitar el movimiento de los animales. Durante todo el experimento, las ratas recibieron agua y comida *ad libitum* (Fig. 3B).

### **8.3 Ensayo de permeabilidad de la barrera hematoencefálica**

A los 18 meses de edad e inmediatamente después de realizar la prueba de reconocimiento de objeto novedoso al terminar el décimo día de restricción de sueño, las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (Sedalpharma, i.p 0.063g/kg de peso). Se les realizó una incisión torácica y se administró un cóctel de trazadores que contenía sodio-fluoresceína 10 mg/mL (Na-F) (Sigma-Aldrich, cat. F6377) y azul de Evans 1 mg/mL (Sigma-Aldrich, cat. E2129) en el ventrículo izquierdo (0.2 mL/100 g de peso) y se dejó circular durante 5 min (n= 3 o 4 por grupo). Los trazadores se diluyeron en solución salina amortiguada con buffer de fosfatos 1X (pH = 7.4). Tras la circulación de los trazadores, los animales fueron perfundidos con solución salina al 0.9 % y se extrajo el cerebro para obtener la corteza cerebral y el hipocampo. Las muestras se pesaron, se homogeneizaron con 200 µL de PBS frío 1X y se centrifugaron a 13,500 rpm/10 min a 4°C. Se recogió el sobrenadante, se añadieron 200 µL de metanol al 100%, se homogeneizó y se centrifugó a 13,500 rpm/10 min a 4°C. Posteriormente, se colocaron 100 µL del sobrenadante de cada muestra en una placa de 96 pocillos y se midieron los valores de absorbancia en el lector de placas ELISA HLAB (HReader 1). Para Na-F se establecieron los filtros de excitación 485 nm/emisión 535 nm y para azul de Evans se establecieron los filtros de excitación 535 nm/emisión 595 nm. Cada muestra se cuantificó por duplicado. La concentración de ambos trazadores se determinó usando una curva estándar y los resultados se muestran como la concentración por el peso de cerebro fresco (mg de trazador/ g de tejido) (Medina-Flores et al. 2020).

### **8.4 Western blot**

Se extrajo el cerebro completo (n= 4 por grupo), se diseccionó la corteza e hipocampo izquierdos de todos los grupos experimentales. Las muestras se homogeneizaron y centrifugaron con 200 µL de buffer RIPA (lisis celular) (NaCl, Tris-HCl, EDTA, Triton X 100 (0.1%)) a 13,500 rpm durante 10 min a 4°C. Los sobrenadantes se recogieron y almacenaron a -20°C hasta su uso. La

concentración de proteínas se determinó mediante el método de ensayo de Bradford (BioRad, n.º 500-0006, 1:5) (Avilez-Avilez et al. 2025). Las proteínas (50 µg) se separaron mediante electroforesis en un gel de poliacrilamida al 10 % y posteriormente se transfirieron a membranas de fluoruro de polivinilideno (PVDF). Después de la transferencia, la membrana de PVDF se bloqueó con una solución de leche descremada en polvo al 10 % en PBS-Tween durante 30 min y, posteriormente, se incubó con los anticuerpos primarios diluidos en PBS-Tween durante una noche a 4°C:

ZO-1 (Invitrogen, #40-2200, 1:500), ocludina (Invitrogen, #40-4700, 1:500). Posteriormente, las membranas de PVDF se incubaron con los anticuerpos secundarios IgG anti-conejo biotinilado (Vector Laboratories, #BA-1000, 1:2000) e IgG anti-ratón biotinilado (Vector Laboratories, #BA-2000, 1:2000), durante 2 h en agitación constante a temperatura ambiente y se revelaron con el sistema de detección de quimioluminiscencia (Immobilon western chemiluminescent, cat. WBKLS0500). Las imágenes se adquirieron con el sistema de generación y análisis de imágenes C-DiGit (LI-COR iS image studio, versión 6.1). Los valores de contenido de las proteínas se normalizaron con la proteína β-actina (Santa Cruz, sc-69879, 1:2500).

### **8.5 Procesamiento de cerebros para ELISA de citocinas y factor neurotrófico**

Se extrajo cuidadosamente el cerebro completo (n = 3 o 4 por grupo), se diseccionó la corteza e hipocampo derechos y les adicionó buffer de lisis (Tris-base 20 mM, sacarosa 0.25 M, EDTA 2 mM, EGTA 10 mM y Tritón X-100 1%) con inhibidor de proteasas (cOmplete, 11836153001). Para las cortezas cerebrales se emplearon 800 µL de buffer de lisis y para los hipocampos 600 µL. Los tejidos se dejaron reposar durante al menos 20 min. Posteriormente, las muestras se homogeneizaron en frío con ayuda de un homogeneizador o Ultraturax y se centrifugaron a 15,000 rpm por 30 min a 4 °C, se obtuvo el sobrenadante y se determinó la concentración de proteínas por el método de Bradford.

## **8.6 Evaluación de los niveles de citocinas y factor neurotrófico**

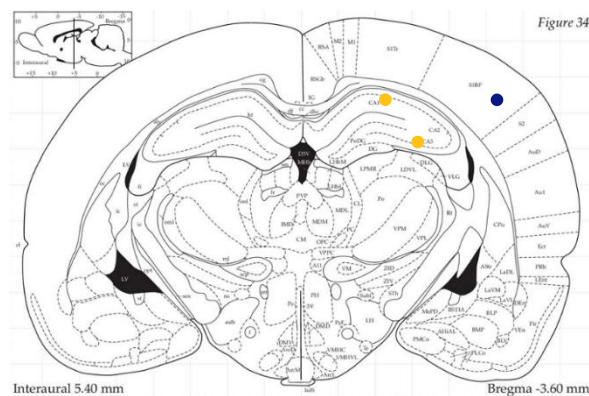
Los niveles de TNF- $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-6, IL-10 y en factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF), se midieron mediante un ensayo ELISA tipo sándwich, siguiendo las instrucciones del proveedor. Se emplearon los siguientes kits: TNF- $\alpha$  DuoSet ELISA (DY510), IL-6 DuoSet ELISA (DY506), IL-10 DuoSet ELISA (DY522), IL-1 $\beta$  DuoSet ELISA (DY501) y BDNF DuoSet ELISA (DY248) y el kit de reactivos auxiliares DuoSet ELISA (DY008), todos adquiridos de R&D Systems. Todas las soluciones requeridas se prepararon con agua desionizada de un sistema Milli-RQ (Millipore, MA). Las proteínas cerebrales se incubaron durante 18 h a 4°C con PBS-Tween20 (0.05%) /BSA al 0.05%, se lavaron tres veces y se incubaron con el anticuerpo de detección correspondiente durante 2 h a temperatura ambiente. Los anticuerpos de detección unidos se detectaron mediante el sistema a-HRP (avidina-HRP/Estreptavidina-HRP, P392056) utilizando TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como sustrato. Las lecturas de densidad óptica se realizaron a 450 nm (Epoch BioTek). Todos los ensayos se realizaron por duplicado (Salas-Venegas et al. 2023).

## **8.7 Preparación de tejido cerebral para cortes histológicos**

Las ratas (n= 3 por grupo) fueron sedadas profundamente con pentobarbital sódico intraperitoneal (0.063g/kg de peso) y perfundidas vía intracardiaca durante 5 min con solución salina al 0.9% un flujo de 10-15 mL/min, seguido de una solución de paraformaldehído al 4% y PBS 1X a 4°C durante 5 min. Se extrajo el cerebro completo y se almacenó durante 24 h a 4°C en paraformaldehído al 4%. Luego, se retiró y se reemplazó el paraformaldehído por una solución de sacarosa al 30% y se almacenó a 4°C. Después, se retiró la solución de sacarosa y los cerebros se incluyeron en Tissue Tek (Sakura Finetek, cat. 4583). Los cortes coronales se obtuvieron usando un criostato (Leica CM1850), con un grosor de 30  $\mu$ m y se montaron en portaobjetos gelatinizados.

## 8.8 Ensayo de actividad de la enzima $\beta$ -galactosidasa asociada a la senescencia (SA- $\beta$ -gal)

La actividad de SA- $\beta$ -gal se evalúa mediante la tinción de las células con el sustrato cromogénico X-gal, que produce un compuesto azul insoluble al ser escindido por la enzima  $\beta$ -galactosidasa, y se distingue de la actividad de  $\beta$ -galactosidasa lisosomal usando un buffer de ácido cítrico/fosfato de sodio a pH 6.0, ya que, aunque la enzima tiene un pH óptimo de 4.0, la magnitud del aumento en la senescencia es suficiente para la detección al pH subóptimo de 6.0 (Gary & Kindell. 2005, Debacq-Chainiaux et al. 2009). Por lo tanto, se realizaron ensayos de SA- $\beta$ -gal a senescencia en la corteza cerebral somatosensorial primaria y las regiones CA1 y CA3 del hipocampo en cada condición experimental (**Fig. 4**).



**Figura 4 | Imagen representativa de un corte coronal de cerebro de rata.** La imagen muestra en puntos amarillos las regiones CA1 y CA3 del hipocampo, con un punto azul la corteza somatosensorial primaria que se localiza por arriba de la región CA2 del hipocampo.

Para ello, los portaobjetos con los cortes cerebrales se lavaron tres veces con PBS 1X en agitación durante 10 min. Posteriormente, los cortes se embebieron en una solución de trabajo compuesta por ácido cítrico 0.1 M, ferrocianuro de potasio 100 mM, ferricianuro de potasio 100 mM, cloruro de sodio 5 M, cloruro de magnesio 1 M y X-gal 50 mg/mL (Promega, EE. UU., cat. V3941) y se incubaron durante al menos 12 h a 37°C. Tras la incubación, los cortes se lavaron dos veces con PBS 1X durante 5 min en agitación a temperatura ambiente y se añadió la solución de montaje (500

$\mu$ L de PBS y 500  $\mu$ L de glicerol al 99%) se cubrieron los portaobjetos (modificado de Dimri et al. 1995, Lee et al. 2006, Salas-Venegas et al. 2023).

Las imágenes se tomaron con el microscopio ZEISS Axio Imager 2, en los aumentos 5x y 10x, la intensidad de la tinción se analizó mediante el programa Fiji.

### **8.9 Prueba de reconocimiento de objeto novedoso**

Para determinar los cambios que ocurren en la memoria declarativa en función de la restricción de sueño y de la edad se les realizó la prueba de objeto novedoso (Antunes & Biala. 2012). Todas las pruebas se realizaron en las últimas 4 h de fase de luz, de 9:00 h a 13:00 h.

Al grupo control joven (Ctrl young) se le realizó una sola prueba, mientras que al grupo joven restringido de sueño (SR young), se le realizó la prueba un día antes de someterse al protocolo (9:00 h a 13:00 h) y se le realizó la prueba salieron del último día de restricción de sueño de (9:00 a 13:00 h).

Al grupo control envejecido (Ctrl old) se le realizó la prueba cada tres meses, a partir de los 6 meses de edad, hasta que llegaron a los 18 meses. Mientras que los individuos sometidos a un modelo de restricción crónica de sueño (CSR old) cada tres meses, se les realizó la prueba inmediatamente después de salir de dicho protocolo (9:00 h a 13:00 h). Adicionalmente, a partir de los 12 meses de edad, se les realizó la prueba también antes de entrar a la restricción de sueño a la misma hora (**Fig. 3C**).

La prueba de reconocimiento de objeto novedoso es una prueba conductual que evalúa la capacidad de los roedores para discriminar un objeto novedoso de uno conocido en un entorno familiar y consiste en tres fases. La primera fase es de habituación y consiste en colocar a la rata en una caja de acrílico previamente esterilizada y desodorizada, sin ningún objeto. En esas condiciones se le permitió explorar durante 5 minutos; 25 minutos después se llevó a cabo la fase de entrenamiento que consiste en colocar dos objetos iguales (un salero de plástico, color azul) en la caja de acrílico y se le permitió explorar a la rata durante 5 minutos más.

Finalmente, 25 minutos después inició la fase de prueba, que consiste en cambiar uno de los objetos conocidos por un objeto novedoso (un recipiente rectangular de la misma altura y dimensión que el objeto familiar) y se le permitió a la rata explorar durante 5 minutos. Es importante mencionar que en cada fase de prueba el objeto novedoso se reemplazó por uno igual, pero de distinto color.

En este trabajo se consideró exploración cuando la rata dirigió la nariz a una distancia mayor o igual a 2 cm hacia el objeto y/o lo tocó con la nariz. Para evitar la coerción para la exploración de los objetos, la rata se liberó contra el centro de la pared opuesta con la espalda hacia los objetos. Entre cada una de las fases se limpió la caja y los objetos con etanol al 70% para garantizar que el comportamiento de las ratas no se guiará por señales de olor. Todas las pruebas se grabaron en video para su posterior análisis.

Se determinó el índice de reconocimiento, que es el cociente de la cantidad de tiempo dedicado a explorar el objeto novedoso sobre tiempo total de exploración \*100. Índice de preferencia (%) =  $\frac{TN}{TN + TF} \times 100$  (tiempo de exploración del objeto novedoso) – TF (tiempo de exploración del objeto familiar) / TN + TF (tiempo total de exploración) \* 100.

### **8.10 Análisis estadístico**

Se corroboró la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk. El análisis de los datos obtenidos para los ensayos de permeabilidad de la BHE, ELISA, western blot y SA- $\beta$ -gal se realizó mediante la prueba ANOVA de una sola vía, seguida de una prueba Tukey; mientras que para la prueba de conducta se implementó la prueba de análisis t student no pareada y para las comparaciones entre el antes y después de la restricción de sueño con una prueba t student pareada. Todos los resultados se presentan como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM, por sus siglas en inglés). Se consideró una diferencia estadísticamente significativa cuando  $p < 0.05$ . Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, CA, EE. UU.).

## 9. RESULTADOS

### 9.1 La restricción de crónica de sueño incrementa la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en la corteza cerebral de ratas hembra durante el envejecimiento

En la figura 5 se observa que la restricción de sueño induce un incremento en la permeabilidad de la BHE a trazadores de diferente peso molecular: sodio-fluoresceína (Na-F) con un peso de 370 Da y azul de Evans con un peso molecular de aproximadamente 70 kDa.

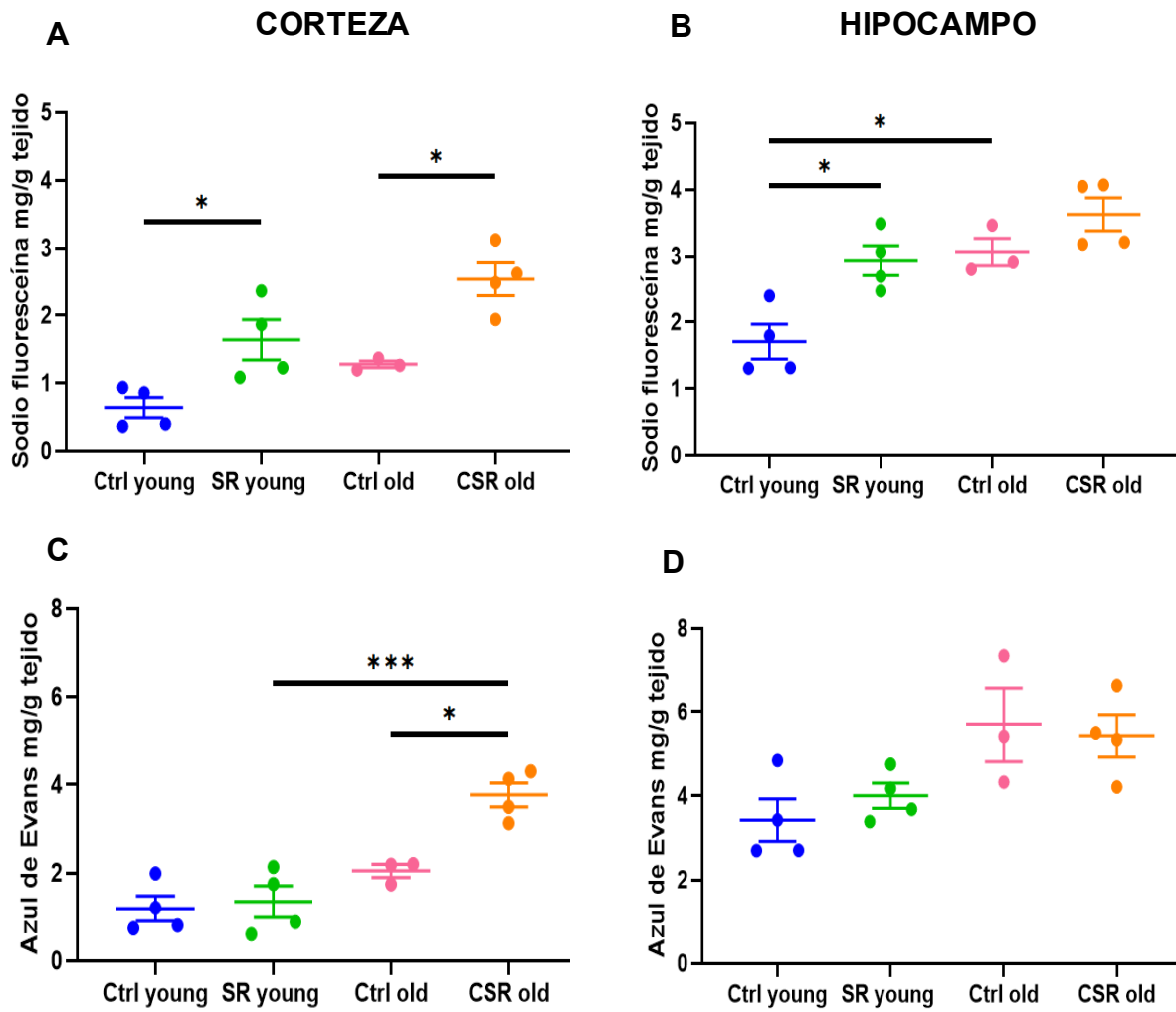
Se observó un incremento significativo de la permeabilidad de la BHE en la corteza cerebral al trazador Na-F en el grupo SR young en comparación con el grupo Ctrl young ( $p= 0.0325$ , **Fig. 5A**).

Por otra parte, el grupo CSR old tuvo un aumento significativo de la permeabilidad a Na-F en comparación con el grupo Ctrl old ( $p= 0.0112$  respectivamente, **Fig. 5A**). De manera interesante, no se observaron diferencias entre la permeabilidad a Na-F en la corteza de los animales Ctrl young y los Ctrl old ( $p= 0.2719$ , **Fig. 5A**).

También se analizó la permeabilidad a Na-F en el hipocampo en donde encontramos un incremento significativo en el grupo SR young en comparación con el grupo Ctrl young ( $p= 0.0151$ , **Fig. 5B**), así como un incremento significativo en el grupo Ctrl old en comparación con el grupo Ctrl young ( $p= 0.0132$ , **Fig. 5B**), sin embargo, no hubo diferencias significativas entre el grupo Ctrl old y CSR old ( $p= 0.4279$ , **Fig. 5B**).

Por otro lado, la permeabilidad al trazador azul de Evans incrementó de manera significativa en la corteza cerebral del grupo CSR old con respecto a los grupos, SR young y Ctrl old ( $p= 0.0004$ ,  $p= 0.0107$ , respectivamente, **Fig. 5C**). En contraste, no se observaron cambios en la permeabilidad al azul de Evans en ninguna de las condiciones experimentales en la región del hipocampo (**Fig. 5D**).

Estos resultados sugieren que la restricción crónica de sueño induce un incremento de la permeabilidad de la BHE en la corteza cerebral de hembras durante el envejecimiento.



**Figura 5 | La restricción crónica de sueño incrementa la permeabilidad de la BHE durante el envejecimiento.** (A) Concentración de Na-F en la corteza cerebral y (B) en el hipocampo. (C) Concentración de azul de Evans en la corteza cerebral y (D) en el hipocampo. ANOVA de una vía, seguido de la prueba para múltiples comparaciones de Tukey. (n= 3 o 4 por grupo, por duplicado). Los datos se representan como media  $\pm$  S.E.M. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ , \*\*\* $p < 0.0001$ .

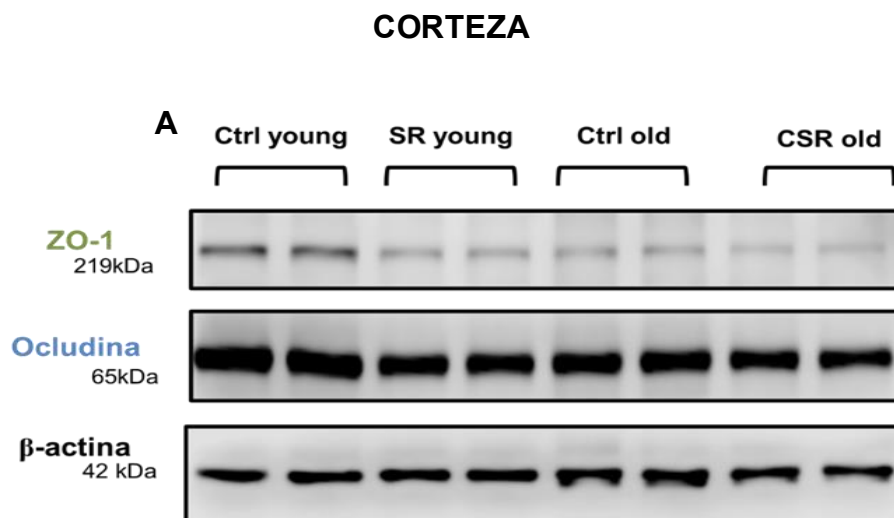
## 9.2 La restricción de sueño y el envejecimiento disminuyen la expresión de ZO-1 en la corteza cerebral de ratas hembra

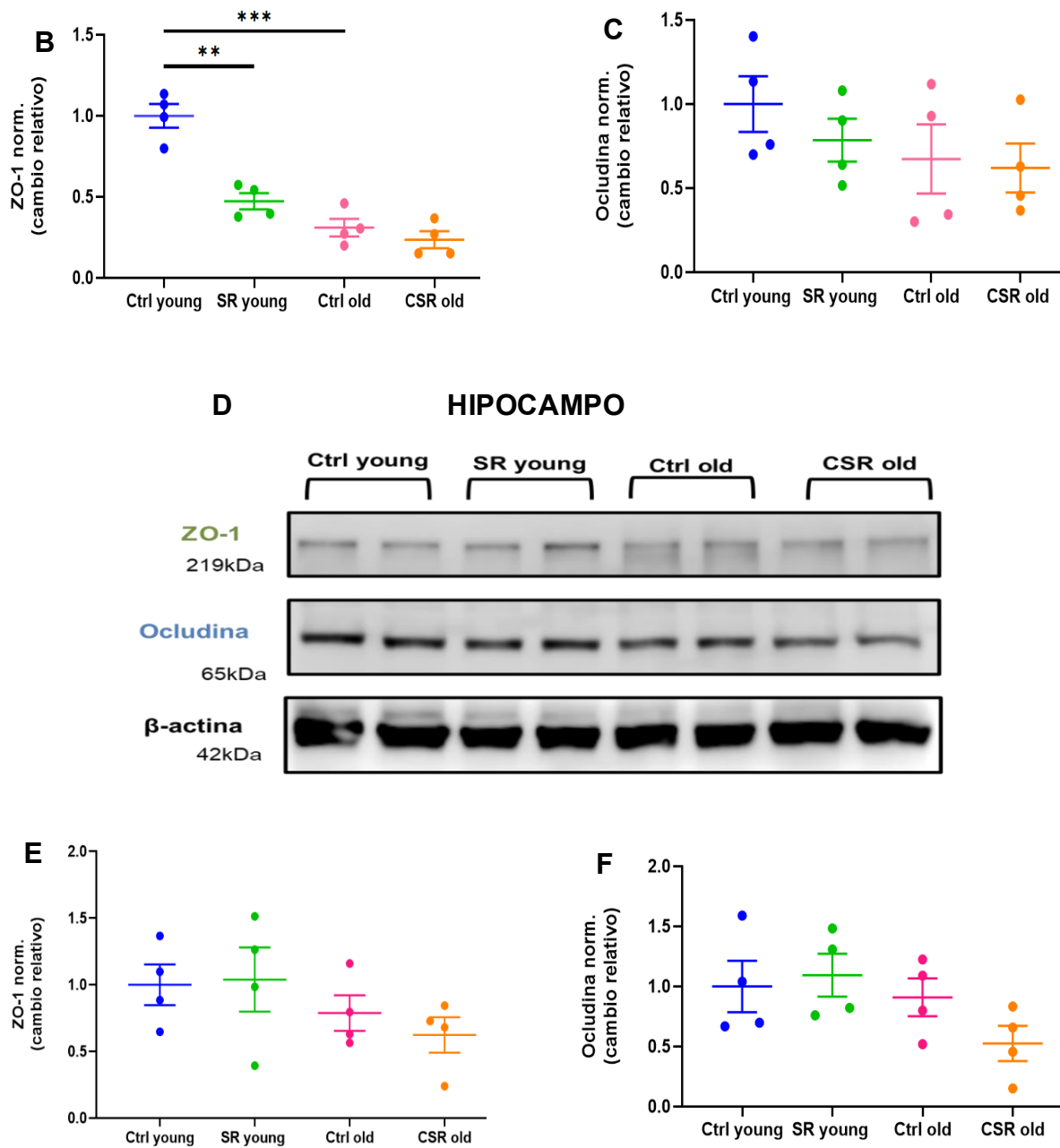
Puesto que se encontró un incremento en la permeabilidad de la BHE en hembras con restricción de sueño crónico envejecidas, se determinó si este incremento en el acceso de Na-F y azul de Evans se encontraba asociado a cambios en la expresión de proteínas de unión estrecha de la BHE de la corteza cerebral e hipocampo.

Solamente se observaron cambios en la expresión de ZO-1 en la corteza del grupo SR-young y Ctrl old con respecto al grupo Ctrl young ( $p= 0.0002$ ,  $p < 0.0001$ , **Fig. 6AB**). Contrario a lo esperado, no encontramos diferencias significativas en los niveles de expresión de ocludina en ninguno de los grupos (**Fig. 6AC**).

Tal y como se esperaba, en la región de hipocampo, no encontramos cambios en la expresión de la proteína ZO-1 en el grupo SR young con respecto al grupo Ctrl young y CSR old ( $p= 0.9983$ ,  $p= 0.1567$ , **Fig. 6DE**), ni en el grupo Ctrl old con respecto al grupo Ctrl young y CSR old ( $p=0.8169$ ,  $p=0.9022$ , respectivamente **Fig. 6DE**).

Finalmente, tampoco se observaron cambios en la expresión de la proteína ocludina en el grupo SR young con respecto al grupo Ctrl young y CSR old ( $p= 0.9806$ ,  $p= 0.8784$ , **Fig. 6DF**), ni en el grupo Ctrl old con respecto al grupo Ctrl young y CSR old ( $p=0.9829$ ,  $p= 0.4450$ , respectivamente **Fig. 6DF**).





**Figura 6 | La restricción crónica de sueño disminuye los niveles de la proteína ZO-1 en la corteza cerebral durante el envejecimiento.** (A) Blots representativos de cada proteína en corteza utilizando  $\beta$ -actina como control de carga. (B) Niveles normalizados expresados en cambio relativo (fold change) de las proteínas ZO-1 y (C) occludina. (D) Blots representativos de cada proteína en hipocampo utilizando  $\beta$ -actina como control de carga. (E) Niveles normalizados expresados en cambio

relativo (fold change) de las proteínas ZO-1 y (F) ocludina. Los datos se presentan como media  $\pm$  S.E.M. ANOVA de una vía, seguido de la prueba para múltiples comparaciones de Tukey (n= 4 por grupo, por duplicado). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ , \*\*\* $p < 0.0001$ .

### **9.3 La restricción crónica de sueño promueve un perfil inflamatorio en el hipocampo de ratas hembra durante el envejecimiento**

Como se mencionó anteriormente, nuestro grupo de investigación ha reportado que la restricción de sueño incrementa progresivamente el nivel de citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 de forma dependiente de la región cerebral (Avilez-Avilez et al. 2025), por lo que se evaluó el perfil inflamatorio de tres citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 en la corteza cerebral e hipocampo bajo las diferentes condiciones experimentales.

Se encontró que los niveles de TNF- $\alpha$  estaban incrementados significativamente en la corteza cerebral del grupo SR young con respecto al grupo Ctrl young ( $p < 0.0001$ , **Fig. 7A**). Además, el grupo Ctrl old presentó un aumento significativo de esta citocina con respecto al grupo Ctrl young ( $p = 0.0044$ , **Fig. 7A**). Por otro lado, el grupo CSR old no presentó diferencias significativas con respecto a las hembras envejecidas que no fueron restringidas de sueño ( $p = 0.2326$ , **Fig. 7A**).

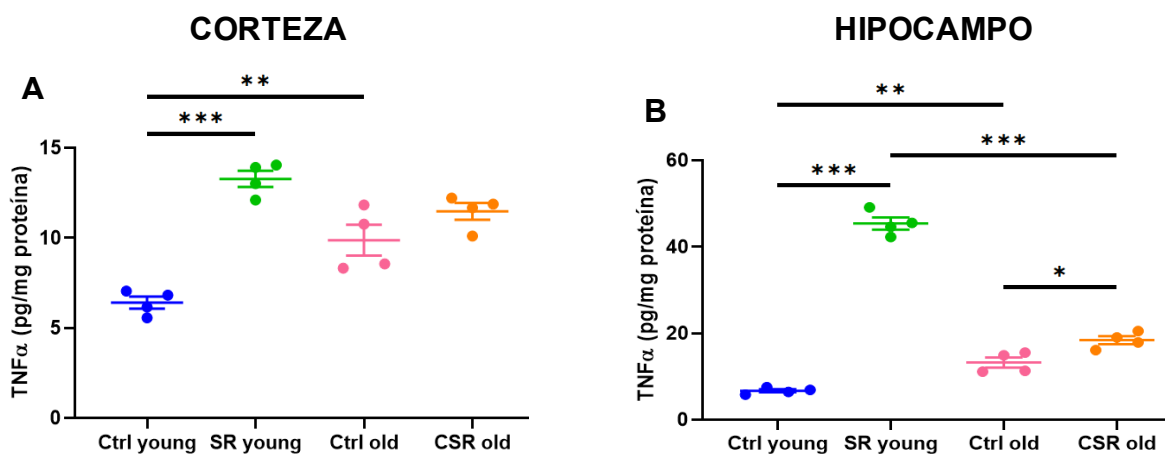
Interesantemente, en la región de hipocampo se encontraron los niveles más altos de TNF- $\alpha$  en el grupo SR young con respecto a los grupos Ctrl young y grupo CSR old ( $p < 0.0001$ ,  $p < 0.0001$ , respectivamente, **Fig. 7B**). El grupo Ctrl old tuvo un aumento significativo con respecto al grupo Ctrl young ( $p = 0.0040$ ), mientras que los niveles de TNF- $\alpha$  del grupo de hembras envejecidas que fueron restringidas de sueño (CSR old) fueron mayores que los de las hembras envejecidas que no fueron restringidas de sueño ( $p = 0.020$ , **Fig. 7B**).

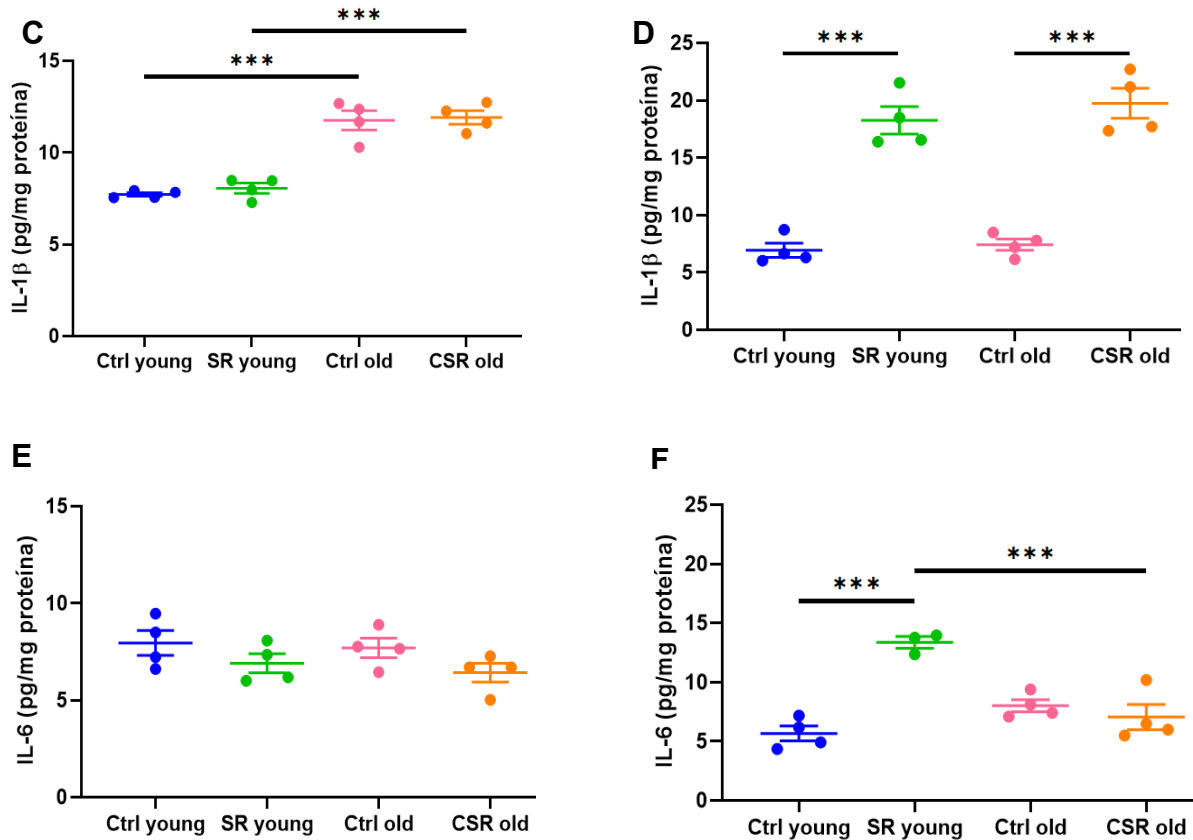
Por otra parte, los niveles de IL-1 $\beta$  estaban incrementados significativamente únicamente en las cortezas cerebrales de los grupos Ctrl old y CSR old con respecto a los grupos Ctrl young y SR young ( $p < 0.0001$  y  $p < 0.0001$  respectivamente, **Fig. 7C**). Mientras tanto, se observaron los mayores niveles de IL-1 $\beta$  en el hipocampo

de los grupos SR young y CSR old con respecto a los grupos Ctrl young y Ctrl old ( $p < 0.0001$ ,  $p < 0.0001$ , **Fig. 7D**). De manera similar a lo observado en  $TNF\alpha$ , la restricción crónica de sueño afectó los niveles de  $IL-1\beta$  en el hipocampo de hembras envejecidas.

Finalmente, no se observaron cambios en los niveles de  $IL-6$  en las cortezas de ningún grupo (**Fig. 7E**) y solo encontramos un aumento significativo de esta citocina en el hipocampo de los animales SR young con respecto a los grupos Ctrl young y CSR old ( $p= 0.0001$ ,  $p= 0.0007$ , **Fig. 7F**).

Estos datos sugieren que tanto la restricción de sueño aguda en hembras jóvenes como el envejecimiento incrementan los niveles de  $TNF\alpha$ , en la corteza cerebral y en el hipocampo. Siendo importante destacar que la corteza cerebral de hembras envejecidas sometidas a restricción crónica de sueño presenta los mismos niveles de citocinas proinflamatorias que las hembras envejecidas no restringidas, lo que sugiere que la restricción de sueño no es un factor que incrementa la inflamación en la tercera edad de hembras, contrario a lo que se observa en hipocampo donde la restricción de sueño si es un factor que incrementa la inflamación.





**Figura 7 | La restricción crónica de sueño incrementa los niveles de citocinas proinflamatorias en el hipocampo durante el envejecimiento.** Las gráficas muestran los niveles de citocinas proinflamatorias TNF- $\alpha$  (A-B), IL-1 $\beta$  (C- D) e IL-6 (E-F) en corteza cerebral e hipocampo. ANOVA de una vía, seguido de la prueba para múltiples comparaciones de Tukey. (n= 3 o 4 por grupo, por duplicado). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ , \*\*\* $p < 0.0001$ . Media $\pm$ S.E.M.

#### 9.4 La restricción crónica de sueño disminuye los niveles de IL-10 y BDNF en el hipocampo de ratas hembra durante el envejecimiento.

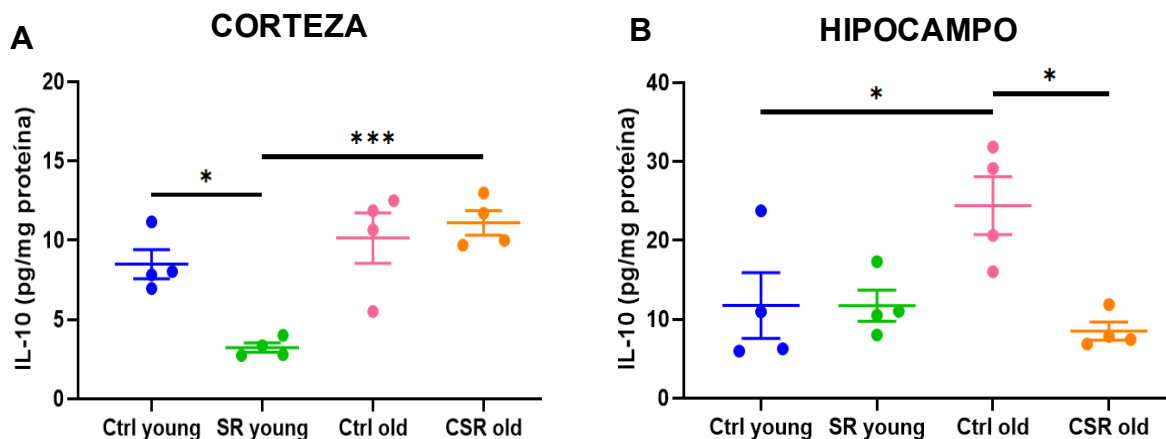
Los procesos inflamatorios en los que incrementa la producción de citocinas generalmente van acompañados de una modulación de factores anti-inflamatorios. Puesto que observamos un incremento de citocinas proinflamatorias en las diferentes condiciones experimentales, determinamos si este perfil proinflamatorio estaba acompañado por cambios en IL-10, una citocina antiinflamatoria y BDNF.

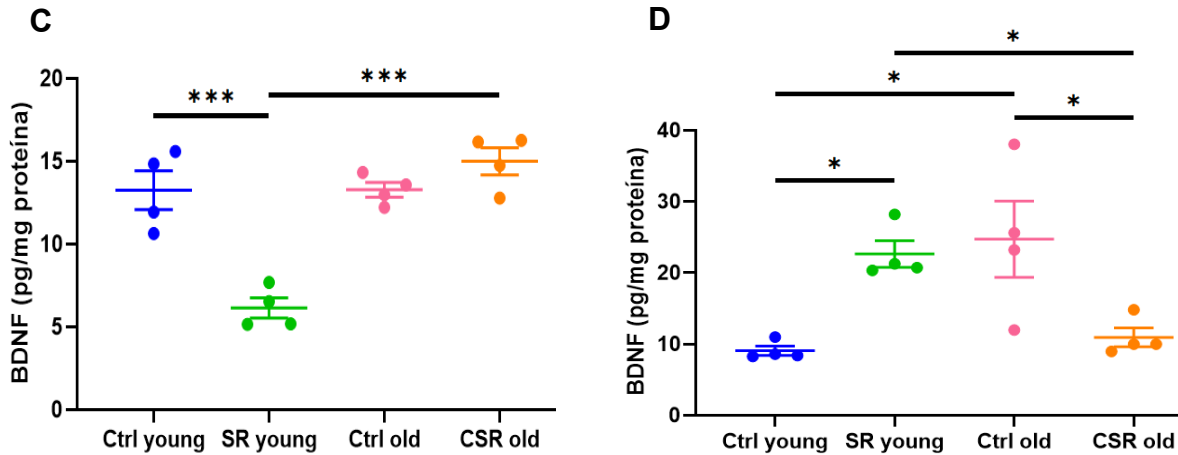
Se observó una disminución de los niveles de IL-10 únicamente en la corteza de los animales SR young con respecto al grupo Ctrl young y el grupo CSR old ( $p= 0.0139$ ,  $p= 0.0007$ , respectivamente, **Fig. 8A**). Mientras que en el hipocampo se encontró un aumento significativo únicamente en las hembras envejecidas sin restricción de sueño (Ctrl old) en comparación con los grupos Ctrl young y CSR old ( $p= 0.0487$ ,  $p= 0.0128$ , **Fig. 8B**).

De manera similar, los niveles de BDNF disminuyeron solamente en la corteza cerebral de las hembras SR young con respecto a los grupos Ctrl young y CSR old ( $p= 0.0002$ ,  $p < 0.0001$ , **Fig. 8C**). Interesantemente, se encontraron niveles elevados en el hipocampo de los grupos SR young y Ctrl old con respecto al grupo Ctrl young ( $p= 0.0295$ ,  $p= 0.0154$ ) y CSR old ( $p= 0.0447$ ,  $p= 0.0295$ , **Fig. 8D**).

Estos resultados sugieren que una sola restricción de sueño en ratas jóvenes reduce significativamente los niveles de IL-10 y BDNF en la corteza cerebral, mientras que en ratas envejecidas sometidas a restricción crónica dichos factores no presentan cambios, lo que sugiere una menor sensibilidad cortical durante el envejecimiento. En el hipocampo, ratas control envejecidas exhiben un incremento de IL-10 y BDNF; sin embargo, la restricción crónica de sueño en esta etapa de la vida provoca una disminución significativa de ambos factores.

Indicando que la reducción de mediadores anti-inflamatorios asociada al envejecimiento y a la restricción crónica de sueño ocurre de manera específica en el hipocampo.





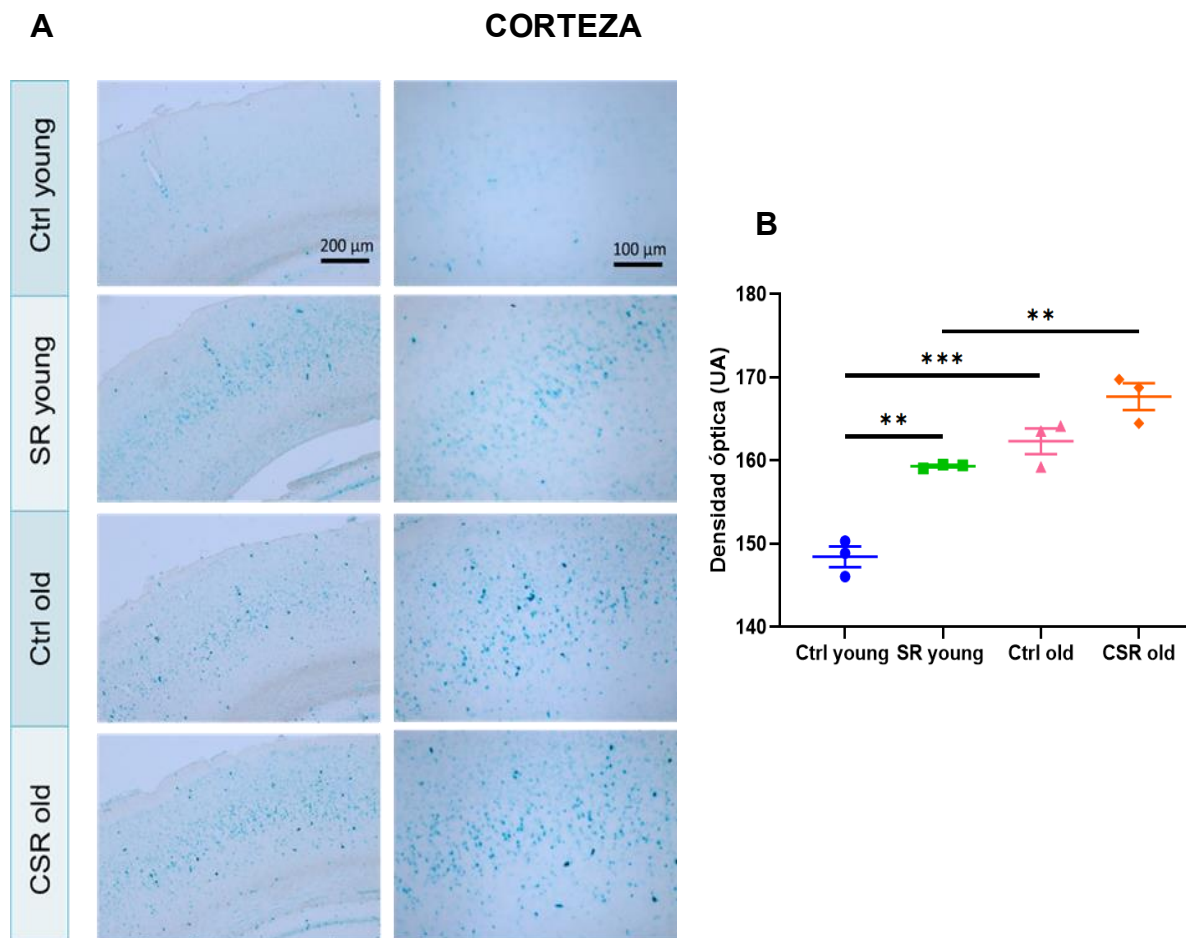
**Figura 8 | La restricción crónica de sueño disminuye los niveles de IL-10 y BDNF en el hipocampo durante el envejecimiento en hembras.** Las gráficas muestran los niveles de IL-10 (A-B) y BDNF (C-D) en corteza cerebral e hipocampo. ANOVA de una vía, seguido de la prueba para múltiples comparaciones de Tukey. (n= 4 por grupo, por duplicado). \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ , \*\*\* $p < 0.0001$ . Media±S.E.M.

### 9.5 La restricción de crónica de sueño no incrementa la actividad relativa de la enzima $\beta$ -galactosidasa en la corteza cerebral e hipocampo de ratas hembra durante el envejecimiento

Puesto que varios de los componentes proinflamatorios que evaluamos han sido considerados marcadores del SASP nos preguntamos si el envejecimiento y la restricción de sueño podrían contribuir a incrementar la incidencia de este proceso en la corteza cerebral y en el hipocampo. Para esto se realizó el ensayo de SA- $\beta$ -gal en cortes cerebrales en la corteza somatosensorial y en las regiones CA1 y CA3 del hipocampo y se determinó la densidad óptica de la tinción.

Se observó que la restricción de sueño en hembras jóvenes indujo un incremento significativo en la densidad óptica de la SA- $\beta$ -gal en la corteza cerebral (SR young vs Ctrl young,  $p = 0.0015$ , Fig. **9AB**). Además, la corteza de hembras envejecidas también presentó un incremento significativo en la densidad óptica de la SA- $\beta$ -gal con respecto a las hembras jóvenes (Ctrl old vs Ctrl young  $p = 0.0003$ , Fig. **9AB**).

Por otra parte, se encontró que la restricción de sueño crónica en hembras envejecidas indujo una mayor densidad óptica de la enzima en la corteza cerebral con respecto al grupo Ctrl young y el grupo SR young ( $p < 0.0001$  y  $p = 0.0076$ , respectivamente, **Fig. 9AB**) mas no con respecto al grupo control envejecido (Ctrl old).

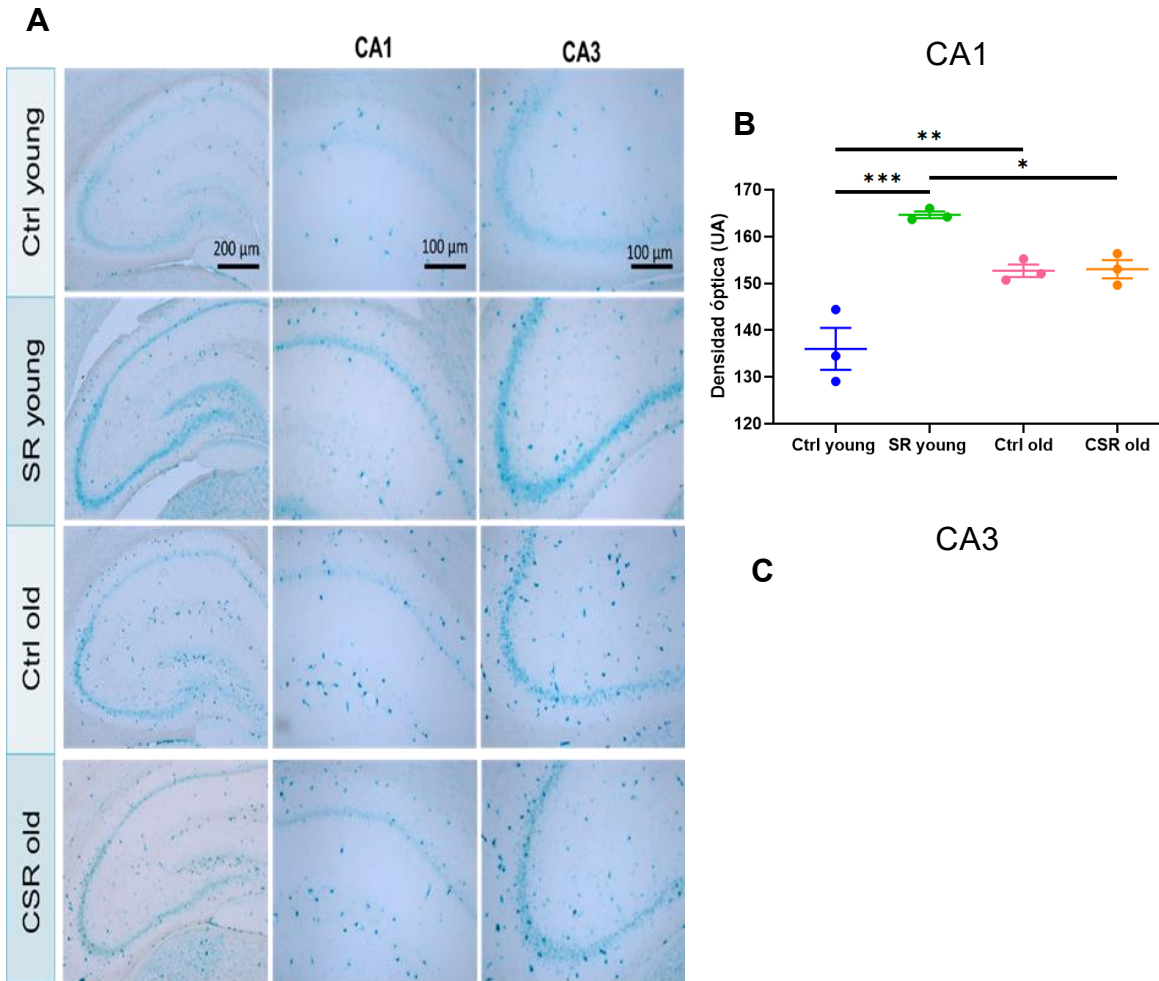


**Figura 9 | La restricción de sueño crónica no incrementa la actividad de la SA- $\beta$ -gal en corteza cerebral durante el envejecimiento.** (A) Imágenes representativas. Microscopía de campo claro, objetivos 5X y 10X. (B) Densidad óptica. Los datos se representan como Media $\pm$ S.E.M. ANOVA de una vía, seguido de la prueba para múltiples comparaciones de Tukey. ( $n = 3$  por grupo, por triplicado). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ , \*\*\* $p < 0.0001$ .

En la región CA1 del hipocampo del grupo SR young también se observó un incremento en la densidad óptica de la SA- $\beta$ -gal con respecto al grupo Ctrl young el grupo Ctrl old y el grupo CSR old ( $p= 0.0002$ ,  $p= 0.0435$  y  $p= 0.0496$ , **Fig. 10AB**), así mismo las hembras envejecidas (Ctrl old) presentaron un aumento significativo en la densidad óptica de esta enzima con respecto al grupo Ctrl young ( $p= 0.0075$ , **Fig. 10AB**), mientras que las hebras envejecidas que habían sido sometidas a restricción crónica de sueño (CSR old) no presentaron un aumento con respecto a su grupo control envejecido (Ctrl old). En CA3 se observó exactamente el mismo efecto en el que el grupo de hembras jóvenes restringidas presentó la mayor densidad óptica de la SA- $\beta$ -gal (SR young vs Ctrl young  $p < 0.0001$ , Ctrl old  $p= 0.0042$  y CSR old  $p= 0.0089$ , respectivamente, **Fig. 10AC**), mientras que el grupo Ctrl old mostró únicamente un aumento significativo con respecto al grupo Ctrl young ( $p= 0.0162$ , **Fig. 10AC**), de igual manera el grupo CSR old no presentó un aumento significativo con respecto a su grupo Ctrl old (**Fig. 10AC**).

Estos datos sugieren que la restricción de sueño crónica no induce un efecto acumulativo en el hipocampo y la corteza de hembras envejecidas. Además, sugiere que el hipocampo parece ser una región más susceptible a la inducción de senescencia celular por restricción de sueño en etapas juveniles que en la vejez.

## HIPOCAMPO

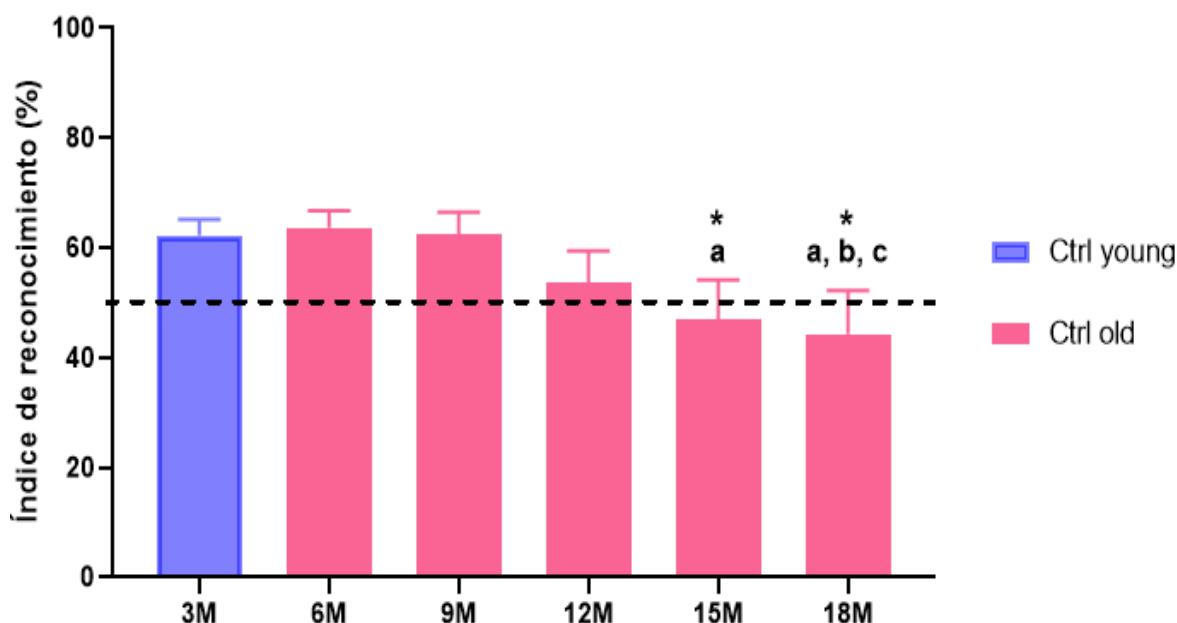


**Figura 10 | La restricción de sueño en hembras jóvenes incrementa la actividad de la SA- $\beta$ -gal en el hipocampo.** (A) Imágenes representativas. Microscopía de campo claro, objetivos 5X y 10X. (B) Densidad óptica de la SA- $\beta$ -gal en la región CA1. (C) Densidad óptica de la SA- $\beta$ -gal en la región CA3. Los datos se representan como Media $\pm$ S.E.M. ANOVA de una vía, seguido de la prueba para múltiples comparaciones de Tukey. ( $n = 3$  por grupo, por triplicado). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ , \*\*\* $p < 0.0001$ .

## 9.6 La restricción de sueño no agrava el deterioro de la memoria en ratas hembra durante el envejecimiento

Para saber si estos cambios celulares podrían estar vinculados en el deterioro cognitivo durante la restricción crónica de sueño evaluamos la memoria declarativa mediante la prueba de reconocimiento de objeto novedoso.

Primeramente, se corroboró el deterioro cognitivo que se presenta durante el envejecimiento normal. En la (**Fig. 11**) se observa que a medida que las ratas envejecen disminuye su capacidad de reconocer el objeto novedoso; esto es evidente a partir de los 15 meses con respecto al grupo Ctrl young ( $p= 0.0420$ ), mientras que a los 18 meses las ratas mostraron una disminución es significativa con respecto al grupo Ctrl young ( $p= 0.0327$ ), y al grupo Ctrl old a los 6 y 9 meses de edad ( $p= 0.0330$  y  $p= 0.0498$  respectivamente, **Fig. 11**).



**Figura 11 | La memoria declarativa disminuye en hembras envejecidas.** Las gráficas muestran el índice de reconocimiento del objeto novedoso del grupo control joven (barra azul) y control envejecido a lo largo de su vida (barras rosas) de la prueba de reconocimiento de objetos. (Ctrl young  $n= 15$ , Ctrl old  $n= 12$ ). Prueba t-student no pareada y pareada. Diferencia significativa contra el grupo Ctrl young (a);

Ctrl old a los 6 meses de edad (b); contra el grupo Ctrl old a los 9 meses de edad (c). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ , \*\*\* $p < 0.0001$ . Media $\pm$ S.E.M.

Posteriormente se determinó la memoria declarativa en los individuos al final de cada uno de los diferentes protocolos de restricción de sueño (día 10), cada tres meses, de los 6 a los 18 meses de vida. En la (**Fig. 12**) se observa que la restricción de sueño aguda en hembras jóvenes induce una disminución del índice de reconocimiento con respecto al grupo Ctrl young ( $p = 0.0400$ ), es decir, disminuye el tiempo que exploran el objeto novedoso, sugiriendo que no tienen la capacidad de distinguirlo del objeto familiar.

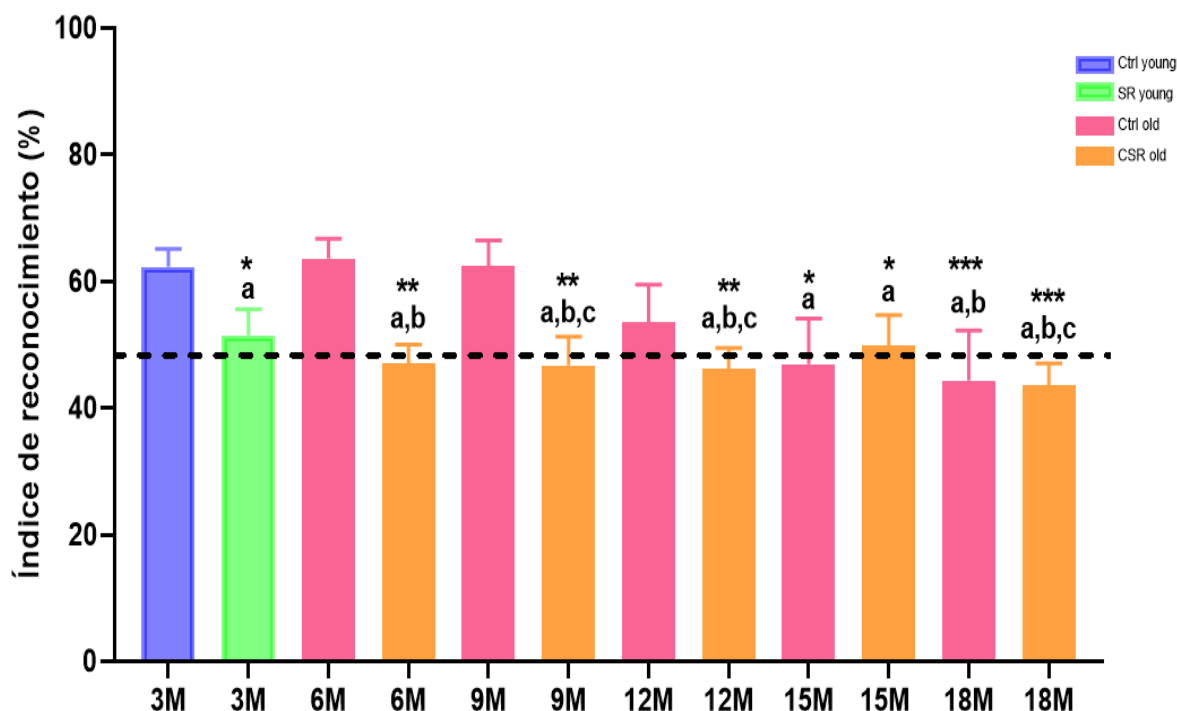
Para el grupo de hembras que empezaron a ser evaluadas a los 6 meses de edad (CSR old) también se observa una disminución del índice de reconocimiento del objeto novedoso con respecto a su grupo control de la misma edad (Ctrl old,  $p = 0.0007$ , **Fig. 12**). De manera interesante este índice también presenta una disminución significativa con respecto al del grupo Ctrl young ( $p = 0.0009$ , **Fig. 12**), mas no presenta una diferencia con respecto al índice de las hembras jóvenes restringidas de sueño. Esto sugiere que la restricción de sueño tiene un efecto similar cuando se realiza a los 3 y a los 6 meses.

A los 9 meses el índice del grupo CSR old disminuyó significativamente con respecto al grupo Ctrl young ( $p = 0.0067$ ), al grupo Ctrl old a los 6 meses y al grupo Ctrl old a los 9 meses ( $p = 0.0067$ ,  $p = 0.0052$ , respectivamente **Fig. 12**) y algo similar se observó a los 12 meses (CSR old 12 meses vs Ctrl young  $p = 0.0010$ , Ctrl old 6 meses  $p = 0.0008$  y Ctrl old 9 meses  $p = 0.0051$ , **Fig. 12**).

A los 15 meses ya no se observa diferencia significativa entre el grupo CSR old y Ctrl old de la misma edad, sin embargo, se sigue conservando la disminución del índice de reconocimiento de los grupos Ctrl old y CSR old con respecto al grupo Ctrl young ( $p = 0.0420$ , **Fig. 12**).

Por último, el índice de discriminación a los 18 meses disminuye en el grupo de hembras sometidas a restricción de sueño crónica (CSR old) con respecto a los grupos Ctrl young, Ctrl old a los 6 y 9 meses ( $p = 0.0002$ ,  $p = 0.0002$  y  $p = 0.0017$

respectivamente, **Fig. 12**), sin embargo, nuevamente no se observa diferencia con entre el grupo CSR old y Ctrl old de la misma edad. Estos datos sugieren que la restricción crónica de sueño no añade un componente acumulativo al deterioro cognitivo durante la vejez en hembras.

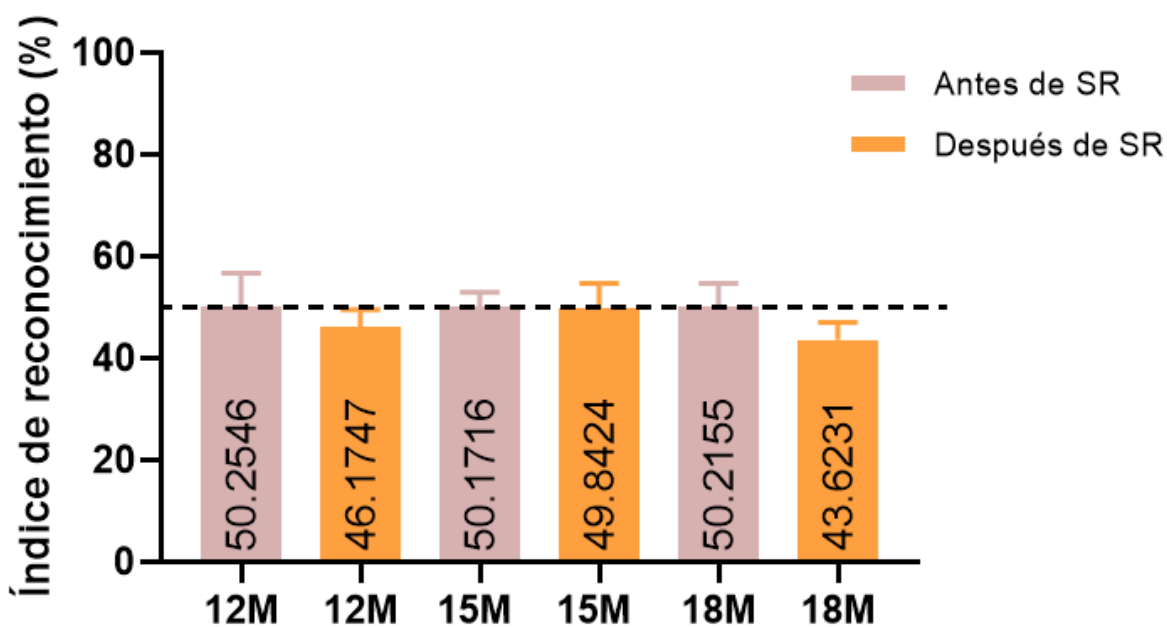


**Figura 12 | La restricción crónica de sueño durante el envejecimiento causa una disminución en la memoria declarativa.** Las gráficas muestran el índice de preferencia de todos los grupos experimentales de la prueba de reconocimiento de objeto novedoso. (Ctrl young, SR young, n= 15, Ctrl old n= 12, CSR old= 14). Diferencia significativa frente al grupo Ctrl young (a); frente al grupo Ctrl old a los 6 meses (b); frente al grupo Ctrl old a los 9 meses (c). Prueba t-student no pareada y pareada. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ , \*\*\* $p < 0.0001$ . Media  $\pm$  S.E.M.

Para corroborar que la restricción crónica de sueño no tenía un efecto acumulado a lo largo del tiempo se comparó el índice de reconocimiento de los animales envejecidos antes y después de cada protocolo restricción.

Se observó que a partir de los 12 meses de edad el índice de reconocimiento del objeto novedoso era exactamente igual antes y después de cada restricción de sueño (**Fig. 13**) y que este era aproximadamente 50% es decir, que las hembras a partir de los 12 meses de edad ya no pueden distinguir el objeto familiar del novedoso independientemente de si fueron restringidas de sueño, lo mismo sucede a los 15 y 18 meses de edad.

En conjunto estos datos sugieren que en hembras la restricción de sueño no añade un componente acumulado al envejecimiento y que además entre cada protocolo de restricción de sueño a partir de la mediana edad la memoria declarativa sigue disminuida.



**Figura 13 | La recuperación de sueño no mejora la memoria declarativa.** Índice de reconocimiento o discriminación de la prueba de reconocimiento de objeto novedoso del grupo CSR old a partir de los 12 meses antes (barras color lila) y

después (barras color naranja) de cada restricción de sueño, hasta los 18 meses de edad (n= 14). Prueba t-student pareada. Media $\pm$ S.E.M.

## **10. DISCUSIÓN**

Durante el envejecimiento se observa un deterioro progresivo de las funciones celulares del cerebro. Este fenómeno se ha relacionado con procesos característicos de esta etapa de la vida, como el inflammaging y la senescencia celular, los cuales se asocian con un mayor riesgo de desarrollar déficit cognitivo en individuos de la tercera edad (Shafqat et al. 2023).

Recientemente se ha propuesto que la alteración del sueño es un factor de riesgo para desarrollar enfermedades relacionadas con la edad como enfermedades metabólicas y neurodegenerativas (Kritsilis et al. 2018). La disminución en la calidad del sueño se ha asociado a un incremento en los niveles de neuroinflamación, la disfunción glial y alteraciones en la integridad de la BHE (Gordleeva et al. 2020), que son afectaciones que se encuentran en modelos de daño en el sistema nervioso central.

Son pocos los estudios que abordan los efectos de la restricción de sueño en hembras y muchos menos los que estudian los efectos de esta en hembras de edad avanzada. Nuestro estudio se centró en determinar los efectos de la restricción crónica de sueño durante el envejecimiento en ratas hembra.

El estudio de los efectos de la disminución del tiempo de sueño en hembras de edad avanzada es de gran importancia ya que se ha reportado que los trastornos del sueño son más comunes en las mujeres mayores y afectan entre el 40% y el 60% de las mujeres perimenopáusicas o posmenopáusicas reduciendo enormemente su calidad de vida (Pengo et al. 2018).

## **10.1 La restricción de sueño promueve cambios diferenciales en la permeabilidad de la BHE en ratas hembra**

Demostramos que la restricción crónica de sueño en ratas hembra induce un aumento en la permeabilidad de la BHE en la corteza cerebral al trazador Na-F y azul de Evans, lo que sugiere que la restricción crónica de sueño representa un factor que induce un efecto acumulativo en el envejecimiento en esta región cerebral, mientras que en el hipocampo no encontramos un efecto acumulado de la restricción crónica de sueño. Estos datos sugieren que cada región cerebral responde de manera distinta al envejecimiento y a la restricción de sueño en hembras.

El incremento de Na-F y azul de Evans en la corteza cerebral se asoció con una disminución en la expresión de ZO-1 en los animales restringidos de sueño y el control envejecido sugiriendo que es la restricción de sueño y el envejecimiento son factores que alteran la expresión de esta proteína. Además, posible que el incremento en la permeabilidad de la BHE como resultado de la restricción de sueño esté inducida por la disminución de ZO-1 es una proteína asociada a la membrana más importante en los lados citosólicos de las uniones estrechas en la BHE, además de estar implicadas en la formación y función de las uniones adherentes (Dithmer et al. 2024).

Ni la restricción ni la edad tuvieron un efecto sobre la expresión de la proteína ocludina, se ha demostrado que esta proteína puede sufrir internalización desde su localización en las uniones estrechas hacia endosomas tempranos y de reciclaje en respuesta a estímulos inflamatorios (por ejemplo CCL2), sin observar necesariamente una disminución significativa de su cantidad total en western blot, lo que implica una disfunción de la BHE asociada a redistribución subcelular más que a pérdida de proteína (Stamatovic et al. 2009), por lo que en futuros estudios se podría realizar inmunofluorescencia para determinar si la localización de ZO-1 y ocludina es adecuada en la BHE.

Adicionalmente, estos resultados sugieren que la permeabilidad de la BHE en hembras se modula de distinta manera bajo condiciones de restricción de sueño

comparado con el modelo de machos jóvenes con 10 días de restricción, donde se ha reportado que incrementa significativamente la permeabilidad de la BHE a Na-F, azul de Evans y rodamina 123 (Medina-Flores et al. 2020), tanto en corteza cerebral como en hipocampo, lo que podría sugerir que las hembras tienen cierta neuroprotección que impide que la BHE se permeable en la región de hipocampo a trazadores de diferente peso molecular.

## **10.2 La restricción de sueño en diferentes etapas de la vida en ratas hembra promueve la inflamación hipocampal**

Estudios previos han demostrado que la pérdida de sueño aguda y crónica da lugar a alteraciones en la respuesta inmunitaria, caracterizada por déficits en el componente celular (tanto en número como en función) y mayores niveles de mediadores proinflamatorios, como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 y PCR (Hurtado-Alvarado et al. 2013). Como se mencionó anteriormente el aumento de mediadores inflamatorios durante la pérdida crónica del sueño puede estar relacionado con la alteración de la BHE y la inducción de la neuroinflamación.

Nuestros resultados sugieren que la restricción aguda y crónica de sueño incrementan el proceso neuroinflamatorio en el hipocampo, ya que se encontraron altos niveles de citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . De manera interesante la respuesta de los factores antiinflamatorios y tróficos IL-10 y BDNF, fue distinta dependiendo de la edad del individuo y de si había sido expuesto a restricción crónica o aguda, sugiriendo que los factores neuroprotectores se regulan de manera independiente a los inflamatorios, donde durante la vejez hay un incremento de estos factores neuroprotectores en hembras y estos se ven reducidos con la restricción crónica de sueño.

En contraste con lo previamente reportado por nuestro grupo de investigación, en ratones jóvenes restringidos de sueño durante 10 días se encontró un aumento de los niveles de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 en hipocampo (Avilez-Avilez et al. 2025), mismos cambios que se pudieron observar en las hembras jóvenes restringidas de sueño en la región de hipocampo.

Esto podría explicarse a las hormonas sexuales femeninas como el estrógeno que es capaz de atravesar la BHE y producirse endógenamente en el cerebro (Balthazart & Ball 2006, Prange-Kiel et al. 2003, Rune & Frotscher. 2005). Décadas de investigación han destacado esta hormona como una molécula de señalización crítica dentro del cerebro, capaz de afectar la función sináptica (Balthazart & Ball 2006, Garcia-Ovejero et al. 2005), la inflamación (Straub. 2007), así como en el aprendizaje y la memoria (Sato et al. 2023), modulando la plasticidad sináptica y la neuroprotección al estimular la expresión de múltiples genes como *BDNF* un regulador maestro de la supervivencia de las células neuronales, la plasticidad sináptica, la función hipocámpal y el aprendizaje, en las neuronas del hipocampo (Roepke et al. 2011, Wrann et al. 2013, Briz et al. 2015).

Se ha demostrado que los estrógenos ayudan a mantener la función de la BHE, en un modelo de ratas hembra ovariectomizadas hay un aumento de 2.2 veces en la extravasación del trazador azul de Evans en el cerebro en comparación con los controles intactos (Wilson et al. 2008), sugiriendo un papel protector del estrógeno en la neurovasculatura.

Además de los estrógenos, la progesterona ejerce efectos neuroprotectores en varios modelos de lesión cerebral, incluida la isquemia cerebral (Allen et al. 2016, Espinosa-Garcia et al. 2020, Zhu et al. 2019). Esa una hormona esteroide secretada por las gónadas y las glándulas suprarrenales , pero también es un neurosteroides producido en el sistema nervioso central por las neuronas y la glía (Guennoun. 2020, Stein. 2017, Taraborrelli. 2015). En un estudio reciente utilizando un modelo de hipoperfusión cerebral crónica en ratas macho de entre 12 a 14 meses de edad, la administración de progesterona durante 7 días después de la cirugía disminuyó significativamente la extravasación del trazador azul de Evans en la corteza prefrontal así el hipocampo dorsal y ventral a niveles control, interesantemente el tratamiento también previno la disminución de la expresión de proteínas de unión estrecha (ZO-1, ocludina y claudina-5) en estas mismas regiones cerebrales (Espadín et al. 2025), sugiriendo que la progesterona puede generar una

respuesta neuroprotectora observada en este modelo, al prevenir la pérdida de proteínas de unión estrecha endotelial y previniendo así la disfunción de la BHE.

Finalmente, es importante mencionar que el hipocampo parece ser más propenso a desarrollar neuroinflamación en comparación con la corteza cerebral, pero que, interesantemente, esta no se asocia con una mayor permeabilidad de la BHE. Futuros estudios deberán determinar cuáles son las consecuencias de esta inflamación hipocampal bajo condiciones de restricción de sueño.

### **10.3 La corteza cerebral no muestra un efecto inflamatorio acumulativo de la restricción crónica de sueño durante el envejecimiento**

Los resultados obtenidos en la corteza cerebral indican que la respuesta a la restricción de sueño y al envejecimiento no es uniforme y depende tanto del mediador evaluado como de la edad del individuo. El incremento de TNF- $\alpha$  observado sugiere que este mediador proinflamatorio se asocia tanto a la restricción de sueño como al envejecimiento per se; sin embargo, la ausencia de un aumento adicional en animales envejecidos sometidos a restricción crónica de sueño indica que no existe un efecto acumulativo de este estímulo en la vejez. De manera similar, IL-1 $\beta$  se encontró incrementada únicamente como consecuencia del envejecimiento, sin verse modulada por la restricción de sueño, mientras que IL-6 permaneció sin cambios en todas las condiciones experimentales. En contraste, la disminución de IL-10 y BDNF se observó exclusivamente en animales jóvenes sometidos a restricción de sueño, lo que sugiere que la corteza cerebral joven presenta una mayor susceptibilidad a la pérdida de mediadores antiinflamatorios y neurotróficos inducida por la privación de sueño. En conjunto, estos hallazgos apoyan la idea de que la corteza cerebral responde de manera diferencial a la restricción de sueño y al envejecimiento, y que los mecanismos involucrados no necesariamente se potencian de forma aditiva durante el envejecimiento.

Un estudio ha demostrado que existe una heterogeneidad microglial específica de la región cerebral en ratones de 2 meses de edad encontraron que la microglía de hipocampo y de la corteza prefrontal medial presentaron mayor longitud total y mayor número medio de intersecciones de procesos microgliales, mientras que en

ratones viejos de 20 meses de edad mostraron un tamaño de microglía notablemente mayor, una longitud total reducida de los procesos microgliales y una longitud máxima reducida. Sin embargo, 48 h de privación de sueño disminuyó la densidad y la morfología en los ratones viejos, mientras que en ratones jóvenes aumento la densidad y morfología en la mayoría de las regiones cerebrales (Ni et al. 2024). Esto sugiere que la privación de sueño puede desregular el estado homeostático de la microglía de manera dependiendo la región y edad. Adicionalmente, se ha reportado demostramos que la microglía posee mayor complejidad morfológica y capacidad fagocítica en el hipocampo en comparación con la corteza cerebral (Tan et al. 2025), lo que podría contribuir a las respuestas diferenciales en ambas regiones.

#### **10.4 La restricción crónica de sueño no exagera la senescencia celular en el cerebro envejecido**

En cuanto al proceso de senescencia celular, nuestros resultados sugieren que este proceso no se exagera con la restricción crónica de sueño en hembras envejecidas, ya que tanto en corteza cerebral como en el hipocampo no existieron diferencias significativas entre el grupo Ctrl old y CSR old.

Posiblemente existan otros mecanismos celulares en etapas tardías de edad como la muerte celular por apoptosis, necroptosis, piroptosis etc (Higami & Shimokawa et al. 2000, Royce et al. 2019, Zhou et al. 2023), mecanismos que no se determinaron en el presente trabajo.

Otra posibilidad es que el número de células senescentes haya alcanzado un máximo y no pueda progresar más allá, lo cual en este momento no permite diferenciar dichos eventos inductores.

En etapas jóvenes si se observa un incremento en la SA- $\beta$ -gal, comparado contra el grupo CSR old en el hipocampo, posiblemente en respuesta al estrés y la neuroinflamación generadas por la restricción de sueño (Cao et al. 2024, Zhu et al. 2012). Recientemente nuestro grupo reportó la inducción de senescencia en ratones jóvenes restringidos de sueño durante 10 días, al encontrar incrementada

la tinción de SA- $\beta$ -gal aunado a un aumento en la expresión de la proteína p21 y GLB en corteza e hipocampo (Avilez-Avilez et al. 2025), lo que concuerda con nuestros resultados en hembras jóvenes.

### **10.5 La restricción de sueño no agrava el deterioro de la memoria durante el envejecimiento**

Utilizando la prueba de reconocimiento novedoso, encontramos que las ratas sometidas al protocolo de restricción de sueño crónica disminuyeron significativamente su capacidad para discriminar entre el objeto novedoso y el objeto familiar únicamente hasta los 9 meses de edad, a los 12, 15 18 meses la restricción crónica de sueño no añadió un factor al deterioro de la memoria declarativa. Sin embargo, una de las grandes limitantes fue que las pruebas conductuales se realizaron durante la fase de luz inmediatamente después de cada protocolo de restricción de sueño, este factor podría disminuir de manera homogénea el performance de los animales sobre todo en la vejez ya que corresponde a su fase de descanso.

Otra limitante del presente estudio es el hecho de que la prueba de reconocimiento de objeto novedoso no permitiera determinar un efecto acumulativo en la memoria declarativa, ya que índice de discriminación menores de 50% indican preferencia por el objeto familiar o por el lugar en el que se encuentra, lo que se considera un sesgo. Dado que la prueba involucra un entorno de campo abierto requieren períodos de habituación más largos (varios días) que deben realizarse durante varias sesiones de entrenamiento consecutivas (Dere et al. 2007). Una limitación importante del entorno de campo abierto es el aumento de la variabilidad dentro de grupos experimentales similares observados en términos del tiempo de interacción/exploración del animal con el objeto. La alta variabilidad puede deberse a factores de confusión espaciales y contextuales junto con los efectos proansiogénicos del entorno (Hale et al. 2008). En general, esto alarga el ensayo global, reduce la precisión de la prueba y conlleva el uso de un mayor número de animales en cada grupo experimental.

Por lo tanto, los futuros estudios a largo plazo deberán de utilizar otro tipo de pruebas conductuales más adecuadas para detectar el efecto acumulativo de daño por la restricción crónica de sueño en la memoria declarativa, por ejemplo, el laberinto en L o V-maze que consiste en dos brazos separados por 90 grados. Este laberinto tiene largos corredores para minimizar el contexto que rodea a los objetos y reducir el peso de otras posibles señales en lugar de los objetos en sí. Estas características dirigen el comportamiento exploratorio del animal hacia los objetos y facilitan la interacción del animal con el objeto. Además, los brazos en este laberinto son relativamente estrechos, lo que reduce el posible sesgo relacionado con la ansiedad del entorno de campo abierto. En conjunto, esta versión del laberinto maximiza el tiempo de exploración de los objetos en relación con el contexto circundante y aumenta la precisión de la prueba. Esta configuración mejorada se ha utilizado con éxito para evaluar la memoria a corto y largo plazo en función del tiempo de retención definido entre la sesión de entrenamiento y la sesión de prueba (Da Cruz et al. 2020).

## **11. CONCLUSIONES**

Nuestros hallazgos sugieren que los efectos de la restricción de sueño dependen de la edad y de la duración del estímulo (agudo/crónico). Durante el envejecimiento, la restricción crónica de sueño incrementa la BHE de manera selectiva en la corteza cerebral y se asocia con un perfil proinflamatorio y una disminución de factores neurotróficos en el hipocampo, sin evidencias de una exacerbación de la senescencia celular. En contraste, la restricción de sueño en etapas juveniles induce alteraciones más extensas, incluyendo el aumento en la permeabilidad de la BHE en corteza e hipocampo al trazador Na-F, disminución de ZO-1, una respuesta neuroinflamatoria más marcada, activación de procesos asociados a senescencia celular y deterioro de la memoria declarativa tras una restricción aguda. En conjunto, estos hallazgos sugieren que el cerebro joven es particularmente vulnerable a la pérdida de sueño, mientras que en la vejez los efectos de la restricción crónica parecen ser más regionales y no acumulativos.

## 12. PERSPECTIVAS

- Evaluar la expresión de p21 y GLB mediante western blot.
- Determinar los tipos de células a nivel de sistema nervioso central que se vuelven senescentes, en consecuencia, de la restricción aguda y crónica de sueño.
- Evaluación secuencial de cada uno de los parámetros medidos en este estudio después de cada protocolo de restricción de sueño.
- Añadir un grupo experimental que envejezca hasta los 18 meses y en ese momento realizar una sola restricción de sueño, con el fin de determinar si existe un daño acumulativo en el protocolo de restricción crónica.
- Evaluar los niveles de hormonas femeninas como estrógeno y progesterona.

## 13. REFERENCIAS

- Aarsland, D., Creese, B., Politis, M., Chaudhuri, K. R., Ffytche, D. H., Weintraub, D., & Ballard, C. (2017). Cognitive decline in Parkinson disease. *Nature Reviews. Neurology*, 13(4), 217–231. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.27>
- Alcaide, P., Newton, G., Auerbach, S., Sehrawat, S., Mayadas, T.N., Golan, D.E., et al. (2008). p120-Catenin regulates leukocyte transmigration through an effect on VEcadherin phosphorylation. *Blood* 112(7), 2770-2779. 10.1182/blood-2008-03-147181
- Alexander, G. E., Ryan, L., Bowers, D., Foster, T. C., Bizon, J. L., Geldmacher, D. S., & Glisky, E. L. (2012). Characterizing cognitive aging in humans with links to animal models. *Frontiers in aging neuroscience*, 4, 21. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2012.00021>
- Allen, R.S., Sayeed, I., Oumarbaeva, Y., Morrison, K.C., Choi, P.H., Pardue, M.T., Stein, D.G., 2016. Progesterone treatment shows greater protection in brain vs. retina in a rat model of middle cerebral artery occlusion: progesterone receptor levels may play an important role. *Restor. Neurol. Neurosci.* 34 (6), 947–963. <https://doi.org/10.3233/RNN-160672>.

- Artiushin, G., Zhang, S. L., Tricoire, H., & Sehgal, A. (2018). Endocytosis at the Drosophila blood-brain barrier as a function for sleep. *eLife*, 7, e43326. <https://doi.org/10.7554/eLife.43326>
- Avilez-Avilez, J. J., García-Aviles, J. E., Ramírez-Carretero, R. J., Salas-Venegas, V., Guzmán-Ruiz, M. A., Medina-Flores, F., Königsberg, M., Chavarría, A., & Gómez-González, B. (2025). Progressive Blood-Brain Barrier Disruption in Sleep-Restricted Young Mice: Cellular Senescence and Neuroinflammation Crosstalk. *Neurochemical research*, 50(5), 269. <https://doi.org/10.1007/s11064-025-04510-y>
- Avilez-Avilez., Ramírez-López & Guzmán-Ruiz. (2025). Women's need for a Good night sleep. *World Women In Neuroscience*. <https://mailchi.mp/adbecdcec43f/wwn-july-2025-newsletter-sleep-hygiene-unlocking-better-sleep>
- Ballabh, P., Braun, A., & Nedergaard, M. (2004). The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiology of disease*, 16(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2003.12.016>
- Balthazart, J., & Ball, G. F. (2006). Is brain estradiol a hormone or a neurotransmitter?. *Trends in neurosciences*, 29(5), 241–249. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2006.03.004>
- Banks, S., & Dinges, D. F. (2007). Behavioral and physiological consequences of sleep restriction. *Journal of clinical sleep medicine: JCSM : official publication of the American Academy of Sleep Medicine*, 3(5), 519–528.
- Bavik, C., Coleman, I., Dean, J. P., Knudsen, B., Plymate, S., & Nelson, P. S. (2006). The gene expression program of prostate fibroblast senescence modulates neoplastic epithelial cell proliferation through paracrine mechanisms. *Cancer research*, 66(2), 794–802. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-1716>
- Bernardo-Castro, S., Sousa, J. A., Brás, A., Cecília, C., Rodrigues, B., Almendra, L., Machado, C., Santo, G., Silva, F., Ferreira, L., Santana, I., & Sargento-Freitas, J. (2020). Pathophysiology of Blood-Brain Barrier Permeability Throughout the Different Stages of Ischemic Stroke and Its Implication on Hemorrhagic Transformation and Recovery. *Frontiers in neurology*, 11, 594672. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.594672>

- Blinkouskaya, Y., Caçoilo, A., Gollamudi, T., Jalalian, S., & Weickenmeier, J. (2021). Brain aging mechanisms with mechanical manifestations. *Mechanisms of ageing and development*, 200, 111575. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2021.111575>
- Brinkman, J. E., Reddy, V., & Sharma, S. (2023). Physiology of Sleep. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. PMID: 29494118
- Briz, V., Liu, Y., Zhu, G., Bi, X., & Baudry, M. (2015). A novel form of synaptic plasticity in field CA3 of hippocampus requires GPER1 activation and BDNF release. *The Journal of cell biology*, 210(7), 1225–1237. <https://doi.org/10.1083/jcb.201504092>
- Campisi J. (2013). Aging, cellular senescence, and cancer. *Annual review of physiology*, 75, 685–705. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-030212-183653>
- Cao, D., Zhao, Y., Wang, Y., Wei, D., Yan, M., Su, S., Pan, H., & Wang, Q. (2024). Effects of sleep deprivation on anxiety-depressive-like behavior and neuroinflammation. *Brain research*, 1836, 148916. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2024.148916>
- Carroll, J. E., Cole, S. W., Seeman, T. E., Breen, E. C., Witarama, T., Arevalo, J. M. G., Ma, J., & Irwin, M. R. (2016). Partial sleep deprivation activates the DNA damage response (DDR) and the senescence-associated secretory phenotype (SASP) in aged adult humans. *Brain, behavior, and immunity*, 51, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.08.024>
- Chair, S. Y., Wang, Q., Cheng, H. Y., Lo, S. W., Li, X. M., Wong, E. M., & Sit, J. W. (2017). Relationship between sleep quality and cardiovascular disease risk in Chinese postmenopausal women. *BMC women's health*, 17(1), 79. <https://doi.org/10.1186/s12905-017-0436-5>
- Chattu, V. K., Manzar, Md. D., Kumary, S., Burman, D., Spence, D. W., & Pandi-Perumal, S. R. (2018). The Global Problem of Insufficient Sleep and Its Serious Public Health Implications. *Healthcare*, 7(1). <https://doi.org/10.3390/healthcare7010001>
- Conte, F., Arzilli, C., Errico, B. M., Giganti, F., Iovino, D., & Ficca, G. (2014). Sleep measures expressing 'functional uncertainty' in elderly sleep. *Gerontology*, 60(5), 448–457. <https://doi.org/10.1159/000358083>

- Coppé, J. P., Kauser, K., Campisi, J., & Beauséjour, C. M. (2006). Secretion of vascular endothelial growth factor by primary human fibroblasts at senescence. *The Journal of biological chemistry*, 281(40), 29568–29574. <https://doi.org/10.1074/jbc.M603307200>
- Da Cruz, J. F. O., Gomis-Gonzalez, M., Maldonado, R., Marsicano, G., Ozaita, A., & Busquets-Garcia, A. (2020). An Alternative Maze to Assess Novel Object Recognition in Mice. *Bio-protocol*, 10(12), e3651. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3651>
- Debacq-Chainiaux, F., Erusalimsky, J. D., Campisi, J., & Toussaint, O. (2009). Protocols to detect senescence-associated beta-galactosidase (SA-beta-gal) activity, a biomarker of senescent cells in culture and in vivo. *Nature protocols*, 4(12), 1798–1806. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.191>
- Dere, E., Huston, J. P., & De Souza Silva, M. A. (2007). The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 31(5), 673–704. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.01.005>
- Dimri, G. P., Lee, X., Basile, G., Acosta, M., Scott, G., Roskelley, C., Medrano, E. E., Linskens, M., Rubelj, I., & Pereira-Smith, O. (1995). A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(20), 9363–9367. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.20.9363>
- Dion-Albert, L., Bandeira Binder, L., Daigle, B., Hong-Minh, A., Lebel, M., & Menard, C. (2022). Sex differences in the blood-brain barrier: Implications for mental health. *Frontiers in neuroendocrinology*, 65, 100989. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2022.100989>
- Durmer, J. S., & Dinges, D. F. (2005). Neurocognitive consequences of sleep deprivation. *Seminars in neurology*, 25(1), 117–129. <https://doi.org/10.1055/s-2005-867080>

- Dykiert, D., Der, G., Starr, J. M., & Deary, I. J. (2012). Age differences in intra-individual variability in simple and choice reaction time: systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 7(10), e45759. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045759>
- Espadín M, Cervantes M, Coyoy-Salgad, Espinosa-Garcia, Gómez-González, Morali G. (2025). Progesterone restores blood-brain barrier and memory after chronic cerebral hypoperfusion in male rats. *Brain Behavior and Immunity Integrative*. (11):1-16. <https://doi.org/10.1016/j.bbii.2025.100132>
- Espinosa-Garcia, C., Atif, F., Yousuf, S., Sayeed, I., Neigh, G.N., Stein, D.G., 2020. Progesterone attenuates stress-induced NLRP3 inflammasome activation and enhances autophagy following ischemic brain injury. *Int. J. Mol. Sci.* 21 (11), 3740. <https://doi.org/10.3390/ijms21113740>
- Estudio Nacional sobre Salud y Envejecimiento en México. (2001). Bienestar económico de la población de edad media y avanzada en México: Primeros resultados del Estudio Nacional de Salud y Envejecimiento en México. *INEGI*. 9–12. <https://www.inegi.org.mx/programas/enasem/2021/>
- Garcia-Ovejero, D., Azcoitia, I., Doncarlos, L. L., Melcangi, R. C., & Garcia-Segura, L. M. (2005). Glia-neuron crosstalk in the neuroprotective mechanisms of sex steroid hormones. *Brain research. Brain research reviews*, 48(2), 273–286. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2004.12.018>
- Gary, R. K., & Kindell, S. M. (2005). Quantitative assay of senescence-associated beta-galactosidase activity in mammalian cell extracts. *Analytical biochemistry*, 343(2), 329–334. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.06.003>
- Gómez-González, B., Hurtado-Alvarado, G., Esqueda-León, E., Santana-Miranda, R., Rojas-Zamorano, J. Á., & Velázquez-Moctezuma, J. (2013). REM sleep loss and recovery regulates blood-brain barrier function. *Current neurovascular research*, 10(3), 197–207. <https://doi.org/10.2174/15672026113109990002>
- Gordleeva, S., Kanakov, O., Ivanchenko, M., Zaikin, A., & Franceschi, C. (2020). Brain aging and garbage cleaning: Modelling the role of sleep, glymphatic system, and

microglia senescence in the propagation of inflammaging. *Seminars in immunopathology*, 42(5), 647–665. <https://doi.org/10.1007/s00281-020-00816-x>

Guennoun, R., 2020. Progesterone in the Brain: hormone, Neurosteroid and Neuroprotectant. *Int. J. Mol. Sci.* 21 (15), 5271. <https://doi.org/10.3390/ijms21155271>

Hale, M. W., Hay-Schmidt, A., Mikkelsen, J. D., Poulsen, B., Shekhar, A., & Lowry, C. A. (2008). Exposure to an open-field arena increases c-Fos expression in a distributed anxiety-related system projecting to the basolateral amygdaloid complex. *Neuroscience*, 155(3), 659–672. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.05.054>

He, J., Hsuchou, H., He, Y., Kastin, A. J., Wang, Y., & Pan, W. (2014). Sleep restriction impairs blood-brain barrier function. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 34(44), 14697–14706. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2111-14.2014>

Higami, Y., & Shimokawa, I. (2000). Apoptosis in the aging process. *Cell and tissue research*, 301(1), 125–132. <https://doi.org/10.1007/s004419900156>

Hirshkowitz, M., Whiton, K., Albert, S. M., Alessi, C., Bruni, O., DonCarlos, L., Hazen, N., Herman, J., Katz, E. S., Kheirandish-Gozal, L., Neubauer, D. N., O'Donnell, A. E., Ohayon, M., Peever, J., Rawding, R., Sachdeva, R. C., Setters, B., Vitiello, M. V., Ware, J. C., & Adams Hillard, P. J. (2015). National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: Methodology and results summary. *Sleep Health*, 1(1), 40–43. <https://doi.org/10.1016/j.sleh.2014.12.010>

Hita-Contreras, F., Zagalaz-Anula, N., Martínez-Amat, A., Cruz-Díaz, D., Sánchez-Montesinos, I., Aibar-Almazán, A., & Lomas-Vega, R. (2018). Sleep quality and its association with postural stability and fear of falling among Spanish postmenopausal women. *Menopause*, 25(1), 62–69. <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000000941>

Huang, W. Y., Huang, C. C., Chang, C. C., Kor, C. T., Chen, T. Y., & Wu, H. M. (2017). Associations of Self-Reported Sleep Quality with Circulating Interferon Gamma-

Inducible Protein 10, Interleukin 6, and High-Sensitivity C-Reactive Protein in Healthy Menopausal Women. *PloS one*, 12(1), e0169216. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169216>

Huang, X., Hussain, B., & Chang, J. (2021). Peripheral inflammation and blood-brain barrier disruption: effects and mechanisms. *CNS neuroscience & therapeutics*, 27(1), 36–47. <https://doi.org/10.1111/cns.13569>

Hurtado-Alvarado G, Domínguez-Salazar E, Pavon L, Velázquez-Moctezuma J, Gómez-González B. Blood-Brain Barrier Disruption Induced by Chronic Sleep Loss: Low-Grade Inflammation May Be the Link. *Journal of Immunology Research*. 2016;2016:4576012. DOI: 10.1155/2016/4576012. PMID: 27738642; PMCID: PMC5050358.

Hurtado-Alvarado, G., Becerril-Villanueva, E., Contis-Montes de Oca, A., Domínguez-Salazar, E., Salinas-Jazmín, N., Pérez-Tapia, S. M., Pavon, L., Velázquez-Moctezuma, J., & Gómez-González, B. (2018). The yin/yang of inflammatory status: Blood-brain barrier regulation during sleep. *Brain, behavior, and immunity*, 69, 154–166. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.11.009>

Hurtado-Alvarado, G., Pavón, L., Castillo-García, S. A., Hernández, M. E., Domínguez-Salazar, E., Velázquez-Moctezuma, J., & Gómez-González, B. (2013). Sleep loss as a factor to induce cellular and molecular inflammatory variations. *Clinical & developmental immunology*, 2013, 801341. <https://doi.org/10.1155/2013/801341>

Iadecola C. (2013). The pathobiology of vascular dementia. *Neuron*, 80(4), 844–866. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.008>

Ibrahim, L., Duncan, W., Luckenbaugh, D. A., Yuan, P., Machado-Vieira, R., & Zarate, C. A., Jr (2011). Rapid antidepressant changes with sleep deprivation in major depressive disorder are associated with changes in vascular endothelial growth factor (VEGF): a pilot study. *Brain research bulletin*, 86(1-2), 129–133. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.06.003>

- Idda, M. L., McClusky, W. G., Lodde, V., Munk, R., Abdelmohsen, K., Rossi, M., & Gorospe, M. (2020). Survey of senescent cell markers with age in human tissues. *Aging*, 12(5), 4052–4066. <https://doi.org/10.18632/aging.102903>
- Jiang, X., Andjelkovic, A. V., Zhu, L., Yang, T., Bennett, M. V. L., Chen, J., Keep, R. F., & Shi, Y. (2018). Blood-brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke. *Progress in neurobiology*, 163-164, 144–171. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2017.10.001>
- Juarez-Cedillo, T., Gonzelez-Figueroa, E., Gutierrez-Gutierrez, L., Aguilar-Navarro, S. G., Garcia-Cruz, J. C., Escobedo de la Peña, J., & Suerna-Hernandez, A. (2022). Prevalence of Dementia and Main Subtypes in Mexico: The Study on Aging and Dementia in Mexico (SADEM). *Journal of Alzheimer's disease: JAD*, 89(3), 931–941. <https://doi.org/10.3233/JAD-220012>
- Kadry, H., Noorani, B., & Cucullo, L. (2020). A blood-brain barrier overview on structure, function, impairment, and biomarkers of integrity. *Fluids and barriers of the CNS*, 17(1), 69. <https://doi.org/10.1186/s12987-020-00230-3>
- Kales, A., Wilson, T., Kales, J. D., Jacobson, A., Paulson, M. J., Kollar, E., & Walter, R. D. (1967). Measurements of all-night sleep in normal elderly persons: effects of aging. *Journal of the American Geriatrics Society*, 15(5), 405–414. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1967.tb02072.x>
- Kalia, L. V., & Lang, A. E. (2015). Parkinson's disease. *Lancet*, 386(9996), 896–912. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61393-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3)
- Kisler, K., Nelson, A. R., Montagne, A., & Zlokovic, B. V. (2017). Cerebral blood flow regulation and neurovascular dysfunction in Alzheimer disease. *Nature reviews. Neuroscience*, 18(7), 419–434. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.48>
- Klerman, E. B., & Dijk, D. J. (2008). Age-related reduction in the maximal capacity for sleep-implications for insomnia. *Current biology: CB*, 18(15), 1118–1123. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.06.047>

- Komarova, Y.A., Kruse, K., Mehta, D., Malik, A.B. (2017). Protein Interactions at Endothelial Junctions and Signaling Mechanisms Regulating Endothelial Permeability. *Circ. Res.*, 120 (1), 179–206. <https://doi.org/10.1161/circresaha.116.306534>
- Kritsilis, M., Rizou, S., Koutsoudaki, P. N., Evangelou, K., Gorgoulis, V. G., & Papadopoulos, D. (2018). Ageing, Cellular Senescence and Neurodegenerative Disease. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 2937. <https://doi.org/10.3390/ijms19102937>
- Landolt, H. P., Dijk, D. J., Achermann, P., & Borbély, A. A. (1996). Effect of age on the sleep EEG: slow-wave activity and spindle frequency activity in young and middle-aged men. *Brain research*, 738(2), 205–212. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(96\)00770-6](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(96)00770-6)
- Lee, B. Y., Han, J. A., Im, J. S., Morrone, A., Johung, K., Goodwin, E. C., Kleijer, W. J., DiMaio, D., & Hwang, E. S. (2006). Senescence-associated beta-galactosidase is lysosomal beta-galactosidase. *Aging cell*, 5(2), 187–195. <https://doi.org/10.1111/j.14749726.2006.00199.x>; <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.04.001>
- Levin, O., Fujiyama, H., Boisgontier, M. P., Swinnen, S. P., & Summers, J. J. (2014). Aging and motor inhibition: a converging perspective provided by brain stimulation and imaging approaches. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 43, 100–117. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.04.001>
- Li, L., Meng, Z., Huang, Y., Xu, L., Chen, Q., Qiao, D., & Yue, X. (2024). Chronic Sleep Deprivation Causes Anxiety, Depression and Impaired Gut Barrier in Female Mice—Correlation Analysis from Fecal Microbiome and Metabolome. *Biomedicines*, 12(12), 2654. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12122654>
- Liebner, S., Czupalla, C. J., & Wolburg, H. (2011). Current concepts of blood-brain barrier development. *The international journal of developmental biology*, 55(4-5), 467–476. <https://doi.org/10.1007/s00427-011-0677-4>
- Lim, D. C., Najafi, A., Afifi, L., Bassetti, C. L., Buysse, D. J., Han, F., Högl, B., Melaku, Y. A., Morin, C. M., Pack, A. I., Poyares, D., Somers, V. K., Eastwood, P. R., Zee, P. C., Jackson, C. L., & World Sleep Society Global Sleep Health Taskforce. (2023). The

need to promote sleep health in public health agendas across the globe. *The Lancet. Public Health*, 8(10), e820–e826. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(23\)00182-2](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(23)00182-2)

Lopes-Paciencia, S., Saint-Germain, E., Rowell, M. C., Ruiz, A. F., Kalegari, P., & Ferbeyre, G. (2019). The senescence-associated secretory phenotype and its regulation. *Cytokine*, 117, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.01.013>

López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2023). Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell*, 186(2), 243–278. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.001>

Magee, C. A., Huang, X. F., Iverson, D. C., & Caputi, P. (2010). Examining the pathways linking chronic sleep restriction to obesity. *Journal of obesity*, 2010, 821710. <https://doi.org/10.1155/2010/821710>

Mander, B. A., Winer, J. R., & Walker, M. P. (2017). Sleep and Human Aging. *Neuron*, 94(1), 19–36. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.02.004>

Mattson M. P. (2004). Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, 430(7000), 631–639. <https://doi.org/10.1038/nature02621>

Mattson, M. P., & Arumugam, T. V. (2018). Hallmarks of Brain Aging: Adaptive and Pathological Modification by Metabolic States. *Cell metabolism*, 27(6), 1176–1199. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.05.011>

Medic, G., Wille, M., & Hemels, M. E. (2017). Short- and long-term health consequences of sleep disruption. *Nature and science of sleep*, 9, 151–161. <https://doi.org/10.2147/NSS.S134864>

Medina-Flores, F., & Gómez-González, B. (2019). La Función del Sueño: Mantener la Integridad de los Sistemas de Protección y Limpieza del Cerebro. *Contactos, Revista de educación en ciencias e ingeniería*, (112), 30 - 39. Recuperado a partir de <https://contactos.izt.uam.mx/index.php/contactos/article/view/29>

Medina-Flores, F., Hurtado-Alvarado, G., Contis-Montes de Oca, A., López-Cervantes, S. P., Konigsberg, M., Deli, M. A., & Gómez-González, B. (2020). Sleep loss disrupts pericyte-brain endothelial cell interactions impairing blood-brain barrier function.

*Brain, behavior, and immunity*, 89, 118–132.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.05.077>

Mendonca, G. V., Pezarat-Correia, P., Vaz, J. R., Silva, L., & Heffernan, K. S. (2017). Impact of Aging on Endurance and Neuromuscular Physical Performance: The Role of Vascular Senescence. *Sports medicine*, 47(4), 583–598.  
<https://doi.org/10.1007/s40279-016-0596-8>

Mezick, E. (2013). Sleep Fragmentation. In: Gellman, M.D., Turner, J.R. (eds) Encyclopedia of Behavioral Medicine. *Springer*. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1005-9\\_847](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1005-9_847)

Narang, I., Manlhiot, C., Davies-Shaw, J., Gibson, D., Chahal, N., Stearne, K., Fisher, A., Dobbin, S., & McCrindle, B. W. (2012). Sleep disturbance and cardiovascular risk in adolescents. *Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, 184(17), E913–E920. <https://doi.org/10.1503/cmaj.111589>

Ni, R. J., Wang, Y. Y., Pu, W. J., Wei, Y. Y., Wei, J. X., Zhao, L. S., & Ma, X. H. (2024). Differential effects of sleep deprivation on behavior and microglia in a brain-region-specific manner in young and aged male mice. *Brain, behavior, and immunity*, 117, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2023.12.031>

NIH State-of-the-Science Conference Statement on management of menopause-related symptoms. (2005). *NIH consensus and state-of-the-science statements*, 22(1), 1–38.

Nishibori, M., Wang, D., Ousaka, D., Wake, H., 2020. High Mobility Group Box-1 and Blood-Brain Barrier Disruption. *Cells* 9 (12). <https://doi.org/10.3390/cells9122650>.

Nitta, T., Hata, M., Gotoh, S., Seo, Y., Sasaki, H., Hashimoto, N., Furuse, M., & Tsukita, S. (2003). Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice. *The Journal of cell biology*, 161(3), 653–660.  
<https://doi.org/10.1083/jcb.200302070>

Ohayon, M. M., Carskadon, M. A., Guilleminault, C., & Vitiello, M. V. (2004). Meta-analysis of quantitative sleep parameters from childhood to old age in healthy individuals:

developing normative sleep values across the human lifespan. *Sleep*, 27(7), 1255–1273. <https://doi.org/10.1093/sleep/27.7.1255>

Owen, J. E., Zhu, Y., Fenik, P., Zhan, G., Bell, P., Liu, C., & Veasey, S. (2021). Late-in-life neurodegeneration after chronic sleep loss in young adult mice. *Sleep*, 44(8), zsab057. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsab057>

Pandit, R., Chen, L., & Götz, J. (2020). The blood-brain barrier: Physiology and strategies for drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 165-166, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.11.009>

Pardridge W. M. (2015). Blood-brain barrier endogenous transporters as therapeutic targets: a new model for small molecule CNS drug discovery. *Expert opinion on therapeutic targets*, 19(8), 1059–1072. <https://doi.org/10.1517/14728222.2015.1042364>

Pardridge, W. M., Eisenberg, J., & Yang, J. (1985). Human blood-brain barrier insulin receptor. *Journal of neurochemistry*, 44(6), 1771–1778. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1985.tb07167.x>

Pengo, M. F., Won, C. H., & Bourjeily, G. (2018). Sleep in Women Across the Life Span. *Chest*, 154(1), 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.04.005>

Prange-Kiel, J., Wehrenberg, U., Jarry, H., & Rune, G. M. (2003). Para/autocrine regulation of estrogen receptors in hippocampal neurons. *Hippocampus*, 13(2), 226–234. <https://doi.org/10.1002/hipo.10075>

Qin, W., Li, J., Zhu, R., Gao, S., Fan, J., Xia, M., et al. (2019). Melatonin protects bloodbrain barrier integrity and permeability by inhibiting matrix metalloproteinase-9 via the NOTCH3/NF-κB pathway. *Aging*, 11(23), 11391-11415. 10.18632/aging.102537

Redline, S., Kirchner, H. L., Quan, S. F., Gottlieb, D. J., Kapur, V., & Newman, A. (2004). The effects of age, sex, ethnicity, and sleep-disordered breathing on sleep architecture. *Archives of internal medicine*, 164(4), 406–418. <https://doi.org/10.1001/archinte.164.4.406>

- Rochfort, K. D., & Cummins, P. M. (2015). Cytokine-mediated dysregulation of zonula occludens-1 properties in human brain microvascular endothelium. *Microvascular research*, 100, 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2015.04.010>
- Rodier, F., Muñoz, D. P., Teachenor, R., Chu, V., Le, O., Bhaumik, D., Coppé, J. P., Campeau, E., Beauséjour, C. M., Kim, S. H., Davalos, A. R., & Campisi, J. (2011). DNA-SCARS: distinct nuclear structures that sustain damage-induced senescence growth arrest and inflammatory cytokine secretion. *Journal of cell science*, 124(Pt 1), 68–81. <https://doi.org/10.1242/jcs.071340>
- Roepke, T. A., Ronnekleiv, O. K., & Kelly, M. J. (2011). Physiological consequences of membrane-initiated estrogen signaling in the brain. *Frontiers in bioscience*, 16(4), 1560–1573. <https://doi.org/10.2741/3805>
- Royce, G. H., Brown-Borg, H. M., & Deepa, S. S. (2019). The potential role of necroptosis in inflammaging and aging. *GeroScience*, 41(6), 795–811. <https://doi.org/10.1007/s11357-019-00131-w>
- Rune, G. M., & Frotscher, M. (2005). Neurosteroid synthesis in the hippocampus: role in synaptic plasticity. *Neuroscience*, 136(3), 833–842. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.03.056>
- Salas-Venegas, V., Santín-Márquez, R., Ramírez-Carreto, R. J., Rodríguez-Cortés, Y. M., Cano-Martínez, A., Luna-López, A., Chavarría, A., Königsberg, M., & López-Díazguerrero, N. E. (2023). Chronic consumption of a hypercaloric diet increases neuroinflammation and brain senescence, promoting cognitive decline in middle-aged female Wistar rats. *Frontiers in aging neuroscience*, 15, 1162747. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1162747>
- Scheltens, P., Blennow, K., Breteler, M. M., de Strooper, B., Frisoni, G. B., Salloway, S., & Van der Flier, W. M. (2016). Alzheimer's disease. *Lancet*, 388(10043), 505–517. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01124-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01124-1)
- Shafqat, A., Khan, S., Omer, M. H., Niaz, M., Albalkhi, I., AlKattan, K., Yaqinuddin, A., Tchkonina, T., Kirkland, J. L., & Hashmi, S. K. (2023). Cellular senescence in brain

aging and cognitive decline. *Frontiers in aging neuroscience*, 15, 1281581. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1281581>

Shi, T., Shah, I., Dang, Q., Taylor, L., & Jagannath, A. (2024). Sex-specific regulation of the cortical transcriptome in response to sleep deprivation. *Frontiers in neuroscience*, 17, 1303727. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1303727>

Stamatovic, S. M., Keep, R. F., Wang, M. M., Jankovic, I., & Andjelkovic, A. V. (2009). Caveolae-mediated internalization of occludin and claudin-5 during CCL2-induced tight junction remodeling in brain endothelial cells. *The Journal of biological chemistry*, 284(28), 19053–19066. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.000521>

Stenuit, P., & Kerkhofs, M. (2008). Effects of sleep restriction on cognition in women. *Biological psychology*, 77(1), 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2007.09.011>

Straub R. H. (2007). The complex role of estrogens in inflammation. *Endocrine reviews*, 28(5), 521–574. <https://doi.org/10.1210/er.2007-0001>

Sun, X. G., Duan, H., Jing, G., Wang, G., Hou, Y., & Zhang, M. (2019). Inhibition of TREM-1 attenuates early brain injury after subarachnoid hemorrhage via downregulation of p38MAPK/MMP-9 and preservation of ZO-1. *Neuroscience*, 406, 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.03.032>

Sundaram S, Hughes RL, Peterson E, Müller-Oehring EM, Brontë-Stewart HM, Poston KL, Faerman A, Bhowmick C, Schulte T (2019) Establishing a framework for neuropathological correlates and glymphatic system functioning in Parkinson's disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 103:305–315

Taishi, P., Sanchez, C., Wang, Y., Fang, J., Harding, J. W., & Krueger, J. M. (2001). Conditions that affect sleep alter the expression of molecules associated with synaptic plasticity. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 281(3), R839–R845. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2001.281.3.R839>

- Tan, Z., Bussies, P. L., Sam, N. B., Irfan, M., DeSilva, T., & Eng, C. (2025). Morphological and functional differences between hippocampal and cortical microglia and its impact on neuronal over-excitation in a germline Pten mutant mouse model. *Neuroscience*, 570, 159–172. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2025.02.044>
- Taraborrelli, S., 2015. Physiology, production and action of progesterone. *Acta Obstet. Et. Gynecol. Scand.* 94 (S161), 8–16. <https://doi.org/10.1111/aogs.12771>. Van Wingen, G.A., Van Broekhoven, F., Verkes, R.J., Petersson, K.M., Backstrom, T., Buitelaar, J.K., Fernandez, G. (2008). Progesterone selectively increases amygdala reactivity in women. *Mol. Psychiatry* 13 (3), 325–333. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002030>
- Tietz, S., Engelhardt, B., 2015. Brain barriers: Crosstalk between complex tight junctions and adherens junctions. *J. Cell. Biol.* 209 (4), 493–506. <https://doi.org/10.1083/jcb.201412147>.
- Van Cauter, E., Leproult, R., & Plat, L. (2000). Age-related changes in slow wave sleep and REM sleep and relationship with growth hormone and cortisol levels in healthy men. *JAMA*, 284(7), 861–868. <https://doi.org/10.1001/jama.284.7.861>
- Vienne, J., Spann, R., Guo, F., & Rosbash, M. (2016). Age-Related Reduction of Recovery Sleep and Arousal Threshold in *Drosophila*. *Sleep*, 39(8), 1613–1624. <https://doi.org/10.5665/sleep.6032>
- Vigers, A. J., Amin, D. S., Talley-Farnham, T., Gorski, J. A., Xu, B., & Jones, K. R. (2012). Sustained expression of brain-derived neurotrophic factor is required for maintenance of dendritic spines and normal behavior. *Neuroscience*, 212, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.03.031>
- Von Bohlen und Halbach O. (2010). Involvement of BDNF in age-dependent alterations in the hippocampus. *Frontiers in aging neuroscience*, 2, 36. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2010.00036>
- Wang, X., Chen, H., Tang, T., Zhan, X., Qin, S., Hang, T., & Song, M. (2024). Chronic Sleep Deprivation Altered the Expression of Memory-Related Genes and Caused Cognitive Memory Dysfunction in Mice. *International journal of molecular sciences*, 25(21), 11634. <https://doi.org/10.3390/ijms252111634>

- Webb, W. B., & Campbell, S. S. (1979). The first night effect revisited with age as a variable. *Waking and sleeping*, 3(4), 319–324.
- Wilson, A. C., Clemente, L., Liu, T., Bowen, R. L., Meethal, S. V., & Atwood, C. S. (2008). Reproductive hormones regulate the selective permeability of the blood-brain barrier. *Biochimica et biophysica acta*, 1782(6), 401–407. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.02.011>
- Wrann, C. D., White, J. P., Salogiannis, J., Laznik-Bogoslavski, D., Wu, J., Ma, D., Lin, J. D., Greenberg, M. E., & Spiegelman, B. M. (2013). Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 $\alpha$ /FNDC5 pathway. *Cell metabolism*, 18(5), 649–659. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.09.008>
- Xie, J., Shen, Z., Anraku, Y., Kataoka, K., & Chen, X. (2019). Nanomaterial-based blood-brain-barrier (BBB) crossing strategies. *Biomaterials*, 224, 119491. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119491>
- Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M. J., Liao, Y., Thiyagarajan, M., O'Donnell, J., Christensen, D. J., Nicholson, C., Iliff, J. J., Takano, T., Deane, R., & Nedergaard, M. (2013). Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*, 342(6156), 373–377. <https://doi.org/10.1126/science.1241224>
- Xue, W., Zender, L., Miething, C., Dickins, R. A., Hernando, E., Krizhanovsky, V., Cordon-Cardo, C., & Lowe, S. W. (2007). Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. *Nature*, 445(7128), 656–660. <https://doi.org/10.1038/nature05529>
- Yun, M. H., Davaapil, H., & Brockes, J. P. (2015). Recurrent turnover of senescent cells during regeneration of a complex structure. *eLife*, 4, e05505. <https://doi.org/10.7554/eLife.05505>
- Zepelin, H., McDonald, C. S., & Zammit, G. K. (1984). Effects of age on auditory awakening thresholds. *Journal of gerontology*, 39(3), 294–300. <https://doi.org/10.1093/geronj/39.3.294>

- Zhang, Y., & Pardridge, W. M. (2001). Rapid transferrin efflux from brain to blood across the blood-brain barrier. *Journal of neurochemistry*, 76(5), 1597–1600. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00222.x>
- Zhao, Y., Gan, L., Ren, L., Lin, Y., Ma, C., & Lin, X. (2022). Factors influencing the blood-brain barrier permeability. *Brain research*, 1788, 147937. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2022.147937>
- Zhao, Z., Nelson, A. R., Betsholtz, C., & Zlokovic, B. V. (2015). Establishment and Dysfunction of the Blood-Brain Barrier. *Cell*, 163(5), 1064–1078. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.067>
- Zhou, J., Qiu, J., Song, Y., Liang, T., Liu, S., Ren, C., Song, X., Cui, L., & Sun, Y. (2023). Pyroptosis and degenerative diseases of the elderly. *Cell death & disease*, 14(2), 94. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-05634-1>
- Zhou, Y., Yang, R., Li, C., & Tao, M. (2017). Sleep disorder, an independent risk associated with arterial stiffness in menopause. *Scientific reports*, 7(1), 1904. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01489-7>
- Zhu, B., Dong, Y., Xu, Z., Gompf, H. S., Ward, S. A., Xue, Z., Miao, C., Zhang, Y., Chamberlin, N. L., & Xie, Z. (2012). Sleep disturbance induces neuroinflammation and impairment of learning and memory. *Neurobiology of disease*, 48(3), 348–355. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.06.022>
- Zhu, X., Frechou, M., Schumacher, M., Guennoun, R., 2019. Cerebroprotection by progesterone following ischemic stroke: multiple effects and role of the neural progesterone receptors. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 185, 90–102. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.07.01>
- Zielinski, M. R., & Gibbons, A. J. (2022). Neuroinflammation, Sleep, and Circadian Rhythms. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 853096. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.853096>

Zlokovic B. V. (2011). Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nature reviews. Neuroscience*, 12(12), 723–738.  
<https://doi.org/10.1038/nrn3114>



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00269

Matrícula: 2233803991

EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN CRÓNICA DE SUEÑO SOBRE LA FUNCIÓN DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA, SENESCENCIA CELULAR, NEUROINFLAMACIÓN Y FUNCIÓN COGNITIVA DURANTE EL ENVEJECIMIENTO EN RATAS HEMBRA.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 11:00 horas del día 8 del mes de enero del año 2026 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DRA. ADRIANA ALARCON AGUILAR
- DRA. BEATRIZ GOMEZ GONZALEZ
- DRA. MARA ALAIDE GUZMAN RUIZ
- DRA. ANAHI CHAVARRIA KRAUSER

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL



DE: ANA BELEN RAMIREZ LOPEZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

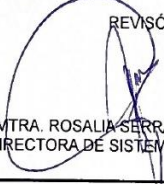
Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

2026

ANA BELEN RAMIREZ LOPEZ  
ALUMNA

REVISÓ



MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS



DRA. EDITH ARENAS RIOS

PRESIDENTA




DRA. ADRIANA ALARCON AGUILAR

VOCAL



DRA. BEATRIZ GOMEZ GONZALEZ

VOCAL



DRA. MARA ALAIDE GUZMAN RUIZ

SECRETARIA



DRA. ANAHI CHAVARRIA KRAUSER