



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

**NEUROPROTECCIÓN DE UN PORTAFOLIO DIETARIO EN UN MODELO
MURINO PARA ALZHEIMER (3xTg-AD)**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA
LIC. EN BIOL. ANA LAURA PINEDO VARGAS

TUTORA
DRA. SOFÍA YOLANDA DÍAZ MIRANDA
INB-UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DRA. CLAUDIA PÉREZ CRUZ
CINVESTAV-IPN

DRA. NIMBE TORRES Y TORRES
INCMNSZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

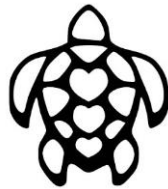
Dedicado a la Familia Pinedo Vargas (mis padres Jesús y Silvia, mis hermanos Jesús y Olivia), por el amor incondicional con que me formaron, ya que este escrito representa parte del agradecimiento que les tengo.

A mis sobrinos Admín, Yael, Omar, Mía e Hiram, con cariño y con el deseo de que cumplan todas sus metas.

A mi Wero con cariño hasta el cielo.

A Morita y Piquín.

Y a mi corazón, por un sueño más.



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES:

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), a la Dirección General de Estudios de Posgrado-UNAM y al Instituto de Neurobiología Campus UNAM-Juquilla por la oportunidad brindada para realizar la Maestría en Ciencias (Neurobiología).

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca recibida para los estudios de Maestría (Número de becario: y del Programa Nacional de Posgrados de Calidad y del proyecto CB-2012-178841 del Fondo Sectorial de Investigación para la Educación).

A la Dirección General de Apoyo al Personal Académico de la DGAPA-UNAM a través de los proyectos PAPIIT: IN-201613 e IN-203616.

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, a la Dra. Nimbe Torres y Torres del Departamento de Fisiología de la Nutrición, por la asesoría académica y el aporte de recursos para la realización del proyecto.

A la Dra. Claudia Pérez Cruz, del Departamento de Farmacología del CINEVESTAV-IPN por su asesoría académica.

A Comercializadora Salani S.A. de C.V. por la donación del aceite extra puro de semilla chía.

UNIDADES DE APOYO TÉCNICO Y ADMINISTRATIVO

Bioterio del INB

M.V.Z. José Martín García Servín y la Dra. Alejandra Castilla León por el cuidado y mantenimiento de los animales requeridos para los experimentos.

Proteogenómica

M. en C. Adriana González Gallardo por la asesoría y apoyo técnico en las genotipificaciones de los animales 3xTg-AD

Microscopía

Ing. Elsa Nydia Hernández Ríos por asesoría y apoyo técnico en la facilitación del equipo y la captura de imágenes.

Posgrado y Videoconferencia del INB

M. en C. Leonor Casanova Rico y Guadalupe Amador Uribe por el apoyo administrativo.

Lic. Lourdes Lara Ayala por el apoyo con el equipo de enlace por videoconferencia.

Biblioteca del campus Juriquilla

Lic. Teresa Soledad Medina Malagón y a la Lic. Teresita de Jesús Pérez Cruz por su apoyo técnico y la facilitación del material bibliográfico.

Cómputo del INB

Ing. Sandra Hernández García y el Ing. Omar González Hernández por el apoyo técnico con el equipo de cómputo para el área de conducta.

Lab C-02A la M. en C. Azucena Ruth Aguilar Vázquez y Jorge Servín de la Cruz por el apoyo técnico recibido.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A la Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda con un profundo agradecimiento por la asesoría a lo largo de estos años como su alumna y la bella amistad que me ha brindado.

Dra. Erika Ma. Orta Salazar estoy sumamente agradecida con la vida al conocerte, gracias a ti por el apoyo y las lecciones tanto académicas como de vida que he recibido, tu amistad, tu cariño y confianza en todo momento, te quiero.

A mis grandes amigos y compañeros de laboratorio, gracias infinitas por todos los ánimos que me dan para seguir adelante y su apoyo incondicional:

Eurídice, Azu, Martha, Ana María, Israel, Isaac, Jovana, Anallely, Zyanya Jaime y Josué. Del INB: Iván, Paola, Alexander, Jaime C, Rodrigo, a Luis Reyes por tanto que me apoyaste desde Nutrición, y gracias a todos por sus palabras y cariño.

Jesús agradezco infinitamente todo el apoyo que me brindaste no solo en este proyecto, también tu confianza y cariño, eres un amigo excepcional, te quiero mucho.

Mis compañeros de la maestría Marianela, Kechu, Melani, Mary Carmen, Mayra, Edna, Jaime, Zeus, Chema, Min, Héctor y Víctor gracias.

Rafa (Poncho) siempre estaré agradecida por todo tu apoyo en la maestría y porque fuiste un gran amigo.

A mis amigos de Querétaro Leticia, Marce, Úrsula, Mary, Javier, Vero, Kristyan, Javi; de Zacatecas Nadia, Lorena, Mariana y amigos del mundo Vincent, Dalí, Ingrid y Susana.

A la M. Sc. Tauqeer Syeda por contribuir a este proyecto

RESUMEN

Los nutrimentos son factores que tienen una influencia directa sobre el desarrollo del sistema nervioso. Una dieta enriquecida en alimentos funcionales (AF) durante la vida, proveerá un potencial neuroprotectivo en estructuras cerebrales vulnerables a la neurodegeneración. El modelo 3xTg-AD para la enfermedad del Alzheimer (EA) expresa las 3 proteínas humanas mutadas (PS1M146V, APP_{Swe} y tau_{P3001}) con deterioro progresivo de las funciones cognitivas, asociadas a cambios en el sustrato neuronal de la formación hipocampal (FH). Este deterioro se favorece cuando la dieta es deficiente en AF, por lo que una intervención nutricional con un portafolio dietario (PD) enriquecido con AF, en los periodos críticos de plasticidad la FH, mejorará el desempeño conductual, a la vez que retardará la agregación del péptido β amiloide (β A). La propuesta del presente trabajo se basó en la intervención con el PD a la madre durante la gestación y en los críos hasta la edad media (12 meses). Se formaron cuatro grupos: uno con PD y uno con dieta de control, para cada condición: 3xTg-AD y no transgénicos (NoTG), en todos se evaluó una conducta dependiente de la FH, el laberinto acuático de Morris (LAM) en dos edades, 7 meses y 12 meses, y su relación con la agregación de los de β A en el subíulum que forma parte de la FH. Los resultados no mostraron diferencias significativas para el LAM a los 7 meses, en los 4 grupos experimentales. Sin embargo, el PD tuvo un efecto en la adquisición de la memoria espacial medida por el LAM a los 12 meses, para los dos grupos intervenidos; estos resultados sugieren un efecto producto de la experiencia previa realizada a los 7 meses. En apoyo a esta idea, se encontró una disminución de β A total, β A₄₂ y MDA en el subíulum de los animales 3xTg-AD intervenidos con el PD a lo largo de su vida. El estudio propone que las propiedades de los AF pueden retardar los eventos asociados a la patología crónica degenerativa del tipo Alzheimer.

SUMMARY

Nutrients are factors that have a direct influence on the development of the nervous system. A diet enriched with functional foods (FF) throughout life, will provide neuroprotective potential in vulnerable brain structures to neurodegeneration. The model (3xTg-AD) for Alzheimer's disease (AD), expresses the 3 human mutated proteins (PS1M146V, APP_{Swe}, and tau_{P3001}), and progressive impairment of cognitive functions associated with changes in the neuronal substrate of hippocampal formation (HF) occurs. This deterioration is favored when the diet is deficient in FF, so a nutritional intervention with a dietary portfolio (DP) enriched with FF in the critical periods of HF plasticity, will improve the cognitive performance, and at the same time will delay the generation of β Amyloid peptide (β A). The proposal of the present study was based on the intervention with the DP to the mother during gestation and to the pups from weaning to the stage of the AD (12 months). Four experimental groups were formed: one with DP and one with control diet, for each condition: 3xTg-AD and not transgenic (NoTG) mice; a HF-dependent behavior was measured in the Morris water maze (MWM). These evaluations were made at two ages, 7 months and 12 months, and their relationship to the aggregation of the β A oligomers in the subiculum area that is part of the HF. The results of the test in the MWM did not show significant differences in the 7-months stage in the 4 experimental groups. However, DP had an effect on spatial memory acquisition curves measured by MWM, at 12 months of age, for the two intervention groups. These results suggest an effect resulting from previous experience in the early stage. In support of this idea, a decrease of total β A, β A42 and MDA, in the animals' subiculum of 3xTg-AD intervened with the DP throughout its life, was found. The study suggests that the epigenetic properties of FF can delay the events associated with chronic degenerative Alzheimer's disease.

ÍNDICE

RESUMEN	1
SUMMARY	2
I. INTRODUCCIÓN	5
II. ANTECEDENTES	7
II.1 Enfermedad de Alzheimer (EA)	7
II.2. Características de la enfermedad de Alzheimer (EA)	9
II.3 Hipótesis del desarrollo de la EA (cascada amiloide)	9
II.3.1. Hipótesis de la proteína tau	11
II.3.2. Hipótesis de la relación obligada entre β A - tau	12
II.4. Desarrollo del modelo triple transgénico para la enfermedad de Alzheimer (3xTg-AD).....	13
II.5 Estrés oxidante (EO) e inflamación, un común denominador en la EA.....	15
II.6 Nutrición y EA.....	16
II.6.1 Estrategia dietaria para el tratamiento de la EA.....	18
II.7. Componentes del Portafolio Dietario (PD).....	20
II.7.1 Opuntia ficus-indica (nopal).....	20
II.7.2 Salvia hispánica (Chía)	24
II.7.3. <i>Curcuma longa</i> (cúrcuma).....	25
II.7.4 <i>Glycine max</i> (soja o soya)	26
III. JUSTIFICACIÓN	27
IV. HIPÓTESIS	27
V. OBJETIVOS	27
V. 1. Objetivos específicos	28
VI. MÉTODOS	29
VI.1 Dieta.....	29
VI.2 Sujetos.....	29
VI.3 Distribución de los grupos experimentales (condición, dieta y edad).....	31
Dos Unidades Reproductivas formadas por 2 hembras y 1 macho (UR) alimentadas con la dieta AIN93 y 3 UR con el PD para el grupo 3xTg-AD o TG y en caso del grupo NoTG fueron 2 UR por cada dieta (AIN93, PD). Se evaluó el peso y la cantidad de dieta ingerida de ambos grupos experimentales (TG y NoTG).....	31
VI.3.1 Grupos experimentales:.....	31
VI. 4. Pruebas conductuales:.....	31
VI. 4.1 Laberinto acuático de Morris (LAM)	31

VI.5. Técnicas Histológicas	32
VI.5.1 Preparación de tejido	32
VI.5.3 Inmunohistoquímica.....	33
VI.6. Obtención de imágenes.....	34
VI.6.1. Microscopía confocal y análisis de las imágenes	34
VI.7. Pruebas estadísticas	35
VII. RESULTADOS	36
VII.I Ganancia de peso de las crías macho.....	36
VII.3 Laberinto Acuático de Morris.....	36
VII.3.1 Evaluación conductual a los 7 meses de edad.....	36
VII.3.2 Evaluación conductual a los 12 meses de edad.....	38
VII.5 Evaluación de proteína β A en el subículum del 3xTg-AD	42
VII.6 Evaluación de malondialdehído (MDA) en el subículum del 3xTg-AD	45
VIII.- DISCUSIÓN.....	46
IX.-CONCLUSIONES.....	52
X. PERSPECTIVAS	53
XI. BIBLIOGRAFIA	54
INDICE DE FIGURAS	67
INDICE DE TABLAS.....	68
INDICE DE ABREVIATURAS.....	69

I. INTRODUCCIÓN

La dieta en el adulto es un factor esencial que afecta el riesgo de padecer enfermedades metabólicas, incluyendo la enfermedad de Alzheimer (EA) y la capacidad potencial de ciertos alimentos y sus compuestos bioactivos para revertir o prevenir su progresión. En EA, el daño en el Sistema Nervioso Central (SNC) se caracteriza por la neurodegeneración debido al depósito extracelular de la proteína β -amiloide (β A) en placas, y de la proteína tau hiperfosforilada (intracelular) que forma redes o marañas neurofibrilares (MNF). Se sabe que la neurodegeneración se inicia en las cortezas de asociación y en el sistema límbico, estructuras vulnerables del SNC que regulan las funciones cognitivas, gracias a los modelos transgénicos que permiten entender los mecanismos celulares que la producen. Aunque presentan limitaciones dado que se modelan usando genes que expresan mutaciones como la proteína ApoE4, que están presentes en el 15-20% de los casos de la EA, mientras que el 80% es de tipo esporádico. El modelo del ratón triple transgénico (3xTg-AD) está generado a partir de la inserción de genes mutados “knock-in” para tres proteínas: presenilina ($PS1_{M146V}$), proteína precursora amiloide (APP_{Swe}) y la proteína tau (tau_{P3001}), contiene así los tres transgenes humanos en el mismo locus y el depósito de β A intra y extra neuronal dependiendo de la edad y regiones específicas, mostrando a su vez deficiencias conductuales. Además, en las regiones cerebrales (formación hipocampal, amígdala y neocorteza) la sobreexpresión de estas 3 proteínas da como resultado el acúmulo simultáneo de las proto fibras de β A hasta la formación de las placas amiloides y las MNF, asociado a la presentación de gliosis reactiva (Oddo, Caccamo, Shepherd, et al., 2003; Oddo, Caccamo, Kitazawa, Tseng, & LaFerla, 2003). Estas características, hacen del 3xTg-AD, la línea genética hasta el presente con mayor validez experimental (Bilkei-Gorzo, 2014) y cuya relevancia fisiológica, radica en poder estudiar y explicar las formas tanto familiares, como las esporádicas de la EA y su desarrollo. Este genotipo permite también el estudio de diversas estrategias terapéuticas o preventivas, por el conocimiento del impacto que los factores medioambientales tienen sobre el metabolismo cerebral y que derivan en la aparición de la EA.

Dentro de los factores medioambientales (epigenéticos), existen estudios sobre los alimentos funcionales (AF), con especial interés en los ácidos grasos (ω -3) y polifenoles cuyas propiedades son benéficas para la salud por sus capacidades anti-oxidantes, anti-inflamatorias y anti-amiloidogénicas, por lo que el consumo en la dieta reduce el riesgo de padecer enfermedades crónico-degenerativas como la EA. En el presente trabajo se decidió probar el efecto a largo plazo de una alimentación utilizando un portafolio dietario (PD) preparado con AF: aceite de chía (ω -3), texturizado de soya, harina de nopal, y cúrcuma (polifenoles) administrado a lo largo de la vida (desde la etapa prenatal, en la edad adulta de 7 meses hasta la mediana edad de 12 meses), en el modelo 3xTg-AD. Este estudio anatómico y conductual, se diseñó para apoyar la hipótesis de la eficacia neuroprotectora y preventiva del PD, cuyas propiedades biofuncionales anti-amiloidogénicas, sustenten un cambio favorable retardando el depósito de los oligómeros y el progreso de la formación de placas β A en la formación hipocampal, residente de la memoria de tipo espacial.

II. ANTECEDENTES

II.1 Enfermedad de Alzheimer (EA)

La EA fue descrita por el médico alemán Aloysius Alzheimer, quien estudió las características clínicas y patológicas de Auguste Deter, de 51 años de edad, quien fuera la primera paciente registrada con la EA y reportada con el caso titulado “*Sobre un proceso patológico peculiar grave de la corteza cerebral*” mismo que se presentó en la XXXVII Reunión de Psiquiatras del Suroeste de Alemania el 3 de noviembre de 1906 y se publicaría al año siguiente (Cipriani, Dolciotti, Picchi, & Bonuccelli, 2011). En el cerebro de esta paciente, el Dr. Alzheimer realizó un minucioso estudio histopatológico *post mortem* (con las técnicas de Bielschowsky y Nissl) y junto con el psiquiatra E. Sioli implementaron la investigación sobre la patología del SN (en el asilo para Lunáticos y Epilépticos de Frankfurt). En este estudio Alzheimer, encontró: “*atrofia de la corteza, una patología extraña de las neurofibrillas, fuertes excrecencias de la neuroglía fibrosa, y numerosas células gliales con forma de varilla, además de sedimentos metabólicos en forma de placas en toda la corteza cerebral, con signos leves de neovascularización*”. Las alteraciones descritas de las neurofibrillas son mucho más pronunciadas que las que pueden encontrarse en pacientes de edad mucho más avanzada” (Figura 1 a y b). Cuatro años después (1911) Alzheimer describió un caso más en Johan F. de 59 años, que presentaba similitud con el de Auguste Deter (Jos & Ezquerro, 2007).

El Dr. Emil Kraepelin, uno de los mejores psiquiatras en su tiempo, y colega del Dr. Alzheimer, fue quien acuñó en 1910 el término “Enfermedad de Alzheimer” en el capítulo “Presenile and Senile Dementia” en la 8ava edición de su libro “Handbook of Psychiatrie”, haciendo una descripción tanto clínica como histopatológica de esta atrofia cerebral. Las descripciones allí mencionadas siguen vigentes hasta nuestros días (Jucker, Beyreuther, Haass, Nitsch, & Christen, 2006).

La EA, pertenece al conjunto de demencias más frecuentes entre la población de adultos mayores (>65años). En 2016 se estimó que la demencia afecta a más de 47.5 millones de personas en el mundo, y se predice que la cifra se triplique hasta 115 millones para el 2050 (Prince et al., 2015).

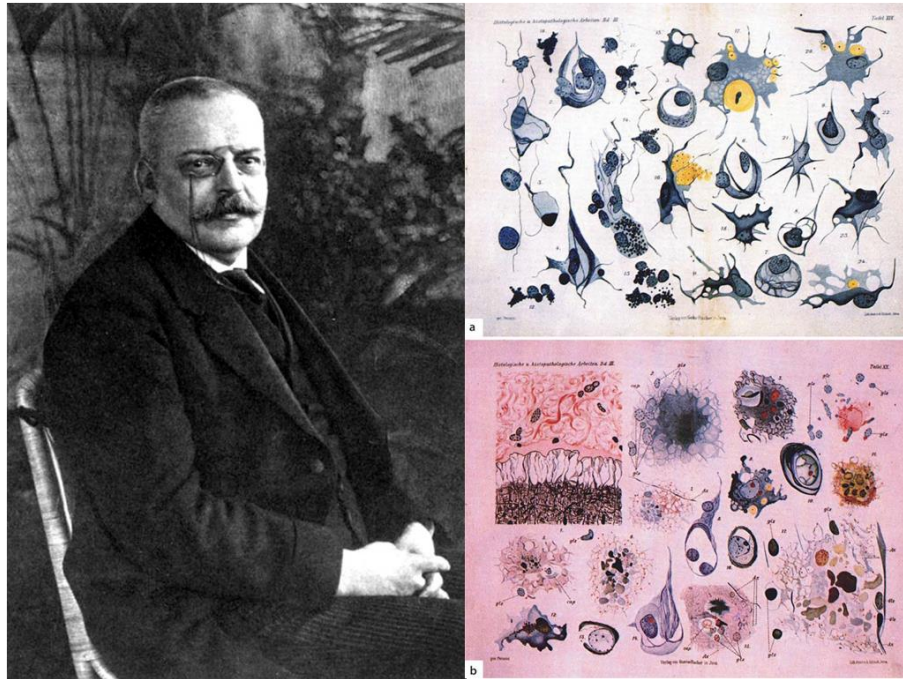


Figura 1. Izquierda: Aloysius Alzheimer. Derecha: (a) Neurofibrillas del cerebro de A. Deter. (b) Imágenes dibujadas con cámara lucida (Abbe), con placas βA (modificado de Jucker et al., 2006).

El Alzheimer representa el 65%, de los casos de demencia, que inicia a una edad promedio de 65 años, por lo que se calcula en más de 30 millones de personas con Alzheimer en el Mundo. En México, al aumentar la esperanza de vida (76 años) y habiendo más de 10 millones de adultos mayores de 60 años (Wortmann, 2015), se estima que 800,000 personas están afectadas por la demencia y su proyección es de 3 millones (Sosa et al., 2012). Por lo tanto, la cifra de la EA (65%) se podría calcular de un poco más de 500,000 personas. Actualmente la demencia es la cuarta causa de muerte en países desarrollados, por lo que se ha destinado gran interés científico-económico para encontrar una explicación etiopatogénica para el diagnóstico temprano e implementar los tratamientos adecuados. Desde 2012, la OMS (Organización Mundial de la Salud) declaró a la demencia como prioridad de Salud Pública y en el mismo año en México se recomendó implementar los programas y políticas de calidad en la prevención y tratamiento del Alzheimer en colaboración con el Instituto Nacional de Geriátría y la Federación Mexicana de Alzheimer.

II.2. Características de la enfermedad de Alzheimer (EA)

Es una patología neurodegenerativa de carácter progresivo e irreversible, de etiología desconocida, para la que aún no se conoce ningún tratamiento capaz de curarla o prevenirla. Es la causa de invalidez, dependencia y mortalidad más frecuente y la forma más común de demencia en los ancianos (Prince et al., 2015). La prevalencia es dependiente de la edad: un reciente meta-análisis en la literatura mostró que en los sujetos de edades comprendidas entre los 60 y 64 años de edad, el 1,3 % fueron diagnosticados con la EA, mientras que en los sujetos con más de 90 este valor fue 63,9 % (Prince et al., 2015). Los cambios en el cerebro que presenta la EA probablemente se desarrollen en un periodo de 20 a 30 años antes de la aparición de los síntomas (Braak, Braak, Bohl, & Bratzke, 1998). La mayoría de los casos se presentan de tipo espontáneo por los factores de riesgo que la propician, los cuales pueden estar ligados al comportamiento humano desde los hábitos en la dieta, el consumo de tabaco, hasta la contaminación de tipo ambiental. Así los estudios epidemiológicos sugieren que personas con bajos niveles de educación, con un historial de trauma cerebral, con consumo alto de calorías, o un estilo de vida sedentaria, son las que tienen el mayor riesgo de presentar la EA (Mattson, 2004; Mayeux, 2003; Mayeux & Stern, 2012) y cuyo origen es la disfunción sináptica cerebral por neurodegeneración de tipo irreversible, con la pérdida progresiva de la memoria (Selkoe, 2002).

II.3 Hipótesis del desarrollo de la EA (cascada amiloide)

La EA se caracteriza por la acumulación en el cerebro de depósitos de pequeños péptidos de diferentes tamaños llamados beta amiloide (β A), que son derivados del fraccionamiento proteolítico secuencial de la proteína precursora amiloide (APP). En la hipótesis de la cascada amiloide, se plantea que por una mutación en APP, se genera el péptido β A que es responsable de la susceptibilidad heredable a la enfermedad de Alzheimer. La APP es transmembranal, codificada por un gen localizado en el cromosoma 21 en los seres humanos. El gen da lugar a tres isoformas principales por "splicing" alternativo y la isoforma APP₆₉₅ que se expresa en las neuronas y se encuentra anclada en el sitio presináptico de la membrana

plasmática, es cortada por las enzimas secretasas alfa (α), beta (β) y gama (γ), generando péptidos βA en forma soluble (Figura 2, proceso amiloidogénico) (Querfurth & LaFerla, 2010). El βA es un péptido que por sí solo no produce ningún daño, pero a medida que se acumula se auto agrega en oligómeros de 6 a 8 unidades, de 4 kd de peso y 32 a 42 aminoácidos y puede ocasionar alteraciones sinápticas y daño neuronal (Lacor, 2004). En roedores las concentraciones en el cerebro normal se estima están en el rango de picomoles (pM), en humanos las concentraciones de βA_{40} y βA_{42} en líquido cerebroespinal alrededor de 1,500 pM y 200 pM respectivamente (Giedraitis et al., 2007; Daniela Puzzo et al., 2008; Schmidt, Nixon, & Mathews, 2005).

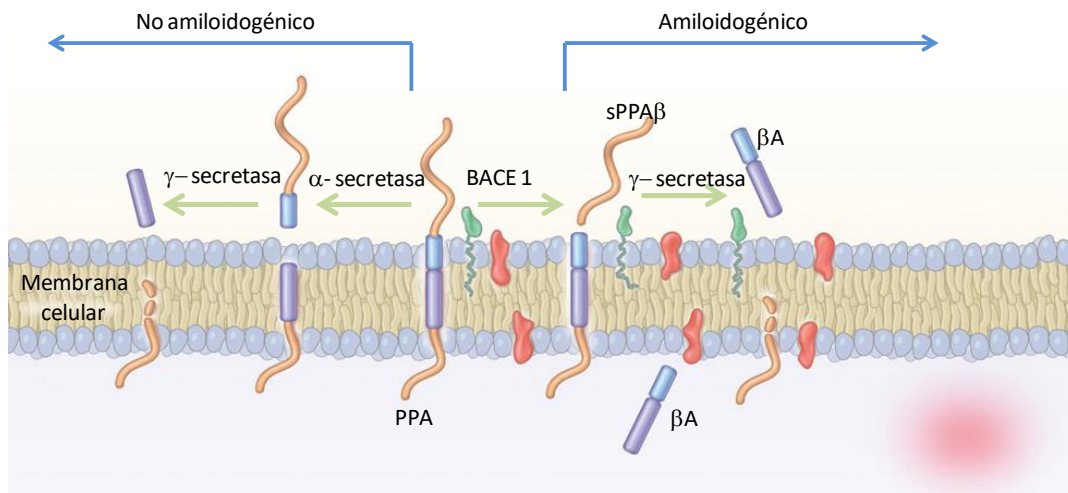


Figura 2. Procesos no amiloidogénico y amiloidogénico. En el no amiloidogénico, la proteólisis de la PPA se da por la enzima α -secretasa seguida de γ -secretasa que producen péptidos no patológicos. El amiloidogénico: la proteólisis de la PPA por la enzima β -secretasa (BACE1) en sitio amiloidogénico, seguida por la γ -secretasa dan como producto péptidos βA (modificado de Querfurth y LaFerla, 2010).

Así, la presencia de βA en el cerebro *per sé* no es incompatible con el funcionamiento cognitivo; esta proteína es producida fisiológicamente en el cerebro sano durante la actividad neuronal y es necesaria para la plasticidad sináptica y la memoria (Puzzo et al., 2011) por lo que se proponen otros factores asociados a la patología como el estrés oxidante (EO) y la alteración de proteína tau (Jaworski, Kügler, Van Leuven, & Van Leuven, 2010; Puzzo, Gulisano, Arancio, & Palmeri, 2015). Sin embargo es importante mantener bajos los niveles de βA para evitar un deterioro en la homeostasis cerebral y por lo tanto la neurodegeneración.

II.3.1. Hipótesis de la proteína tau

La proteína tau forma parte del citoesqueleto en los axones, se encuentra asociada a los microtúbulos, es altamente soluble y fundamental para la estabilización del citoesqueleto neuronal (Figura 3). El procesamiento de esta proteína tau ha sido descrito con eventos de truncación e hiperfosforilación los cuales alteran su estructura, como consecuencia los microtúbulos se desarticulan y la proteína que se agrega da como resultado el ensamblaje de filamentos helicoidales pareados (FHP) (Luna-Muñoz, Chávez-Macías, García-Sierra, & Mena, 2007; Mena, Edwards, Harrington, Mukaetova-Ladinska, & Wischik, 1996), lo que se relaciona con los cambios del citoesqueleto de las neuronas del hipocampo, sitio de plasticidad neuronal, que regula la memoria y el aprendizaje (Medina & Avila, 2014). La hiperfosforilación forma FHP que se agregan en las marañas neurofibrilares (MNF), otra característica de la EA; aunque aún no se conoce que es lo que desencadena la formación de MNF, una de las causas probables es el aumento del EO en las neuronas por la presencia de placas de β A (Binder, Frankfurter, & Rebhun, 1985). Cabe mencionar que la neuroinflamación puede jugar un papel crítico ya que los productos de inflamación cambian la especificidad del sustrato para las enzimas cinasas y fosfatasas llevando a la fosforilación de tau en sitios patológicos (Arnaud, Robakis, & Figueiredo-Pereira, 2007). Esta anomalía de la proteína tau induce deterioro en la función microtubular, del transporte axonal, disfunción sináptica y, finalmente, pérdida neuronal (Jaworski et al., 2010).

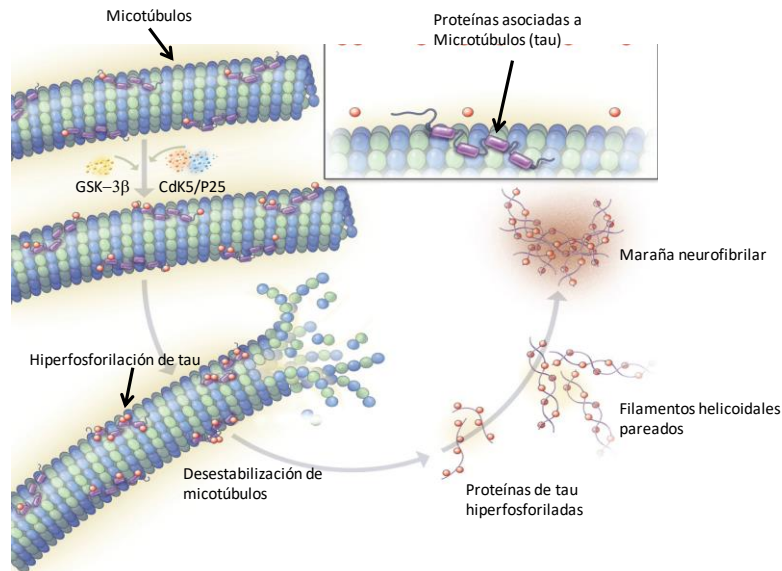


Figura 3.- Hiperfosforilación de la proteína tau. La desestabilización de los microtúbulos del citoesqueleto y la formación de la maraña neurofibrilar, (modificado de Querfurth y LaFerla, 2010).

II.3.2. Hipótesis de la relación obligada entre β A - tau

Los tratamientos para la enfermedad de Alzheimer se dirigen a los péptidos β A, que causan la enfermedad, aunque también la proteína tau (asociada a los microtúbulos) está implicada, pero no se sabe si los tratamientos dirigidos a esta proteína podrían bloquear el deterioro cognitivo inducido por β A. Robertson et al., (2007) reportan que la reducción de tau endógena previno el déficit de comportamiento en ratones transgénicos que expresan la APP precursora amiloide humana, con niveles altos de β A, protegiendo contra la excitotoxicidad y bloqueando la disfunción neuronal inducida por β A. Esto puede representar una estrategia eficaz para tratar la EA y afecciones relacionadas (Roberson et al., 2007). Este estudio, fortalece la hipótesis de que esta proteína tau es un contribuyente esencial para inducir las deficiencias cognitivas asociadas a β A. Sin embargo, no se ha resuelto la naturaleza e identidad exacta de los receptores asociados a los patrones de señalización de β A y tau, aunque se sabe que involucran a las cinasas como la GSK3 (Muyllaert et al., 2006; Querfurth & LaFerla, 2010; Terwel et al., 2008) que de manera directa o indirecta contribuyen a

la fosforilación de tau. A pesar de ello, la taupatía, por sí sola no causa la muerte neuronal (Paquet, Schmid, & Haass, 2010).

II.4. Desarrollo del modelo triple transgénico para la enfermedad de Alzheimer (3xTg-AD)

El modelo de ratón triple transgénico (3xTg-AD, Figura 4) presenta la sobre expresión de las 3 proteínas humanas (por los transgenes PS1_{M146V}, APP_{Swe} y tau_{P3001}) y recapitula una gran parte de los aspectos de la enfermedad. Este ratón, fue creado por Salvatore Oddo, en el laboratorio de Frank LaFerla, en California, a partir del mismo híbrido (cepa C57BL/6, no transgénico). Se ha mostrado que la progresión en la acumulación de las proteínas β A y tau aumenta de manera gradual con la edad (Ontiveros-Torres et al., 2016). Este ratón mutante exhibe las placas de β A y las marañas neurofibrilares (MNF) junto con la disfunción sináptica, rasgos similares a los observados en los pacientes con EA (Oddo, Caccamo, Shepherd, et al., 2003; Oddo, Caccamo, Kitazawa, et al., 2003). Según Oddo et al. (2003a) este ratón, presenta β A intraneuronal entre los 3 y 4 meses de edad en la región CA1 del hipocampo y los depósitos extracelulares son evidentes a los 6 meses en la corteza frontal (capas 4 a 5) y pueden verse con mayor frecuencia a los 12 meses de edad. Sin embargo, para Mastrangelo y Bowers (2008) la β A intraneuronal ocurre a los 6 meses y los depósitos extracelulares están presentes hasta los 15 meses de edad en el CA1, en la misma cepa de este ratón transgénico (3xTg-AD), sugiriendo que las discrepancias pueden ser debidas al tipo de anticuerpos utilizados.

En la figura 4, se muestran las alteraciones conformacionales de esta proteína tau hiperfosforilada con múltiples residuos en el transcurso de la edad en el ratón 3xTg-AD, que ocurren de manera paralela a la disfunción e impedimentos de plasticidad sináptica en el CA1, incluyendo deficiencias en la potenciación a largo plazo (LTP), descritas por Oddo a los seis meses y Mastrangelo y Bowers a los nueve meses (Mastrangelo & Bowers, 2008; Oddo, Caccamo, Kitazawa, et al., 2003); con referencia a los sitios amino y carboxilo de la proteína Tau, se ha reportado en el 3xTg-AD, la TauP301L (Ontiveros-Torres et al., 2016).

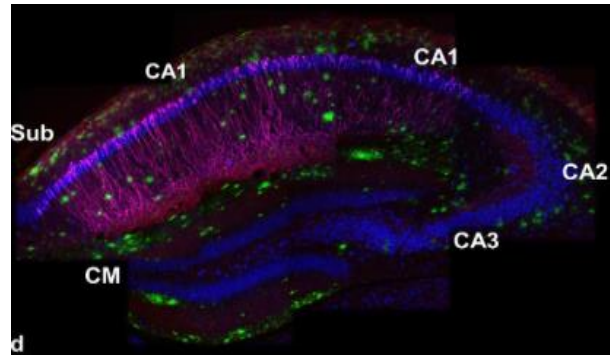


Figura 4. Ratón triple transgénico para EA (3xTg-AD). A la derecha una imagen del hipocampo dorsal con los campos; CA1, CA2, CA3 y Subículum. La fluorescencia azul (Dapi) indica los somas neuronales, en verde, las placas beta amiloides y en rosa la proteína tau hiperfosforilada en las dendritas (modificada de Ontiveros-Torres et al., 2016).

El fenotipo conductual de estos ratones 3xTg-AD presenta similitudes con las observadas en los pacientes, como son las deficiencias cognitivas (Billings, Oddo, Green, McGaugh, & LaFerla, 2005; Guzmán-Ramos et al., 2012; Oddo, Caccamo, Smith, Green, & LaFerla, 2006), la pérdida de la memoria episódica (Davis, Eacott, Easton, & Gigg, 2013), los cambios circadianos y la ansiedad y agitación (Sterniczuk, Antle, LaFerla, & Dyck, 2010a; Sterniczuk, Dyck, LaFerla, & Antle, 2010). También presenta deficiencias en el aprendizaje y la memoria espacial así como alteraciones emocionales a la edad de 4 meses (Cañete, Blázquez, Tobeña, Giménez-Llort, & Fernández-Teruel, 2015). Se ha observado que las estrategias terapéuticas en enfermos de Alzheimer con eficacia conocida, también se encuentran en este modelo (Billings, Green, McGaugh, & LaFerla, 2007)

II.5 Estrés oxidante (EO) e inflamación, un común denominador en la EA

Se ha descrito que el estrés oxidante (EO) es un factor común en algunas enfermedades neurodegenerativas asociadas con el envejecimiento, incluyendo la EA. Existen evidencias de los efectos negativos del EO sobre la función cerebral, y los mecanismos neuronales que se afectan son relevantes, por el deterioro cognitivo que como consecuencia se produce en la EA. La homeostasis redox se mantiene en el cerebro debido al equilibrio entre los niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO) pro-oxidantes y antioxidantes, el desequilibrio puede ser debido a hábitos como el tabaquismo, una alimentación deficiente en antioxidantes junto con la influencia epigenética que conduciría a la EA (Fig. 5) (Simpson, Pase, & Stough, 2015). Modelos animales y estudios en humanos han demostrado que una dieta deficiente en vitaminas y minerales, está asociada a un incremento en el EO mismo que está implicado en la patogénesis de la EA (Varadarajan, Yatin, Aksenova, & Butterfield, 2000).

La hipótesis del EO como causante de la EA (Praticò, 2008) se basa en estudios *post-mortem* de pacientes, que muestran un aumento en la peroxidación de lípidos (Butterfield & Lauderback, 2002), el A β induce EO y neurotoxicidad (Butterfield & Boyd-Kimball, 2004; Butterfield, Drake, Pocernich, & Castegna, 2001); también en el hecho de que en modelos animales para la EA (como el 3xTg-AD) se observa un aumento del EO y daño en los sistemas antioxidantes en el cerebro (Resende et al., 2008) que es sensible al daño por radicales libres debido a su alto índice metabólico, alta concentración de ácidos grasos insaturados, acciones citotóxicas por glutamato y sistemas antioxidantes bajos con una menor actividad de glutatión peroxidasa (GPx) y catalasa (CAT) en comparación con otros órganos (Bhattacharya, Bhattacharya, Kumar, & Ghosal, 2000).

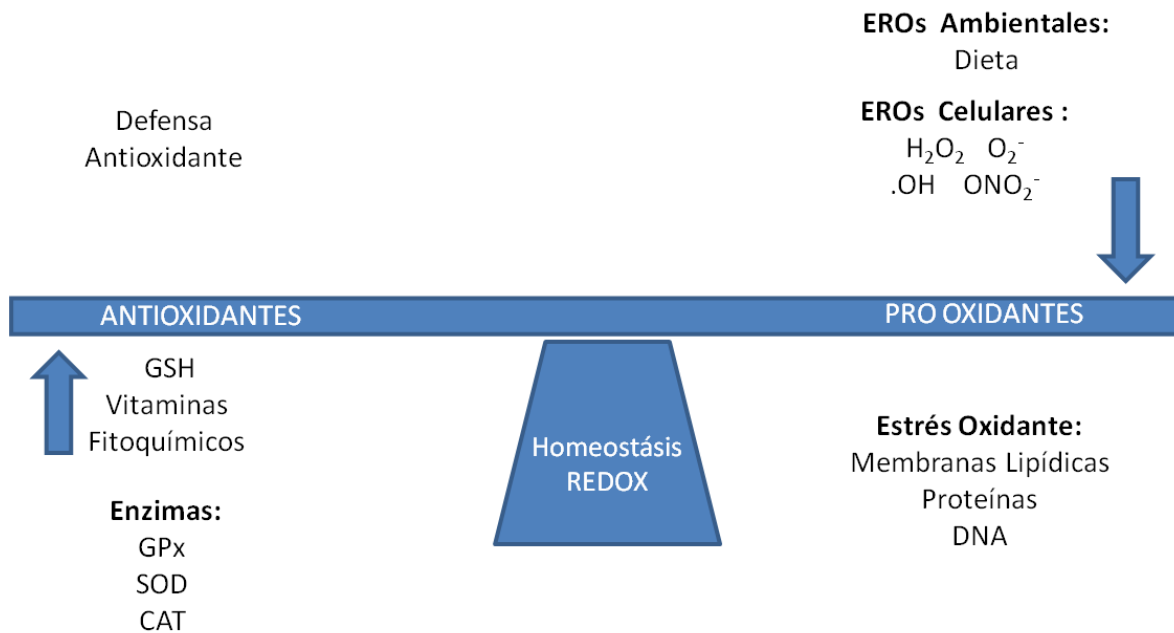


Figura 5.- Mecanismos del estrés oxidante (EO). La GSH (glutacion) y las vitaminas son antioxidantes no enzimáticos que asisten en la defensa antioxidante contra el EO para inhibir o reparar el daño a las células. Las enzimas acaparadoras GPx (glutacion peroxidasa), SOD (superoxido dismutasa), y CAT (catalasa) trabajan para prevenir el daño oxidativo detoxificando las especies reactivas (ER) ambientales así como los generados por las células como H₂O₂ (peróxido de hidrógeno), OH (radical hidroxilo), O₂⁻ (anión superóxido) y ONO₂⁻ (peroxinitrito) son prooxidantes que en abundancia pueden derivar en un desbalance de la homeostasis redox causando EO que tiene efectos perjudiciales en las membranas lipídicas, proteínas, y DNA (Modificado de Simpson et al.,, 2015).

II.6 Nutrición y EA

En el adulto, la dieta es un factor esencial que afecta el riesgo de padecer enfermedades metabólicas (cardiovasculares, diabetes mellitus, obesidad y Alzheimer). La capacidad potencial de ciertos alimentos y sus compuestos bioactivos (como polifenoles) para revertir o prevenir la progresión de los procesos patogénicos que subyacen a estas enfermedades ha sido de especial relevancia en la investigación actual. Los alimentos funcionales por sus moléculas bioactivas son un campo emergente en la ciencia de la nutrición para encontrar alternativas terapéuticas por sus características neuroprotectoras ante el EO y la neuroinflamación, ambos presentes en la EA y en otras patologías

neurodegenerativas (Albarracin, Stab, & et al, 2013; Patrizia Mecocci & Polidori, 2012). Se ha probado la eficacia de productos antioxidantes en varias etapas de la patología, algunos suplementados al comienzo del deterioro cognitivo leve, como es la Vitamina E, resveratrol, ácido lipóico, ubiquinona, idebenona, melatonina, quercetina, y cúrcuma que han tenido poca eficacia en la función cognitiva (Allès et al., 2012). Aunque existe una búsqueda de las moléculas bioactivas que puedan reducir la formación de las placas amiloides (anti-amiloidogénicas), cuya acción farmacocinética se basa en la actividad de las enzimas de corte de la β A como son la γ -secretasa y la BACE. Así, se identificó a la dihidroergocristina (DHEC), un componente aprobado por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) por ser un inhibidor directo de la γ -secretasa y cuyas concentraciones micromolares reducen los niveles de β A en diferentes tipos celulares, incluyendo una línea celular derivada de un paciente con EA (Lei et al., 2015).

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) son compuestos de la dieta que tienen beneficios para la salud. El ácido docosahexaenoico (DHA) conocido como omega-3 (ω -3) que se puede encontrar en el cerebro, en las membranas celulares por lo que es necesario para su desarrollo y función. Su deficiencia se relaciona a la aparición de enfermedades neurológicas, por lo que los suplementos de ácidos grasos como DHA dietéticos se han sugerido para mejorar el desarrollo neuronal y mejorar las funciones cognitivas. Aunque falta estudiar a profundidad el mecanismo de acción cerebral, algunos hallazgos sugieren que el DHA deba ser esterificado dentro de lisofosfolípido en lugar de en su forma no esterificada. Dado que el DHA es mal sintetizado de *novo*, la orientación del cerebro con vehículos específicos de DHA podría proporcionar nuevos enfoques terapéuticos para enfermedades neurodegenerativas (Bazan, Calandria, & Gordon, 2013; Cole, Ma, & Frautschy, 2009; Gharami, Das, & Das, 2015) y omega-3 (ω -3) (Cole et al., 2005), así como el consumo de pescado (rico en DHA) y adherencia a la dieta mediterránea (Scarmeas et al., 2006, 2009) para disminuir el riesgo de desarrollar EA (Allès et al., 2012).

Cada vez es mayor el interés por el estudio de los alimentos funcionales (AF), para mantener la salud del cerebro a través de la alimentación. Desde 1989,

el Dr. DeFelice, ha utilizado el término nutraceuticos (nutrición y farmacéutico), correspondientes a los productos naturales en los que los principios activos han sido identificados para describir sus acciones definidas con el cerebro sano y con las patologías incapacitantes (Kalra, 2003). Por lo que su acción adquirió relevancia, no solo para el mantenimiento de las funciones cerebrales sino en la prevención de neuropatologías. Sin embargo, es necesario la combinación de varios micronutrientes (nutraceuticos) y/o AF, en forma natural o procesados, que proporcionen además de un valor nutritivo, otros compuestos bioactivos que den beneficios adicionales a la salud humana (Kalra, 2003; Riezzo, Chiloiro, & Russo, 2005). Aunque los compuestos neuroprotectores derivados de fuentes naturales son alternativas terapéuticas atractivas en el tratamiento de la EA, sin embargo la baja biodisponibilidad y la baja eficacia clínica son los principales problemas. Por lo que se requiere el uso de nuevas tecnologías farmacéuticas y química medicinal para preparar nuevas formulaciones o diseñar nuevos compuestos basados en los obtenidos de plantas. Sin embargo, existen estudios recientes acerca del uso de grupos selectos de nutraceuticos con acciones anti inflamatorias y neuroprotectoras (por ejemplo, curcumina, el DHA, el ácido α -lipóico, EGCG, huperzina, quitosan, resveratrol, quercetina, kaemperol, etc.) que son solo eficientes al inicio de la enfermedad del Alzheimer (Spencer, Vafeiadou, Williams, & Vauzour, 2012; Williams, Mohanakumar, & Beart, 2015, 2016, Williams & Spencer, 2012a, 2012b).

II.6.1 Estrategia dietaria para el tratamiento de la EA

La suplementación dietética de flavonoides ha demostrado varias acciones neuroprotectoras en el cerebro, incluyendo la prevención de la toxicidad contra diversas neurotoxinas, la disminución de la neuroinflamación y el EO, la capacidad de mejorar la memoria y la función cognitiva. Estos efectos beneficiosos sobre la función cerebral son modulados por mecanismos que implican la interacción con el proceso clave de señalización neuronal que conduce a la expresión de genes de supervivencia neuronal y diferenciación, y también la supresión de genes responsables de la neurodegeneración (Solanski et al., 2015).

En la EA, los factores ambientales son importantes para la forma esporádica de la EA. Las dietas ricas en ácidos grasos saturados y el alcohol, pero deficientes en antioxidantes y vitaminas promueven la aparición de la enfermedad. Por el contrario, las dietas ricas en antioxidantes, vitaminas B6, B12 y ácido fólico, ácidos grasos insaturados, y pescado previenen su aparición (Emmerzaal, Kiliaan, & Gustafson, 2015).

Durante la última década, varias investigaciones han mostrado trastornos metabólicos (obesidad y el síndrome metabólico) como factores de riesgo para el desarrollo de las demencias e incluso la EA. La obesidad está relacionada con enfermedades vasculares, y cada vez hay más pruebas que relacionan los factores de riesgo vascular a la demencia y a la EA (Kivipelto et al., 2005). Los mecanismos celulares implicados en la EA, que están asociados a las alteraciones metabólicas, son cada vez más comprensibles. Por lo tanto, el impacto de la mala nutrición (sobrepeso, obesidad) facilita el desarrollo de la EA y la importancia de una adecuada nutrición como una estrategia preventiva para reducir la incidencia de las demencias es clara (Orta-Salazar, Vargas-Rodríguez, Castro-Chavira, Feria-Velasco, & Díaz-Cintra, 2016; Sindi, Mangialasche, & Kivipelto, 2015).

Así las dietas diseñadas con funciones antioxidantes, potenciadores metabólicos, moduladores inmunes y agentes modificadores de la progresión de una enfermedad requieren ser valoradas para intervenir desde etapas iniciales; como es el uso de un portafolio dietario (PD) diseñado con una combinación de AF de fácil consumo (nopal, semilla de chía y avena) que ha logrado una mejora en los parámetros bioquímicos en pacientes con síndrome metabólico (Guevara-Cruz et al., 2012), y con otros alimentos (maíz, frijol, jitomate, nopal, chía y semilla de calabaza) ha disminuido el EO y el deterioro cognitivo en un modelo de obesidad (Avila-Nava et al., 2016) ya que todos estos padecimientos se han visto relacionados con la incidencia de demencia.

II.7. Componentes del Portafolio Dietario (PD)

II.7.1 *Opuntia ficus-indica* (nopal)

El nopal es una planta cactácea originaria de México, se cultiva en las zonas más secas y áridas de México y otros países de Latinoamérica, la pulpa del nopal se consume como alimento en varios países al igual que su fruto (tuna). Existen diferentes tipos de nopaleras, el fruto de las más grandes se consume cuando está verde y el de las más pequeñas cuando está rojo. Las antiguas civilizaciones de Mesoamérica consumían el nopal desde el siglo XII a.C. no sólo como alimento, sino también como medicamento debido al gran número de propiedades curativas. (Nazareno, 2013)

La composición bioactiva del nopal: agua (80-95%), bajas cantidades de carbohidratos (3-7%), fibra (1-2%), proteína (0.5-1%) y ácidos grasos (1%) (Zhao, Yang, Yang, Jiang, & Zhang, 2007). Representa una fuente importante de fotoquímicos algunos compuestos fenólicos, como el ácido ferúlico, feruloyl-sucrosa y sinapoyl-diglucosida (Figura 7A y Tabla 1).



Figura 6. A. Tallo de *Opuntia ficus* (nopal), flor y frutos (tunas); B, planta y D, semillas de *Salvia hispánica* (Chía); C, raíz y polvo de *Cúrcuma longa*, E, *Glycine max* (soja) (A, Modificado de Osuna-Martínez et al. 2014)

Los ácidos grasos como el esteárico, vacceínico, palmítico (C16:0), oléico (C18:1), linoléico (C18:2), linolénico (C18:3) que contribuyen con el 13.87, 11.16, 34.87 y 32.83%, respectivamente (Ramadan & Mörsel, 2003), estos cuatro representan más del 90% del total de ácidos grasos comparado con otros (Tabla 2) y que a la vez contiene flavonoides como epicatequinas quercetina, isorhamentina y derivados los cuales han mostrado funciones neuroprotectoras (propiedades antioxidantes, quelantes de Fe y antiinflamatorias; reduce a A β , y promueve el procesamiento no amiloidogénico.), también posee dos tipos de betalainas (betaxantinas y betacianinas) las cuales les confieren color a sus frutos, así como vitaminas (C, B1, B2, B3) (Figura 7 y Tabla 3) y minerales potasio y calcio en un rango de 2.35 a 55.20 mg/100g, respectivamente (Tabla 4) y una gran variedad de aminoácidos (Tabla 5) (Chougui et al., 2013; Dok-Go et al., 2003; Galati et al., 2003a; Galati et al., 2003; Ginestra et al., 2009; Kuti, 2004; Osorio-Esquivel, Ortiz-Moreno, Álvarez, Dorantes-Álvarez, & Giusti, 2011; Osuna-Martínez, Reyes-esparza, & Rodríguez-fragoso, 2014; Schaffer, Schmitt-Schillig, Müller, & Eckert, 2005; Stintzing & Carle, 2005; Tesoriere, Butera, Pintaudi, Allegra, & Livrea, 2004; Zou et al., 2005).

Tabla 1. Distribución y contenido de fenoles y flavonoides en *Opuntia ficus-índica*
(modificado de El-Mostafa et al., 2014).

Tejido de la planta	Principal Componente Identificado	Contenido en mg/100g
	Acido Gálico	0.64-2.37
	Coumarina	14.08-16.18
	3,4-dihidroxibenzoico	0.5-4.72
	Ácido Ferúlico	0.56-34.77
Penca	Ácido Salicílico	0.58-3.54
	Isoquercetina	2.29-39.67
	Isorhamentina-3-O-glucosida	4.59-32.21
	Nicotiflorin	2.89-146.5
	Rutina	2.36-26.17
	Narcisina	14.69-137.1

Tabla 2. Comparación de la composición de ácidos grasos en la penca de *O. ficus-índica* con otros aceites comestibles. Las composiciones están expresadas en g/100g (Modificado de El-Mostafa et al., 2014).

Ácidos grasos	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	C22:1	C24:0
Penca	1.33	1.96	13.87	0.24	3.33	11.16	34.87	33.23	-	-	-	-
Aceite de oliva	-	11.5	0.9	1.4	61.9	3.8	1.1	0.23	-	-	-	-
Aceite semilla de uva	-	0.06	8.3	0.1	3	12	67.6	0.3	0.2	0.1	0.02	0.01
Aceite de Soya	-	-	6	0.4	2.2	26.1	50.1	14.5	-	-	-	-

Estos compuestos le confieren actividad amortiguadora de radicales libres y ERO, antiinflamatoria, hipoglicémica, hipolipidémica, hipocolesterolémica y antiapoptótica por su habilidad de reducir daño al DNA (Bensadón, Hervert-Hernández, Sáyago-Ayerdi, & Goñi, 2010; Brahmi et al., 2012; Formisano et al., 2010; Laughton, Evans, Moroney, Hoults, & Halliwell, 1991; Yen, Duh, & Tsai, 2002; Zito et al., 2013).

Tabla 3.- Distribución y contenido de Vitaminas en la penca de *O ficus-índica*. (Modificado de El-Mostafa K, et al. 2014).

Tejido	Vitamina	Contenido en mg/100g
	C	7-22
Penca	B1	0.14
	B2	0.60
	B3	0.46

El consumo de nopal a largo plazo disminuye las ERO, lipoperoxidación y la esteatosis hepática (Moran-Ramos et al., 2012). Estos elementos pudieran ser eficientes para disminuir el riesgo de desarrollar enfermedades relacionadas con el EO y las neurodegenerativas (Matias et al., 2014; Matias, Buosi, & Gomes, 2016). Las pencas de nopal son ricas en nicotiflorín que a través de mecanismos neuroprotectores y anti-inflamatorios se ha mostrado que protege contra muerte celular por EO, estrés por hipoxia o inducido por glutamato en neuronas ganglionares (Oh & Lim, 2006). En el modelo murino de demencia por infarto múltiple nicotiflorín preserva el desempeño en la memoria espacial en el laberinto acuático de Morris, aparte de tener un efecto benéfico en la memoria protege contra EO, está asociado con la atenuación de los incrementos en ácido láctico y malondialdehído (MDA) indicador de daño oxidativo (Huang et al., 2007).

Tabla 4.- Distribución y contenido de minerales en la penca de *O ficus-índica*. (Modificado de El-Mostafa K, et al. 2014).

Tejido	Componente Identificado	Contenido en mg/100g
	Calcio	5.64-17.95
	Oxalato de Calcio	11.5 a 4.3
	Magnesio	8.8
	Sodio	0.3-0.4
Penca	Potasio	2.35-55.20
	Hierro	0.09
	Fósforo	0.15-2.59
	Zinc	0.08
	Cobre	-
	Manganeso	0.19-0.29

Tabla 5.- Distribución contenido de aminoácidos en la penca de *Opuntia ficus-índica*
(Modificado de El-Mostafa, et al. 2014).

Tejido	Aminoácido	Contenido g/100g
	Alanina	1.25
	Arginina	5.01
	Aspargina	3.13
	Ácido aspartico	4.38
	Acido glutámico	5.43
	Glutamina	36.12
	Cisteína	1.04
	Histidina	4.18
Penca	Isoleucina	3.97
	Leucina	2.71
	Lisina	5.22
	Metionina	2.92
	Fenilalanina	3.55
	Serina	6.68
	Treonina	4.18
	Tirosina	1.46
	Triptofano	1.04
	Valina	7.72

II.7.2 *Salvia hispánica* (Chía)

Principal alimento de las civilizaciones de América Central (Aztecas y Mayas), su uso y cultivo, se remonta a 3.500 años a.C. En dialecto "nahuatl", la palabra "chiactic" significa aceitoso o grasoso. Los Aztecas usaban la Chía en distintos preparados nutricionales y medicinales. La composición química de la Chía y su valor nutricional, le confiere un gran potencial para la alimentación (Figura 7B). Estas semillas ofrecen ahora al mundo una nueva oportunidad para mejorar la nutrición humana, siendo una fuente natural de ácidos grasos (alfa- ω -3 y alfa- ω -6 en un rango 18:2), antioxidantes, vitaminas, proteínas, minerales y fibra dietética (Chicco, D'Alessandro, Hein, Oliva, & Lombardo, 2009; Rossi, Oliva, Ferreira, Chicco, & Lombardo, 2013). Contiene compuestos fenólicos, flavonoides y posee actividad anti-inflamatoria (Jeong, Park, Park, & Kim, 2010).

Tabla 6.- Contenido de ácidos fenólicos e isoflavonas en la chía (*Salvia hispanica L.*)
(Modificado de Martínez-Cruz & Paredes-López. 2013).

Compuesto	Promedio (mg/g de semilla)
Ácido gálico	0.0115
Ácido cafeico	0.0274
Ácido Clorogenico	ND
Ácido Ferulico	T
Ester etil protocatecuico	0.7471
Ácido rosmarinico	0.9267
Diadzina	0.0066
Glicitina	0.0014
Genistina	0.0034
Gliciteina	0.0005
Genisteina	0.0051

II.7.3. *Curcuma longa* (cúrcuma)

La *Curcuma longa* se ha utilizado en los países asiáticos por sus efectos en la salud y en los alimentos como el curri (Figura 7C). Su carga en nanopartículas de lactoferrina proporciona aumento de 3-4 veces la viabilidad, la reducción de α -sinucleína y anti-amiloidogénica al evitar la agregación de la proteína β A (Yang et al., 2005). Tiene efectos benéficos en diversos modelos animales de la EA, al evitar la generación a través de la actividad de la enzima BACE (Lin et al., 2008; Shimmyo, Kihara, Akaike, Niidome, & Sugimoto, 2008) y agregación de las especies β A (Yang et al., 2005), disminuyendo la inflamación y el EO (Lim et al., 2001). Se ha identificado como potentes inductores de la Hemo oxigenasa-1 (HO-1) una proteína inducible sensible a la óxido reducción que provee protección contra varias formas de estrés, a través de estimular a Nrf2 y favorecer la expresión y activación de la HO-1 (Balogun et al., 2003). Sin embargo, en estudios clínicos la *Cúrcuma longa* no ha logrado mostrar beneficios a nivel cognoscitivo en pacientes con EA debido a su baja biodisponibilidad (Hamaguchi, Ono, & Yamada, 2010; Mecocci, Tinarelli, Schulz, & Polidori, 2014), por lo que se han desarrollado alternativas para comprobar los efectos benéficos de este compuesto como se muestra en el trabajo de Hoppe et al. (2013) en el que utilizan un modelo de

deterioro cognitivo en ratas inducido por infusión intracerebroventricular de βA_{42} en el que observan que la administración de curcumina nanoencapsulada es efectiva para prevenir los deterioros conductuales, neuroinflamación, hiperfosforilación de tau así como las disrupciones causadas por βA en las vías de señalización celular *in vivo* a través de Akt/GSK-3 β (Hoppe et al., 2013)

II.7.4 *Glycine max* (soja o soya)

La soja o soya es una especie de la familia de las leguminosas (Fabaceae), cultivada por sus semillas (Figura 7D). El grano de soja y sus subproductos (aceite y harina de soja) se utilizan en la alimentación humana y del ganado por su alto contenido en proteína. Se comercializa en todo el mundo debido a sus múltiples usos, como proteína de origen vegetal, grasas poliinsaturadas, fibra, vitaminas y minerales; 25 gramos por día de proteína de soya pueden reducir los niveles de colesterol, y por tanto, los problemas cardíacos. Los alimentos a base de soya son recomendados para pacientes obesos y diabéticos, debido a que presentan un bajo índice glicémico. Ayuda en los trastornos de la menopausia y menstruales por presentar isoflavonas, un tipo de fitoestrógenos. Las isoflavonas (genisteína y daidzeína) poseen importante actividad anti-apoptótica (Adams et al., 2012) y efectos neuroprotectores en modelos de envejecimiento (Lee et al., 2004).

Por otra parte, en el modelo de ratón 3xTg-AD que presenta alteraciones en el metabolismo y en la plasticidad sináptica, se han probado diversas intervenciones de alimentos funcionales, así como del DHA que reduce la acumulación intraneuronal de βA y tau (Green et al., 2007). El uso de *Garcinia mangostana* (Huang, Chen, Hsieh, & Hsieh-Li, 2014), compuestos polifenoles, y del grupo de los flavonoides, por ejemplo Quercetina (Sabogal-Guáqueta et al., 2015), Nobiletina (Onozuka et al., 2008), y Curcumina (Ma et al., 2009), los cuales han mostrado un efecto positivo en el desempeño de las tareas de memoria y en el decremento de los marcadores neuropatológicos de la EA.

III. JUSTIFICACIÓN

La EA es compleja, multifactorial y progresiva que altera la memoria y hasta hoy, los tratamientos disponibles no pueden modificar su progresión. Por el contrario, los suplementos nutricionales ofrecen una fuente más amplia para modificar esta progresión y, por ende, disminuir el riesgo de demencia y EA. La intervención nutrimental combinada de estos suplementos, puede tener un impacto mayor para detener o retrasar la EA. Se esperaría que el uso de un portafolio dietario (PD) de características similares al reportado por el grupo de Tovar y Torres-Torres (2012), compuesto de nopal, semilla de chía, soya y cúrcuma, y cuya administración desde la gestación (en hembras 3xTg-AD) de las crías y hasta los 12 meses de edad, podrá disminuir la agregación y producción de β A, y el estrés oxidativo principalmente en el subículum (área de la FH) que regula la memoria de referencia espacial, en este modelo.

IV. HIPÓTESIS

- El consumo crónico de un portafolio dietario (PD) diseñado a base de nopal, semilla de chía, texturizado de soya y cúrcuma producirá un retraso en la aparición y/o agregación de la proteína β A y el estrés oxidativo en el subículum, modificando la memoria de tipo espacial de ratones 3xTg-AD.

V. OBJETIVOS

- Evaluar la respuesta cognitiva de los grupos 3xTg-AD a los 7 meses de edad con y sin PD en la memoria espacial en el LAM.
- Evaluar la respuesta cognitiva de los grupos 3xTg-AD a los 12 meses de edad con y sin PD en el LAM.
- Cuantificar en el modelo 3xTg-AD a los 12 meses de edad el posible efecto neuroprotector del PD para disminuir los factores asociados al estrés oxidativo, y la agregación y producción de β A en el subículum.

V. 1. Objetivos específicos

V.1.1. Comparar entre los 4 grupos (3xTg-AD y NoTG, con o sin el PD).

V.1.1.1. El desempeño cognitivo en el LAM, en las edades de 7 y 12 meses.

V.1.1.2. Evaluar inmunohistoquímicamente en el subículum, el posible efecto antiamilodogénico del PD, por la presencia intracelular de los oligómeros β A (OC) y extracelular de las placas de β A (BAM10, ABETA42).

V.1.1.3. Evaluar inmunohistoquímicamente en el subículum, el posible efecto del PD en el estrés oxidativo medido por la presencia de malondialdehído (MDA).

VI. MÉTODOS

VI.1 Dieta

Los requerimientos nutritivos para las dietas de animales de laboratorio han sido estandarizados por el American Institute of Nutrition (AIN93) garantizando una alimentación adecuada incluyendo proteínas, carbohidratos, fibras, minerales y vitaminas (Reeves, 1993). En el presente proyecto se seguirán las normas indicadas por el AIN93 para la preparación de las dietas alimenticias.

Tabla 7.- Diseño de portafolio dietario (PD)

AIN 93G	Cantidad	Portafolio Dietario	Cantidad
Caseína	200 _{gr/kg}	Proteína de soya	194 _{gr/kg}
Aceite de soya	70 _{ml/kg}	Aceite de semilla de Chía	90 _{ml/kg}
Celulosa	50 _{gr/Kg}	Nopal	50 _{gr/kg}
-	-	Raíz de <i>Cúrcuma longa</i>	1 _{gr/kg}

Se muestran los ingredientes sustituidos en la dieta isocalórica y las cantidades respectivas; el resto de los requerimientos permanecieron iguales.

VI.2 Sujetos

Se utilizaron ratones sexualmente maduros de la cepa 3xTg-AD (TG) generados a partir de un fondo híbrido C57BL6/129, y ratones no transgénicos (NoTG) criados en condiciones óptimas de bioterio. Se alojaron en cajas con libre acceso a dieta (AIN93 o PD) y agua, con un ciclo de luz-oscuridad de 12hrs, iniciándose a las 8:00 hrs, con una temperatura controlada de 22-24°C, siguiendo las normas internacionales para el cuidado y uso de animales de laboratorio establecidas por el Consejo de Investigación Nacional de las Academias Nacionales de los Estados Unidos de América (NRC, por sus siglas en inglés) (NRC, 2011) y del Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la UNAM (INB-UNAM). Todos los ratones fueron reproducidos y mantenidos en el bioterio del INB-UNAM en cajas de policarbonato (12 x 12 x 25 cm) y alimentados con la dieta AIN93 o PD

durante un mes previo al apareamiento. Confirmada la preñez (observando el tapón vaginal) en 10 madres de cada grupo, se mantuvieron bajo la misma dieta hasta el parto y la lactancia. Las crías se dejaron con la madre durante 30 días posnatales; o al destete los ratones se separaron por sexo y estuvieron alimentados con la misma dieta que consumía la madre hasta la edad de 12 meses, edad considerada como referente a la mediana edad en humanos adultos (Figura 7).

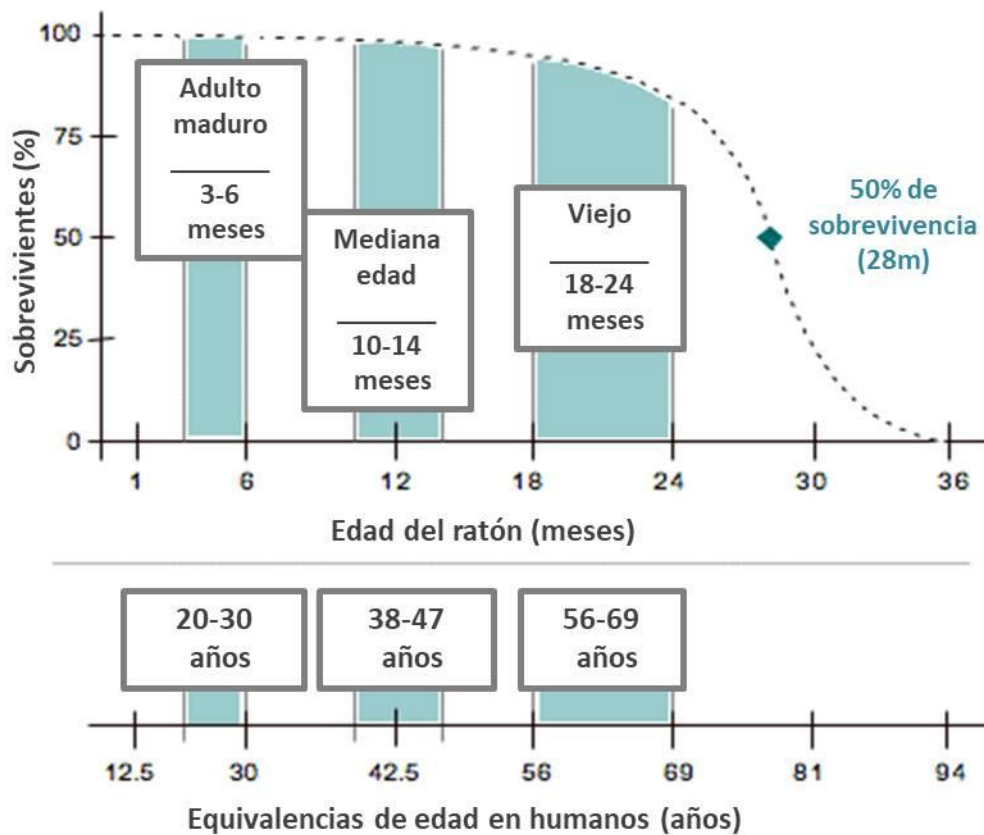


Figura 7. Equivalencias de edad entre humano y ratón. Rangos de edad representativos para estadios de la vida madura en ratones, comparación con los humanos. (Modificado de Flurkey, Curren, y Harrison. 2007)

VI.3 Distribución de los grupos experimentales (condición, dieta y edad)

Con el fin de obtener a los sujetos para los grupos experimentales y controles, se generaron Unidades Reproductivas(UR), que consistieron de 2 hembras y 1 macho alimentadas con la dieta AIN93 y 3 UR con el PD para el grupo 3xTg-AD o TG y en caso del grupo NoTG fueron 2 UR por cada dieta (AIN93, PD). Se evaluó el peso y la cantidad de dieta ingerida de ambos grupos experimentales (TG y NoTG)

VI.3.1 Grupos experimentales:

- Ratones machos 3xTgAD y NoTG con portafolio dietario (TGPD) NoTG-PD) n = 4-6 por grupo, respectivamente.
- Ratones machos 3xTgAD y NoTG con dieta control AIN93 (TG-AIN93 y NoTG-AIN93). n = 4-6 por grupo, respectivamente.

VI. 4. Pruebas conductuales:

VI. 4.1 Laberinto acuático de Morris (LAM)

Cuando los machos cumplieron los 7 meses y 12 meses de edad se midió su desempeño conductual en la prueba del LAM Se utilizó un tanque circular blanco (diámetro 1 m y 40 cm de altura) elevado a 80 cm de distancia del suelo, con agua a una temperatura entre 21 y 23°C y pintura tipo tempera blanca para resaltar el color de los animales. Una plataforma (8 cm² y 15 cm de altura) se sumergió debajo de la superficie del agua (1.5 cm) en un cuadrante (Figura 10). El método y parámetros a evaluar para esta prueba se basaron en los protocolos de Blurton-Jones et al., (2009); Billings et al., (2005) y Vorhees y Williams (2006).

Durante los días de entrenamiento cada ratón se colocó en el agua desde uno de cuatro puntos de salida al azar y se permitió que encontrara la plataforma. De no hacerlo en los 60 segundos siguientes, se le dirigió y colocó sobre la plataforma, permaneciendo en ésta por 20 segundos, después de lo cual regresó a su caja. La prueba consistió de 4 ensayos por sesión, cada 24 horas en un periodo de 4 días continuos, donde se registró la latencia de escape en cada uno de los ensayos. Continuando con la prueba de retención 24 horas después. Se

registró la latencia inicial para cruzar el sitio de la plataforma y, número de cruces en el mismo sitio, porcentajes de tiempo de permanencia y distancias recorridas en el cuadrante opuesto al que contenía la plataforma durante el entrenamiento (“Opposite Target Zone”) y en el cuadrante donde se encontraba esta (“Target Zone”), así como la distancia promedio del sitio de la plataforma mediante el programa Smart Video Tracking 2.5 (Panlab) con el cual se definieron las medidas para el registro.

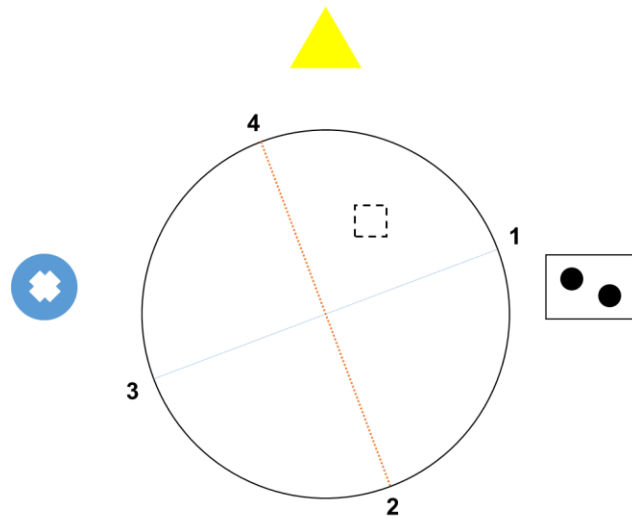


Figura 8. Plano del tanque utilizado en el LAM. Se representan los cuatro cuadrantes (limitados por las líneas azul y roja) y los puntos de inicio de las pruebas (marcados por los números). Asimismo, se simboliza la ubicación de la plataforma sumergida (línea de guiones) y se ejemplifican la forma y colores de las claves extra-laberinto (Tomado de Mancilla-Pérez 2017, tesis de Maestría).

VI.5. Técnicas Histológicas

VI.5.1 Preparación de tejido

Al término de las pruebas de LAM los ratones de los cuatro grupos TG y NoTG con AIN93 y PD, respectivamente, se anestesiaron con la administración de una dosis letal de pentobarbital sódico y se fijó el tejido por el método de perfusión con una solución de paraformaldehído al 4% (PFA 4%) en solución salina amortiguada por fosfatos al 0.1 M (PBS 0.1 M) con un pH de 7.4. Los cerebros fueron disectados y sus hemisferios separados de manera sagital. Éstos permanecieron en post-fijación con PFA 4% hasta su uso posterior. Uno de los hemisferios fue

sumergido en soluciones graduales de sacarosa (10, 20 y 30% p/v) durante tres días subsecuentes y el otro hemisferio se mantuvo almacenado en una solución de PBS a 4°C con azida de sodio. Se obtuvieron rebanadas sagitales de 40 µm de espesor con un criostato (marca Leica Biosystems, CM1510) y almacenadas en PBS 0.1M.

VI.5.3 Inmunohistoquímica

VI.5.3.1 Anticuerpos y fluorocromos

Con el fin de comprobar el efecto potencial del PD para disminuir o retrasar la aparición de marcadores patológicos de los sujetos, se utilizaron las siguientes combinaciones de anticuerpos y marcadores fluorescentes:

1) Para la detección y determinación de péptidos β A totales se utilizaron los siguientes anticuerpos:

- Uno monoclonal producido en ratón (BAM-10; 1:500; Sigma Aldrich #A3981) que reconoce los residuos aminoácidos 1-12 de la proteína β A humana (McGowan et al., 2005), fue usado para la detección de los niveles de β A total (Kotilinek et al., 2002).
- Uno policlonal producido en conejo que detecta todo el péptido de 42 aminoácidos (β A₄₂; 1:500; Thermo Scientific).

2) Para la detección de las especies pequeñas de β A se usó un anticuerpo policlonal producido en conejo (OC; 1:500; donado por el Dr. Charles Glabe, University of California) que detecta un epítotope dependiente de la conformación fibrilar presente en fibrillas amiloides y en oligómeros fibrilares pero ausente en monómeros y oligómeros prefibrilares β A (Kayed et al., 2007; Wu et al., 2010; Benilova et al., 2012).

3) Para la detección del malondialdehído (MDA) se usó un anticuerpo policlonal producido en conejo (MDA 1:500; Abcam) que detecta al producto de lipooxidación MDA.

4) Con la finalidad de identificar anatómicamente las regiones a evaluar, se utilizó el colorante fluorescente Hoechst que marca el ADN y permite la visualización de los núcleos celulares (Chazotte, 2011).

VI.5.3.2 Procedimiento

El hipocampo dorsal de los cuatro grupos experimentales se identificó entre las coordenadas 1.92 mm y 0.96 mm laterales a la línea media de acuerdo al atlas de cerebro de ratón (Franklin y Paxinos, 2001). Cada corte se procesó por flotación libre en PBS 0.1 M por 10 min, y luego se incubó en ácido fórmico al 90% por 5 min para exponer los epítopes, seguido de tres lavados de 10 min cada uno en PBS 0.1 M. Las secciones fueron permeabilizadas con 0.1% de Tween-20 PBS 0.1 M (PBS-T) por 15 min. Los diferentes anticuerpos primarios fueron incubados toda la noche a 4° C. Los tejidos fueron lavados con PBS 0.1 M en tres ocasiones, durante 10 min cada uno, a temperatura ambiente. Una vez realizado esto, se aplicaron los anticuerpos secundarios (Alexa Fluor 555 1:500 y 488; 1:250; Thermo Scientific) por 2 horas y lavados nuevamente con PBS 0.1 M tres veces, 10 min cada una. En el caso de inmunohistoquímica amplificada para MDA se aplicó FitC en buffer de amplificación por 15 min y se hicieron 2 lavados con PBS. Para marcaje nuclear se incubó durante 10 min con Hoechst (1:1000 en PBS 0.1 M) y recibió tres lavados en PBS 0.1 M por 10 min cada uno. Finalmente, los cortes fueron montados en PBS 0.05 M en cubreobjetos y cubiertos en medio de montaje para fluorescencia Vectashield (Vector Laboratories).

VI.6. Obtención de imágenes

VI.6.1. Microscopía confocal y análisis de las imágenes

Las imágenes de la región del subículum en el límite con CA1 de los tejidos procesados fueron capturadas usando un microscopio confocal LSM 510 (Zeiss), tomando como muestra un campo por región por corte, con un estimado de 3 a 4 cortes por animal. Las imágenes adquiridas representan cortes confocales individuales en el plano Z. Para el análisis semi-cuantitativo se usó el software de procesamiento de imagen Image J (National Institutes of Health). Para todos los procedimientos, se separaron los canales de los filtros de cada imagen y se

obtuvo una proyección (o *stack*) de máxima intensidad del plano Z del canal deseado. Se sustrajo el fondo (5 píxeles para densidad óptica) para todas las imágenes con el fin de evitar el análisis de marca inespecífica. Todos los valores obtenidos fueron comparados estadísticamente entre grupos (no-pareados) y dentro de los mismos grupos (pareados), dependiendo el caso.

Para la densidad óptica, se calculó la intensidad promedio de píxeles de todo el campo ($450 \times 450 \mu\text{m}^2$). Los valores de cada corte fueron promediados por condición experimental y convertidos a porcentaje de intensidad de fluorescencia, siendo normalizados a los niveles control.

VI.7. Pruebas estadísticas

Los análisis estadísticos de las pruebas conductuales fueron llevados a cabo con apoyo del programa y Graph Pad (Prism).

La normalidad de los datos fue evaluada usando la prueba de Shapiro-Wilk. Los valores que presentaron una distribución normal fueron analizados con una prueba de t de Student (T-test).

Para las comparaciones entre grupos múltiples se usaron análisis de varianza de medidas repetidas (ANOVA) seguido de la prueba *post hoc* Tukey. Los resultados fueron considerados significativos si $p < 0.05$ para todas las pruebas

Para la evaluación de la densidad óptica integrada de las pruebas inmunohistoquímicas; los datos fueron calculados usando las pruebas no-paramétricas de U de Mann-Whitney (M-W). Los resultados fueron considerados significativos cuando $p < 0.05$ para todas las pruebas.

VII. RESULTADOS

VII.1 Ganancia de peso de las crías macho

El peso de los sobrevivientes en cada grupo experimental que se registró cada mes. El peso fue similar en los cuatro grupos experimentales a lo largo de la vida siendo en promedio 30 ± 2 a los 7m y a los 12 meses alcanzaron el peso de 35 ± 3.5 gr en promedio.

Dadas las condiciones técnicas por el mantenimiento a largo plazo (12 meses) de los animales se obtuvo una mortandad del 14.3% para los machos con dieta AIN93, y del 50% de los alimentados con el PD del grupo 3xTg-AD. En el No-TG, la pérdida fue del 14.3% de los animales alimentados con la dieta AIN93 y solo del 8% del alimentado con el PD. Quedando así, a los 7 meses, un número limitado de sujetos en cada condición experimental (TG PD (n=6), TG AIN (n=5),) NoTG AIN (n=6), NoTG PD (n=11). A los 12 meses, estos números se redujeron aún más NoTG AIN (n=5), NoTG PD(n=8), TG AIN (n=5) TG PD (n=4).

VII.3 Laberinto Acuático de Morris

VII.3.1 Evaluación conductual a los 7 meses de edad

Se realizó una primera evaluación cognitiva a los siete meses de edad en los ratones experimentales. Según Oddo et al. (2003a) la aparición del deterioro cognitivo en esta cepa 3xTgAD inicia a partir de los 6 meses, pero existen resultados divergentes en otros grupos de investigación. Para valorar el progreso de la patología y el posible efecto temprano de la intervención, los ratones de 7 meses de edad se sometieron a la prueba de LAM.

Se entrenó a los animales durante 4 días consecutivos, en la fase de adquisición no se observaron diferencias significativas entre los grupos, para las sesiones de entrenamiento. Al analizar la latencia de escape para alcanzar la plataforma durante toda la fase de adquisición (ANOVA, $p=0.0078$), entre las sesiones. Para la comparación entre grupos pudimos observar que no hubo diferencias significativas (ANOVA $p=0.4104$)

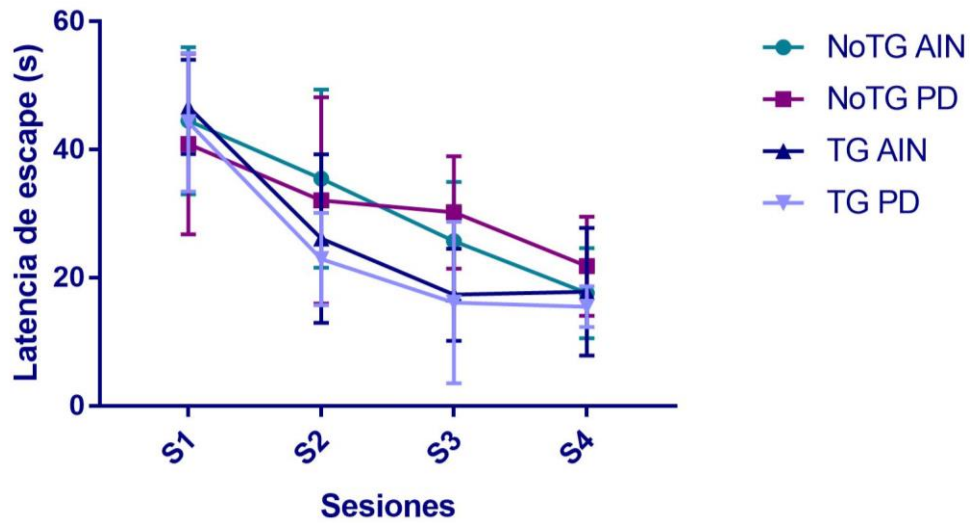


Figura 9.- Entrenamiento: Se muestra el tiempo (s) de latencia de escape a la plataforma, durante las 4 sesiones de prueba en la tarea del laberinto acuático de Morris a los 7 meses de edad, NoTG AIN (n=6), NoTG PD (n=11), TG AIN (n=5), TG PD (n=6). Datos presentados como promedio \pm EEM.

En la prueba de retención realizada 24hrs después del último entrenamiento se midió el tiempo de llegada al sitio de la plataforma (latencia de escape), donde tampoco se observaron diferencias significativas entre los cuatro grupos (ANOVA $p=0.1614$).

Retencion 7m

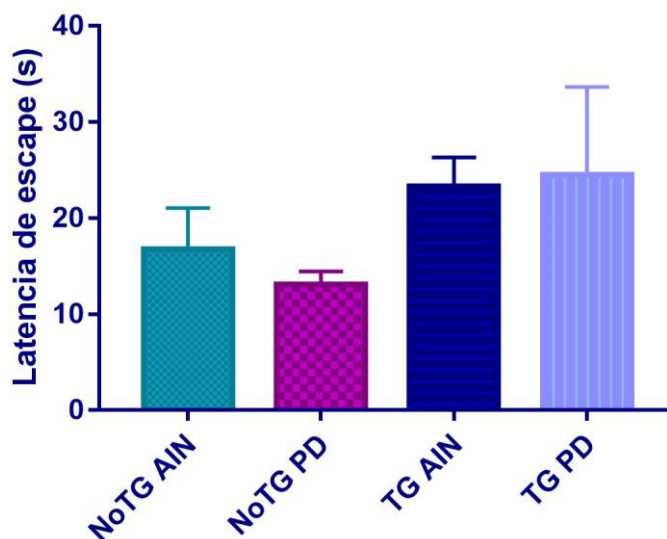


Figura 10. Retención. Se muestra el tiempo (s) de latencia de llegada a la plataforma, en la tarea del laberinto acuático de Morris a los 7 meses de edad, NoTG AIN (n=6), NoTG PD (n=8), TG AIN (n=5), TG PD (n=6).

VII.3.2 Evaluación conductual a los 12 meses de edad

Debido que el protocolo experimental tenía la finalidad de evaluar el efecto de la intervención dietaria a largo plazo (12 meses de edad), pasados 5 meses de la última evaluación conductual se volvió a someter a los ratones LAM. En esta prueba observamos que durante la fase de reentrenamiento no se obtuvieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA $p=0.2804$). Para el grupo NoTG AIN no hubo diferencias entre las sesiones 1.1, 2.1, 3.1 y 4.1 (ANOVA-MR, $p=0.02$); ni para el grupo TG AIN (ANOVA-MR $p=0.4678$). Para los grupos NoTG PD (ANOVA-MR $p=0.1088$) y TG PD (ANOVA-MR $p=0.3689$) no hubo diferencias significativas para las sesiones 1.1, 2.1, 3.1 y 4.1, en la sesión 3 el grupo TG PD presentó un aumento en la latencia, descendiendo en tiempo para la siguiente sesión.

Al analizar latencia de escape para alcanzar la plataforma durante toda la prueba de adquisición, pudimos observar que hubo diferencias entre los grupos con dieta AIN vs PD solo para la sesión 1.1 (ANOVA $P < 0.05$, para la sesión 3.1 el grupo TG PD fue diferente del grupo NoTG AIN (ANOVA $P < 0.05$), pero no para TG AIN y NoTG PD, no se observaron diferencias para las sesiones 2.1 y 4.1.

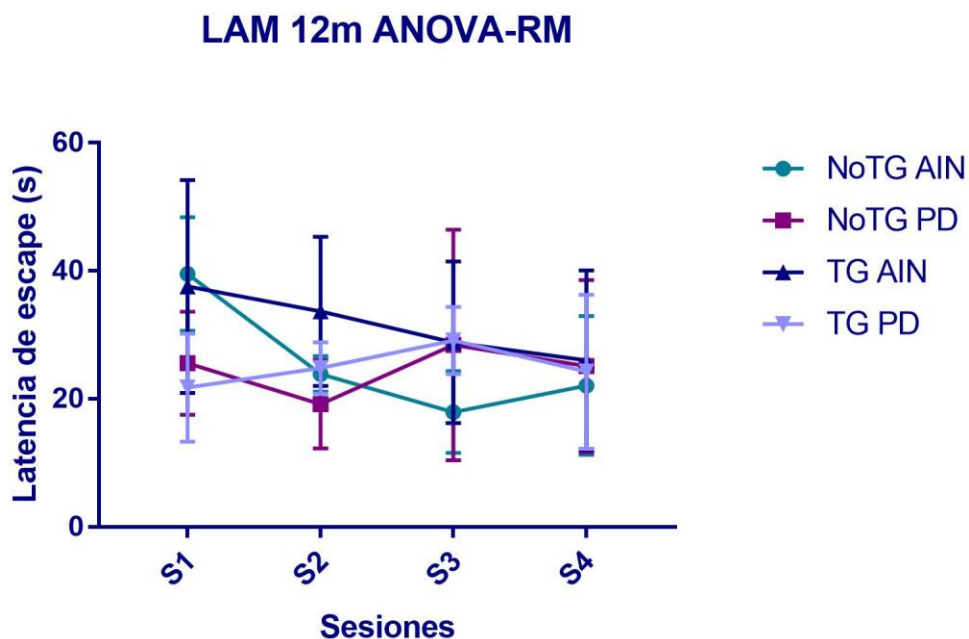


Figura 11.- Adquisición: En la gráfica se muestra el promedio de tiempo (segundos) requerido para la adquisición de la tarea del laberinto acuático a los 12 meses de edad a lo largo de 4 sesiones de entrenamiento, NoTG AIN (n=5), NoTG, PD(n=5), TG AIN (n=5) TG PD (n=4).

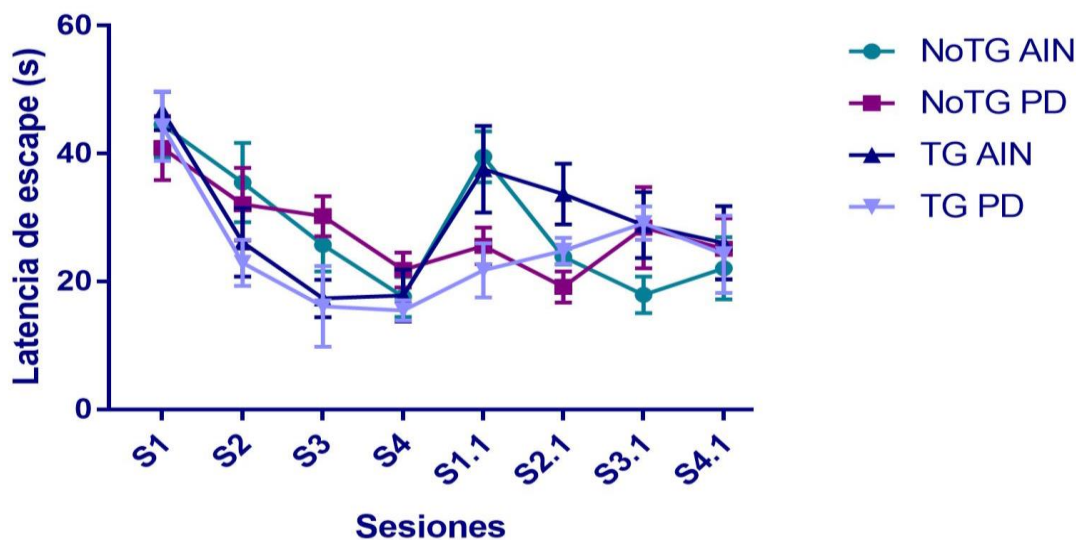


Figura 12.-Entrenamiento 7 y 12 meses. En la gráfica se muestra la disminución de las latencias de escape en todos los grupos para cada sesión, a lo largo de todas las sesiones de entrenamiento, así como las latencias de escape durante las sesiones de reentrenamiento a los 12 meses de edad. Nótese los dos grupos tratados con el PD, entre la S4 y S1.1 que mantuvieron latencias bajas desde el inicio del reentrenamiento.

Se realizaron comparaciones de las latencias de escape durante el entrenamiento entre cada grupo por edad y por condición, con el fin de observar el efecto del tratamiento crónico con PD. Los resultados de las curvas de adquisición a los 7 meses de edad para el grupo NoTG AIN93 y TG AIN93, muestran que a esta edad no hay diferencias significativas entre los grupos NoTG vs TG Sin embargo, a los 12 meses de edad, ambos grupos (TG y No-TG) muestran latencias para llegar a la plataforma durante el entrenamiento de alrededor de 40s, mientras que el grupo NoTG AIN llegan al criterio de adquisición en la sesión 3 mientras los TG AIN tienen una baja disminución de la latencia de escape (sesión 1 vs 2, 3 y 4 NS) correspondiente al deterioro cognitivo para la edad de estos animales.

Al comparar las gráficas en la figura 11, se observa que en los grupos intervenidos con PD hubo una disminución de latencia de llegada a la plataforma de escape en el ensayo 1 (D1), en ambos grupos tratados con el PD, indicando que conocían la prueba, no así los dos grupos tratados con la dieta AIN93

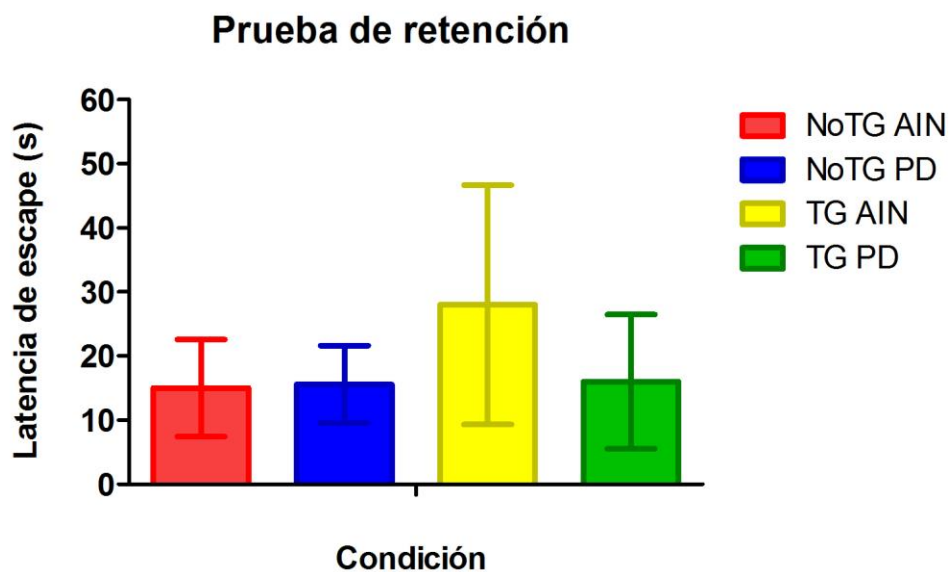


Figura 13.- Retención: Se muestra el tiempo (segundos) de latencia de llegada al sitio de la plataforma, en la tarea del laberinto acuático de Morris a los 12 meses de edad, NoTG AIN (n=5), NoTG PD(n=5), TG AIN(n=5), TG PD (4).

VII.5 Evaluación de proteína β A en el subículum del 3xTg-AD

Con el fin de observar si el PD tuvo un efecto en la β A se realizó un marcaje inmunohistoquímico con diferentes anticuerpos, BAM-10, OC y ABETA42 los cuales detectan β A total, fibrillas amiloides y oligómeros y β A₄₂ total, respectivamente.

Se comparó la presencia de agregados amiloides mediante el anticuerpo BAM10 entre los grupos transgénicos (TG AIN y TG-PD, ambos n=4) y se calculó la intensidad de fluorescencia para β A total, sin distinción de especies o de tamaños; en las figura 14 (A y B) y en la 15, se observa que para el grupo intervenido TG-PD hay una disminución significativa (T-student, P=0.004), en la abundancia de agregados β A con respecto del grupo con dieta control TG-AIN.

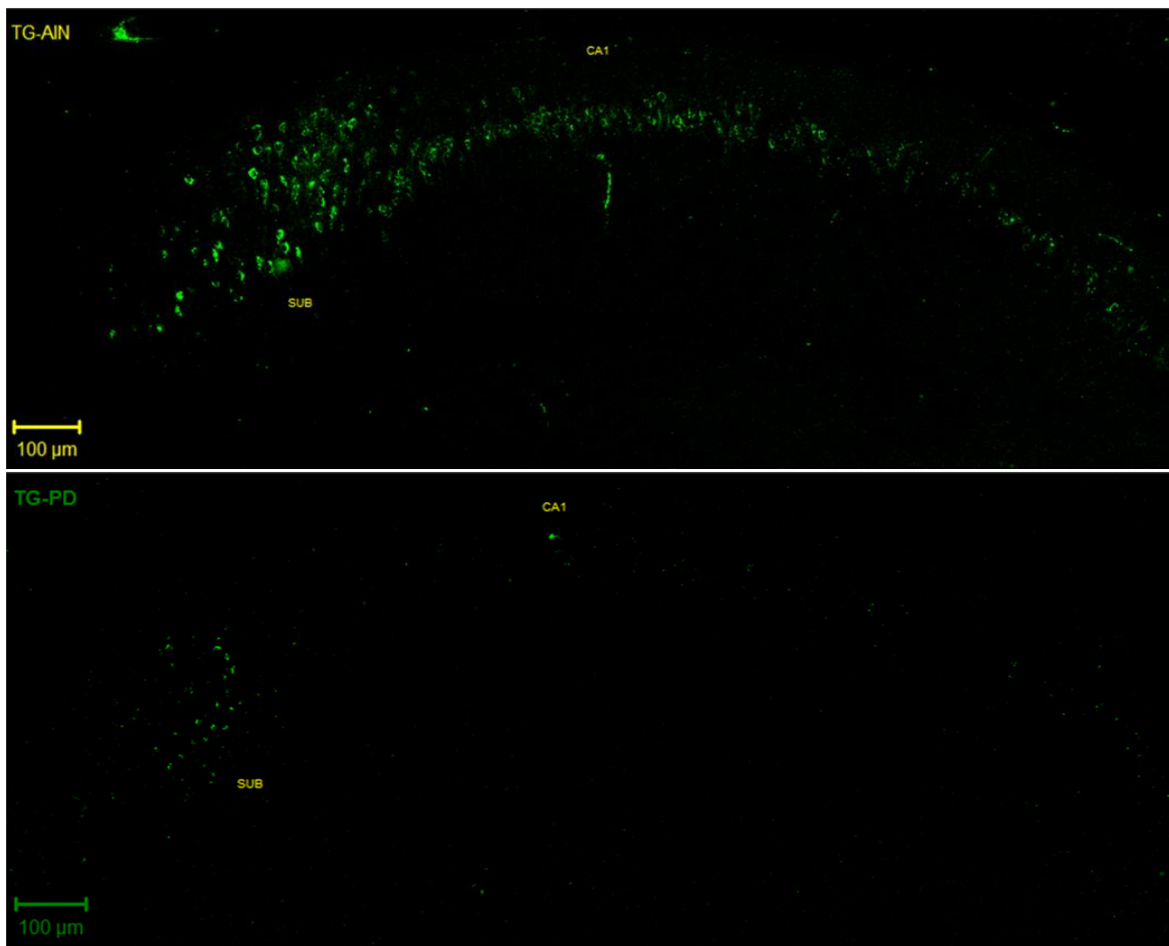


Figura 14. Fotomicrografía panorámica del Hipocampo: Marca positiva para BAM-10, se observa la β A total en verde para TG AIN (Arriba), y para TG PD (Abajo) en la región del subículum (SUB) y CA1.

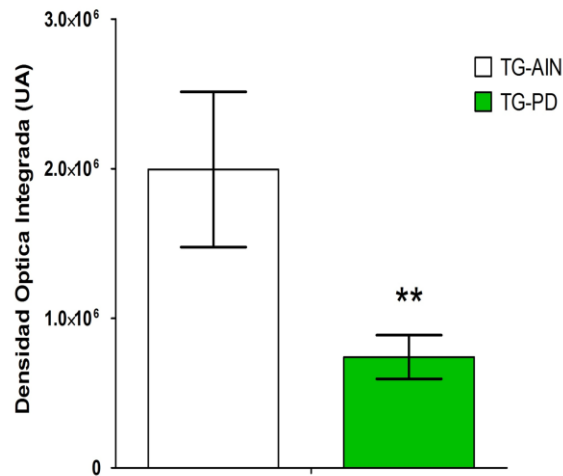


Figura 15.- β A. En la gráfica se muestra el porcentaje de reducción significativa ($P=0.004$) de β A total (sin distinción de forma ni tamaño de los depósitos) en la región del subículum en el hipocampo del 3xTg-AD tratado con el PD a los 12 meses de edad, TG AIN ($n=3$), TG PD ($n=3$). Las imágenes muestran la intensidad de fluorescencia reducida para el grupo tratado con el PD.

En los ratones TG-PD se midió la intensidad de fluorescencia para fibrillas y oligómeros β A la cual fue marcada con el anticuerpo específico (OC). En la figura 16 se observa que para el grupo intervenido TG-PD no hay una disminución significativa con respecto del grupo con dieta control TG-AIN.

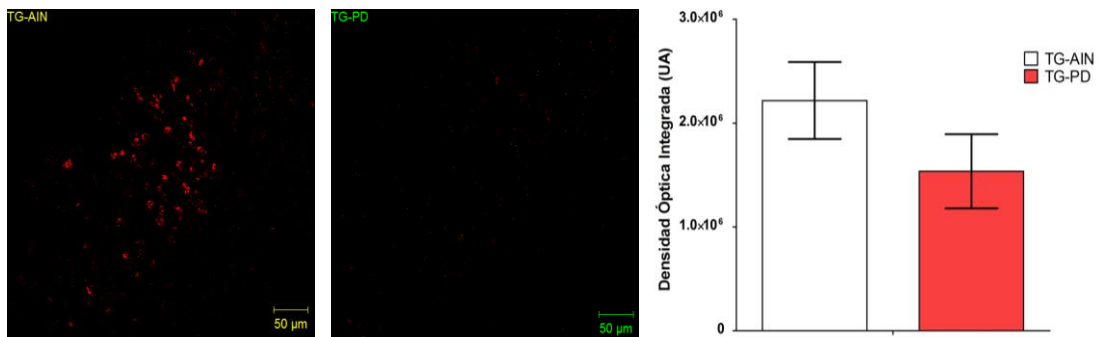


Figura 16.- Promedio \pm EEM de fibrillas y oligómeros de β A (OC) la región del subículum de la formación hipocampal del 3xTg-AD a los 12 meses de edad. Aunque hubo una reducción, en el grupo tratado TG PD ($n=3$) en relación al no tratado TG AIN ($n=3$), esta no es significativa.

En el grupo transgénico de 12 meses de edad, tratado con PD (TG-PD) se midió la intensidad de fluorescencia para βA_{42} la cual fue marcada con su anticuerpo específico (ABETA42) que detecta tanto oligómeros, como fibrillas y diferentes tamaños de agregados amiloides. En la Figura 17 se observa que para el grupo intervenido TG-PD hay una disminución significativa con respecto del grupo con dieta control TG-AIN (T-student, $P=0.007$). Estos resultados en la producción y agregación de βA , sugieren una posible acción favorable del PD en los ratones 3xTg-AD.

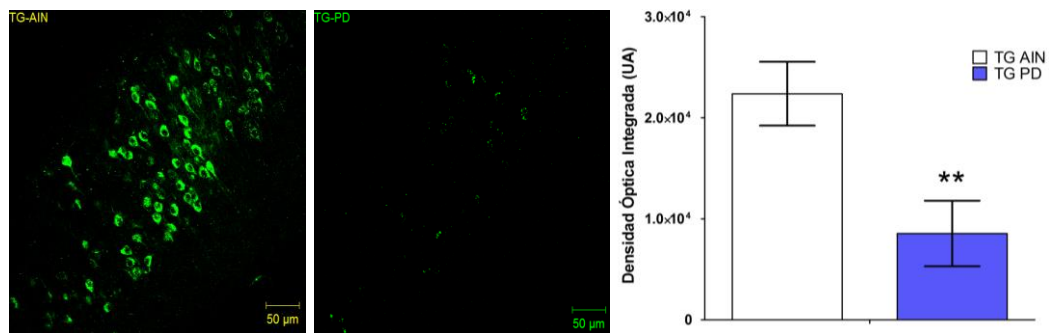


Figura 17. βA_{42} . Promedio \pm EEM de βA_{42} total en la región del subículum de la formación hipocámpal del 3xTg-AD a los 12 meses de edad. Se encontró una reducción significativa ($P=0.007$), en el grupo tratado TG PD ($n=4$) en relación al no tratado TG AIN ($n=4$).

VII.6 Evaluación de malondialdehído (MDA) en el subículum del 3xTg-AD

En el TG-AD de 12 meses de edad, se midió la intensidad de fluorescencia para MDA la cual fue marcada con su anticuerpo específico que detecta malondialdehído, producto de la lipoperoxidación producida por estrés oxidativo.

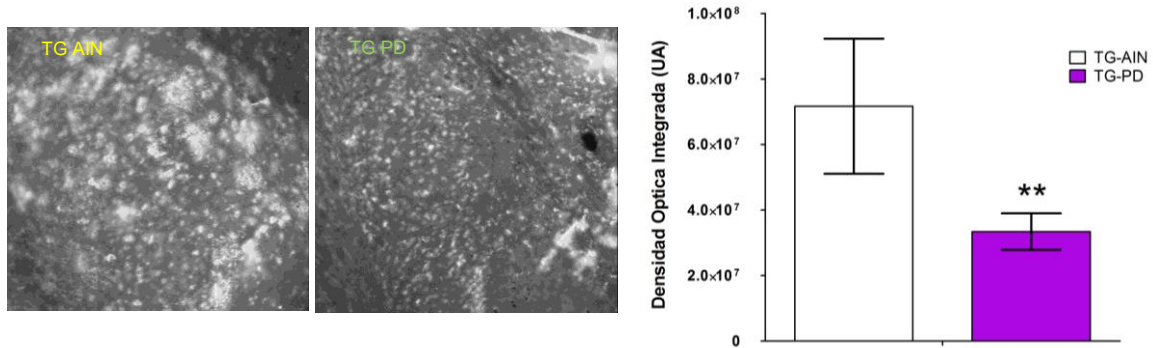


Figura 18.- Promedio \pm EEM de MDA total en la región del subículum de la formación hipocampal del 3xTg-AD a los 12 meses de edad. Se encontró una reducción significativa (T Student $P=0.02$), en el grupo tratado TG PD ($n=4$) en relación al no tratado TG AIN ($n=4$).

El grupo intervenido TG-PD mostró una disminución significativa (T-student, $P=0.02$), con respecto del grupo con dieta control TG-AIN (Fig 18).

VIII.- DISCUSIÓN

La hipótesis propuesta acerca de la intervención a base de alimentos con alto contenido en flavonoides reconocidos por sus capacidades antioxidantes, anti inflamatorias, entre otras y en donde parte de los componentes fueron similares a los reportados por Guevara-Cruz et al., 2012, quienes lo utilizaron para el tratamiento de pacientes con síndrome metabólico, el cual es una constelación de alteraciones metabólicas que, controversialmente, ha sido relacionado con el desarrollo de enfermedad de Alzheimer (EA) debido a que pudiera ser un mejor indicador de riesgo para EA más que sus componentes individuales de forma aislada (García Lara et al., 2010). Otros estudios epidemiológicos han mostrado una asociación entre el consumo de polifenoles y la prevención de la EA caracterizada por deposición extracelular de placas β A (Hassaan et al., 2014). Con base en estos antecedentes, se diseñó este estudio usando un portafolio dietario o dietético (PD), en un modelo homocigoto para la EA, el 3xTg-AD (TG), el cual desarrolla la patología de manera similar que en el humano, para ello, pero considerando que la expresión de las proteínas ocurre hasta la edad adulta y que el periodo crítico del desarrollo cerebral ocurre in utero, se administró el PD, en las madres (TG y No-TG, éste administrado con dieta control, AIN93) a partir del día primero de gestación y en los crios, durante el periodo perinatal (lactancia) y hasta los 12 meses de edad. Este PD, fue expresamente diseñado a base de alimentos funcionales (nopal, semilla de chía, texturizado de soya y cúrcuma), con alto contenido de polifenoles y ácidos grasos (ej. ω -3). Hasta el presente no se había probado el efecto de esta formulación (PD) en este modelo homocigoto, por lo que se tuvo cuidado de establecer parámetros como el registro del peso corporal de las madres y de los crios a lo largo de su vida y se observó que los sujetos de los grupos TG y No-TG a los que se les administró las dietas PD y AIN93, respectivamente a lo largo de su vida, mostraron un crecimiento normal en la ganancia de peso, lo que indica que la formulación de las dietas fue la adecuada (Tabla 1).

Es importante mencionar que dada las características del diseño establecido a largo plazo, y que en la literatura no había antecedentes en este sentido (para haber programado al menos el doble de sujetos experimentales) se tuvo más del 14% de mortalidad, además de que solo los machos fueron considerados para este estudio, por lo que los resultados no muestran diferencias significativas sobre todo en las pruebas conductuales como la muestran los resultados. Considerando valorar el progreso de la patología y el posible efecto temprano de la intervención dietaria, se sometieron a los ratones de 7 meses de edad a la prueba de memoria espacial en el LAM, considerada una prueba ideal para la adquisición de la conducta, y luego a los mismos ratones (sobrevivientes) a los 12 meses, fueron sometidos a la misma prueba, ahora considerada una prueba de reentrenamiento. Sin embargo, y aunque todos los grupos mostraron disminución en las latencias durante el entrenamiento como se muestra en la figura 12, durante el reentrenamiento, los que disminuyeron las latencias fueron los del grupo de dieta AIN93, y aunque se hizo un análisis de los resultados en el estudio horizontal que incluyó a los 4 grupos: dos tratados con el PD (uno 3xTg-AD y uno NoTg) y dos con dieta control, alimentados con dieta AIN93, no encontramos diferencias significativas, según lo mencionado, quizás por el número tan reducidos de individuos al final del experimento

Cabe mencionar, que en la literatura, la única referencia que se ubicara en este contexto, es el estudio reportado en los Congresos por Syda et al., 2016, 2017; quienes llevaron a cabo en las hembras el mismo protocolo del PD (a lo largo de dos generaciones) y a los 9 meses de edad, encontraron un aumento en la expresión de SIRT1 en astrocitos y neuronas principales, así como una reducción en la neuroinflamación y sus capacidades cognitivas se mejoraron. Adicionalmente Sterniczuk et al. 2010 reportan en hembras 3xTg-AD mayor ansiedad. Sin embargo, en este estudio, llevado a cabo en machos, no encontramos diferencias conductuales significativas mostrados por los resultados en la conducta de entrenamiento y re entrenamiento, que incluso pudieran haber sido ideales para establecer una relación entre mejorar las habilidades de aprendizaje y memoria en este modelo a través de la regulación del metabolismo

β -amiloide. Tomando en consideración ambos estudios en hembras y machos, creemos que el uso a largo plazo del PD, en el modelo de ratón 3xTg-AD, permanece por sus posibilidades terapéuticas para la retrasar la manifestación de la enfermedad, y aunque, en nuestro caso, sólo sea con la base en el análisis inmunohistoquímico realizado en esta tesis. Estudio de cuantificación por densitometría, en subículum la FH y en donde encontramos efectos significativos cuando consideramos su efecto antioxidante y anti-amiloidogénico en relación a la presencia de especies oligoméricas de β A y de la proteína β A42 en el. Lo que confirma que una dieta a base de compuestos obtenidos de las plantas, como son los polifenoles y ácidos grasos poliinsaturados, que tienen propiedades antioxidantes, podría retrasar la aparición y progresión de la patología tipo EA. Efectos similares reportados en otros modelos animales para la EA (Cole et al., 2005; Hamaguchi, Ono, Murase, & Yamada, 2009; Huang et al., 2014; Subash et al., 2015; Subash, Essa, Al-asmí, Al-adawí, & Vaishnav, 2014) con otros alimentos funcionales (Huang et al., 2014).

Se sabe que la agregación amiloide se encuentra en varias enfermedades degenerativas que afectan al cerebro o a los tejidos periféricos, cuyos intermediarios (oligómeros, protofibrillas) y fibrillas maduras presentan diferentes efectos. Por consiguiente, se han investigado compuestos que contrarrestan la agregación amiloide por su capacidad para estabilizar los péptidos amiloides tóxicos; evitar el crecimiento de oligómeros tóxicos; para inhibir el crecimiento y deposición de fibrillas; desensamblar las fibrillas preformadas y favorecer el aclaramiento amiloide (Stefani y Rigacci, 2013; Wang et al, 2014; Lakey-Beitia et al., 2015). Encontrándose por ello, abundante literatura en donde los polifenoles (flavonoides) en general, pueden ser capaces de prevenir las enfermedades neurodegenerativas (Ansari, Abdul, Joshi, Opii, & Butterfield, 2009; Ho et al., 2013; J. Kim, Lee, & Lee, 2010). Debido por una parte a sus efectos neuroprotectores (anti-oxidantes y anti-inflamatorios) demostrados en diversos modelos animales (Solanki, Parihar, Mansuri, & Parihar, 2015), y por otra porque funcionan como agentes neuromoduladores por su interacción en la transcripción celular, en el procesamiento de la APP, para prevenir la agregación de la β A. Así, se les

propone como moléculas terapéuticas en la EA, por su capacidad de modular la amiloidogénesis (Lakey-Beitia et al., 2015), causa de las alteraciones cognitivas provocadas por la disfunción neuronal (Vauzour, Rodriguez-Mateos, Corona, Oruna-Concha, & Spencer, 2010; Vauzour, Vafeiadou, Rodriguez-Mateos, Rendeiro, & Spencer, 2008).

En el presente estudio, se pudo observar que por la evaluación inmunohistoquímica con el marcaje de anticuerpos específicos (BAM-10, ABETA42 y OC) los cuales detectan β A total, β A42 y fibrillas amiloides y oligómeros, respectivamente, para valorar la amiloidogénesis en el subículum y en el CA1 del hipocampo, la cual se vio disminuida (Figuras 18 y 19), de manera significativa. Este evento, se podría relacionar al poder antioxidante de los componentes del PD, mecanismo probable por el bloqueo de las especies reactivas de oxígeno, los iones metálicos libres y las enzimas de procesamiento de β A (Lakey-Beitia et al., 2015). En el modelo, 3xTg-AD, se ha reportado que, en amígdala y corteza el cúmulo simultáneo de las protofibras (β A) seguido de la formación de las placas amiloides y las MNF, asociado a la presentación de gliosis reactiva durante el envejecimiento natural del animal (Oddo, Caccamo, Shepherd, et al., 2003; Oddo, Caccamo, Kitazawa, et al., 2003). Es por estas características que lo potencian como el mejor modelo para el estudio del desarrollo de la EA, pero que a la vez presenta una ventana de tiempo asintomática en donde los factores del medio ambiente (con influencia epigenética) como la dieta, pueden influir retardando el deterioro cognitivo y/o el avance de los signos patognomónicos de la EA (estrés oxidativo, placas β A y MNF). En este sentido, se encontró por ejemplo, que el resveratrol (polifenol) extraído de las uvas reducía la neurodegeneración del hipocampo y el deterioro del aprendizaje en un modelo inducible de ratón transgénico p25 de la EA (Kim et al., 2007). Los flavonoides son componentes bioactivos que se derivan de las frutas y hortalizas, tienen un mecanismo de interacción con las vías de señalización celulares seguido por la transcripción y la traducción que median la función celular en condiciones normales y patológicas. Desde la antigüedad, los nutraceuticos ricos en flavonoides y no flavonoides han sido utilizados como suplementos alimenticios en

la mejora de la función cognitiva y en la prevención de enfermedades neurodegenerativas en seres humanos, por lo que constituyen una nueva generación de agentes terapéuticos (Bhullar & Rupasinghe, 2013; Wang et al., 2014).

Tomando en consideración lo anterior, y que la suplementación dietaria regular de alimentos ricos en polifenoles (flavonoides) en una etapa apropiada es prometedora como una alternativa para prevenir la EA ya que mejoran las funciones cognitivas y otras funciones cerebrales (Solanki et al., 2015). En este sentido, se formuló este PD, en donde se incluyó la *Curcuma longa* (cúrcuma) que contiene un polifenol no flavonoide curcumina y otros curcuminoides, que también se ha reportado, tienen un papel beneficioso en modelos animales de enfermedades neurodegenerativas (Aggarwal & Harikumar, 2009). Lo importante de haber anexado el nopal al PD es por su contenido de celulosa pero también por su efecto neuroprotector atribuido al poder antioxidante del polifenol quercetina, y antiapoptótica por su habilidad de reducir daño al DNA (Zito et al., 2013), además de sus propiedades antihiper glucémicas (López-Romero et al., 2014). Existen reportes que muestran los niveles de expresión de factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF), elemento de respuesta a cAMP fosforilado unido a proteína (pCREB), cinasa fosforilada regulada por señal extracelular (pERK) se incrementaron en el hipocampo a 7 días de administración de una especie de nopal (*Opuntia ficus-índica*) lo cual favoreció la memoria a largo plazo (Kim et al., 2010).

De manera paralela, se podría considerar que el contenido de flavonoides en este PD ayudarían a la mejoría en el desempeño cognitivo dado que su administración a largo plazo en este modelo sugiere un efecto sobre la modulación de la plasticidad sináptica a través de la activación de receptores neuronales, proteínas de señalización y expresión de genes (Rendeiro et al., 2009; Rendeiro, Guerreiro, Williams, & Spencer, 2012; Spencer, 2009; Williams & Spencer, 2012b). Se ha probado a los metabolitos de estos flavonoides in vivo para comprobar su habilidad para poder cruzar la barrera hematoencefálica y entrar al cerebro y así influenciar a receptores en el SNC (Vauzour et al., 2008).

Por los resultados encontrados, es importante la intervención a largo plazo, desde la gestación hasta la vida adulta, con el PD, lo que puede comprobar en cierto sentido, que los alimentos ricos en flavonoides y ácidos grasos poliinsaturados actúan previniendo la agregación y el depósito de las especies oligoméricas de β A en el cerebro, en especial en esta área cerebral (subículum-CA1) deteniendo el proceso degenerativo. Al mismo tiempo, es una alternativa para la prevención de la patología tipo EA, en cuanto y quizás a las funciones de aprendizaje y memoria de tipo espacial y otras funciones cerebrales. La aportación acerca de esta intervención a largo plazo propone a estos compuestos como una fuente para diseñar una nueva generación de fármacos bioactivos para mejorar la función cerebral en EA y otras enfermedades neurodegenerativas.

En sintonía con esta propuesta, la consideración global de las pruebas colectivas más recientes sugieren que el enfoque óptimo para la prevención de la EA parece combinar principios de múltiples componentes nutricionales (dieta mediterránea y prehispánica, multivitaminas y suplementos combinatorios clave), además de las modificaciones de estilo de vida tales como el aumento de la actividad social, el ejercicio físico y mental, y el monitoreo adecuado de las enfermedades crónico degenerativas en el adulto.

IX.-CONCLUSIONES

No se encontraron diferencias significativas en la fase de entrenamiento y prueba de retención, a los 7 y 12 meses en el LAM, tanto en modelo (3xTg-AD) y el control tratados con la dieta rica en alimentos funcionales (PD).

A pesar de que el 3xTg-AD, es homocigoto para la enfermedad de tipo hereditario, los factores epigenéticos (medio ambientales) como la dieta (PD), influyen en la manifestación del metabolismo β -amiloide en el subículum de la formación hipocampal.

El PD tuvo efecto a largo plazo en el 3xTg-AD de 12 meses de edad donde se presentó una disminución en la densidad de especies de β A en la región del subículum de la formación hipocampal.

El PD tuvo efecto a largo plazo en el adulto de (12 meses) donde se presentó una disminución en el estrés oxidativo en la región del subículum de la formación hipocampal.

X. PERSPECTIVAS

En general, son necesarios más estudios a largo plazo que evalúen los efectos de diferentes cantidades de compuestos polifenólicos purificados, tanto en animales como en humanos. El diseño de nuevos componentes potenciadores de la estabilidad y biodisponibilidad de las moléculas naturales es un tema de importancia. Se ha reportado que las interacciones sinérgicas pueden tener lugar entre diferentes fitoquímicos y otros micronutrientes, así estas combinaciones deberían desarrollarse para encontrar efectos más fuertes que los de tratamientos individuales (Milagro, Mansego, De Miguel, & Martínez, 2013). Por otra parte, la combinación de compuestos de plantas y drogas sintéticas podría ser un acercamiento terapéutico que deberá ser estudiado a mayor profundidad en la EA.

En particular, replicar el uso del PD en el modelo 3xTg-AD es requisito para poder encontrar la relación entre el efecto del mismo que incluso puedan establecer una relación entre mejorar las habilidades de aprendizaje y memoria a través de la regulación del metabolismo β -amiloide y poder diferenciar entre estas respuestas del PD, entre hembras y machos.

Dada la disponibilidad de otros modelos transgénicos para la enfermedad, el 5xTg-AD que desarrolla la patología de las placas beta amiloide a temprana edad, pudiera ser un modelo ideal para el uso del PD y encontrar efectos a una edad más temprana, evitando los inconvenientes que pueden surgir en un diseño a largo plazo.

XI. BIBLIOGRAFIA

- Aggarwal, B. B., & Harikumar, K. B. (2009). Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 41(1), 40–59. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.06.010>
- Albarracin, S. L., Stab, B., & et al. (2013). Effects of natural antioxidants in neurodegenerative disease. *Nutritional Neuroscience*, 15(1), 1–9.
- Allès, B., Samieri, C., Féart, C., Jutand, M. -a., Laurin, D., & Barberger-Gateau, P. (2012). Dietary patterns: a novel approach to examine the link between nutrition and cognitive function in older individuals. *Nutrition Research Reviews*, (2012), 1–16. <https://doi.org/10.1017/S0954422412000133>
- Ansari, M. A., Abdul, H. M., Joshi, G., Opii, W. O., & Butterfield, D. A. (2009). Protective effect of quercetin in primary neurons against A β (1–42): relevance to Alzheimer's disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 20(4), 269–275. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.03.002>
- Arnaud, L., Robakis, N. K., & Figueiredo-Pereira, M. E. (2007). It may take inflammation, phosphorylation and ubiquitination to “tangle” in Alzheimer's disease. *Neurodegenerative Diseases*, 3(6), 313–319. <https://doi.org/10.1159/000095638>
- Avila-Nava, A., Noriega, L. G., Tovar, A. R., Granados, O., Perez-Cruz, C., Pedraza-Chaverri, J., & Torres, N. (2016). Food combination based on a pre-hispanic Mexican diet decreases metabolic and cognitive abnormalities and gut microbiota dysbiosis caused by a sucrose-enriched high-fat diet in rats. *Molecular Nutrition & Food Research*. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201501023>
- Balogun, E., Hoque, M., Gong, P., Killeen, E., Green, C. J., Foresti, R., ... Motterlini, R. (2003). Curcumin activates the haem oxygenase-1 gene via regulation of Nrf2 and the antioxidant-responsive element. *Biochem. J*, 371, 887–895. <https://doi.org/10.1042/BJ20021619>
- Bazan, N. G., Calandria, J. M., & Gordon, W. C. (2013). Docosahexaenoic acid and its derivative neuroprotectin D1 display neuroprotective properties in the retina, brain and central nervous system. *Nestle Nutrition Institute Workshop Series*, 77, 121–131. <https://doi.org/10.1159/000351395>
- Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S. G., & Goñi, I. (2010). By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3), 210–216. <https://doi.org/10.1007/s11130-010-0176-2>
- Bhattacharya, S. K., Bhattacharya, A., Kumar, A., & Ghosal, S. (2000). Antioxidant activity of *Bacopa monniera* in rat frontal cortex, striatum and hippocampus. *Phytotherapy Research : PTR*, 14(3), 174–9. Retrieved from

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10815010>

- Bhullar, K. S., & Rupasinghe, H. P. V. (2013). Polyphenols: Multipotent therapeutic agents in neurodegenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/891748>
- Bilkei-Gorzo, A. (2014). Genetic mouse models of brain ageing and Alzheimer's disease. *Pharmacology & Therapeutics*, 142(2), 244–257. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.12.009>
- Billings, L. M., Green, K. N., McGaugh, J. L., & LaFerla, F. M. (2007). Learning Decreases A*56 and Tau Pathology and Ameliorates Behavioral Decline in 3xTg-AD Mice. *Journal of Neuroscience*, 27(4), 751–761. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4800-06.2007>
- Billings, L. M., Oddo, S., Green, K. N., McGaugh, J. L., & LaFerla, F. M. (2005). Intraneuronal A?? causes the onset of early Alzheimer's disease-related cognitive deficits in transgenic mice. *Neuron*, 45(5), 675–688. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.01.040>
- Binder, L. I., Frankfurter, A., & Rebhun, L. I. (1985). The distribution of tau in the mammalian central nervous system. *Journal of Cell Biology*, 101(4), 1371–1378. <https://doi.org/10.1083/jcb.101.4.1371>
- Braak, H., Braak, E., Bohl, J., & Bratzke, H. (1998). Evolution of Alzheimer's disease related cortical lesions. *Journal of Neural Transmission. Supplementum*, 54, 97–106.
- Brahmi, D., Ayed, Y., Hfaiedh, M., Bouaziz, C., Mansour, H. Ben, Zourgui, L., & Bacha, H. (2012). Protective effect of cactus cladode extract against cisplatin induced oxidative stress, genotoxicity and apoptosis in balb/c mice: combination with phytochemical composition. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 111. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-111>
- Butterfield, D. A., & Boyd-Kimball, D. (2004). Amyloid beta-peptide(1-42) contributes to the oxidative stress and neurodegeneration found in Alzheimer disease brain. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)*, 14(4), 426–432.
- Butterfield, D. A., Drake, J., Pocernich, C., & Castegna, A. (2001). Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role for amyloid β -peptide. *Trends in Molecular Medicine*, 7(12), 548–554. [https://doi.org/10.1016/S1471-4914\(01\)02173-6](https://doi.org/10.1016/S1471-4914(01)02173-6)
- Butterfield, D. A., & Lauderback, C. M. (2002). Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid β -peptide-associated free radical oxidative stress^{1,2}. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(11), 1050–1060. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00794-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00794-3)
- Cañete, T., Blázquez, G., Tobeña, A., Giménez-Llort, L., & Fernández-Teruel, A. (2015). Cognitive and emotional alterations in young Alzheimer's disease

- (3xTgAD) mice: Effects of neonatal handling stimulation and sexual dimorphism. *Behavioural Brain Research*, 281, 156–171.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.11.004>
- Chicco, A. G., D'Alessandro, M. E., Hein, G. J., Oliva, M. E., & Lombardo, Y. B. (2009). Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in alpha-linolenic acid improves adiposity and normalises hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. *The British Journal of Nutrition*, 101(1), 41–50.
<https://doi.org/10.1017/S000711450899053X>
- Chougui, N., Tamendjari, A., Hamidj, W., Hallal, S., Barras, A., Richard, T., & Larbat, R. (2013). Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. *Food Chemistry*, 139(1–4), 796–803.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.054>
- Cipriani, G., Dolciotti, C., Picchi, L., & Bonuccelli, U. (2011). Alzheimer and his disease: A brief history. *Neurological Sciences*, 32(2), 275–279.
<https://doi.org/10.1007/s10072-010-0454-7>
- Cole, G. M., Lim, G. P., Yang, F., Teter, B., Begum, A., Ma, Q., ... Frautschy, S. A. (2005). Prevention of Alzheimer's disease: Omega-3 fatty acid and phenolic anti-oxidant interventions. *Neurobiology of Aging*, 26(SUPPL.), 133–136.
<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2005.09.005>
- Cole, G. M., Ma, Q.-L., & Frautschy, S. A. (2009). Omega-3 fatty acids and dementia. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 81(2–3), 213–21. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2009.05.015>
- Davis, K. E., Eacott, M. J., Easton, A., & Gigg, J. (2013). Episodic-like memory is sensitive to both Alzheimer's-like pathological accumulation and normal ageing processes in mice. *Behavioural Brain Research*, 254, 73–82.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.03.009>
- Dok-Go, H., Lee, K. H., Kim, H. J., Lee, E. H., Lee, J., Song, Y. S., ... Cho, J. (2003). Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Brain Research*, 965(1–2), 130–136.
[https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)04150-1](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)04150-1)
- Emmerzaal, T. L., Kiliaan, A. J., & Gustafson, D. R. (2015). 2003-2013: A Decade of Body Mass Index, Alzheimer's Disease, and Dementia. *Journal of Alzheimer's Disease*, 43(3), 739–755. <https://doi.org/10.3233/JAD-141086>
- Formisano, C., Senatore, F., Bancheva, S., Bruno, M., Maggio, A., & Rosselli, S. (2010). Volatile components of *Centaurea bracteata* and *C. pannonica* subsp. *pannonica* growing wild in Croatia. *Natural Product Communications*, 5(10), 1649–54. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21121266>
- Galati, E. M., Mondello, M. R., Giuffrida, D., Dugo, G., Miceli, N., Pergolizzi, S., & Taviano, M. F. (2003). Chemical Characterization and Biological Effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. Fruit Juice: Antioxidant and. *Journal of*

Agricultural and Food Chemistry, 51(25 mL), 4903–4908.
<https://doi.org/10.1021/JF030123D>

- Galati, E. M., Mondello, M. R., Monforte, M. T., Galluzzo, M., Miceli, N., & Tripodo, M. M. (2003). Effect of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Cladodes in the wound-healing process. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 5(July 2002), 1–16.
- Gharami, K., Das, M., & Das, S. (2015). Essential role of docosahexaenoic acid towards development of a smarter brain. *Neurochemistry International*, 89, 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2015.08.014>
- Giedraitis, V., Sundelöf, J., Irizarry, M. C., Gårevik, N., Hyman, B. T., Wahlund, L.-O., ... Lannfelt, L. (2007). The normal equilibrium between CSF and plasma amyloid beta levels is disrupted in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters* (Vol. 427). <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.09.023>
- Ginestra, G., Parker, M. L., Bennett, R. N., Robertson, J., Mandalari, G., Narbad, A., ... Waldron, K. W. (2009). Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10323–10330. <https://doi.org/10.1021/jf9022096>
- Green, K. N., Martinez-Coria, H., Khashwji, H., Hall, E. B., Yurko-Mauro, K. a, Ellis, L., & LaFerla, F. M. (2007). Dietary docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid ameliorate amyloid-beta and tau pathology via a mechanism involving presenilin 1 levels. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(16), 4385–95. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0055-07.2007>
- Guevara-Cruz, M., Tovar, A. R., Aguilar-Salinas, C. A., Medina-Vera, I., Gil-Zenteno, L., Hernández-Viveros, I., ... Torres, N. (2012). A Dietary Pattern Including Nopal, Chia Seed, Soy Protein, and Oat Reduces Serum Triglycerides and Glucose Intolerance in Patients with Metabolic Syndrome. *J. Nutr*, 142(15), 64–69. <https://doi.org/10.3945/jn.111.147447>
- Guzmán-Ramos, K., Moreno-Castilla, P., Castro-Cruz, M., McGaugh, J. L., Martínez-Coria, H., LaFerla, F. M., & Bermúdez-Rattoni, F. (2012). Restoration of dopamine release deficits during object recognition memory acquisition attenuates cognitive impairment in a triple transgenic mice model of Alzheimer's disease. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 19(10), 453–60. <https://doi.org/10.1101/lm.026070.112>
- Hamaguchi, T., Ono, K., Murase, A., & Yamada, M. (2009). Phenolic Compounds Prevent Alzheimer's Pathology through Different Effects on the Amyloid- β Aggregation Pathway. *The American Journal of Pathology*, 175(6), 2557–2565. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.090417>
- Hamaguchi, T., Ono, K., & Yamada, M. (2010). REVIEW: Curcumin and Alzheimer's Disease. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 16(5), 285–297.

<https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00147.x>

- Hassaan, Y., Handoussa, H., El-Khatib, A. H., Linscheid, M. W., El Sayed, N., & Ayoub, N. (2014). Evaluation of plant phenolic metabolites as a source of Alzheimer's drug leads. *BioMed Research International*, 2014, 843263. <https://doi.org/10.1155/2014/843263>
- Ho, L., Ferruzzi, M. G., Janle, E. M., Wang, J., Gong, B., Chen, T.-Y., ... Pasinetti, G. M. (2013). Identification of brain-targeted bioactive dietary quercetin-3-O-glucuronide as a novel intervention for Alzheimer's disease. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 27(2), 769–81. <https://doi.org/10.1096/fj.12-212118>
- Hoppe, J. B., Coradini, K., Frozza, R. L., Oliveira, C. M., Meneghetti, A. B., Bernardi, A., ... Salbego, C. G. (2013). Free and nanoencapsulated curcumin suppress β -amyloid-induced cognitive impairments in rats: Involvement of BDNF and Akt/GSK-3 β signaling pathway. *Neurobiology of Learning and Memory*, 106, 134–144. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2013.08.001>
- Huang, H. J., Chen, W. L., Hsieh, R. H., & Hsieh-Li, H. M. (2014). Multifunctional effects of mangosteen pericarp on cognition in C57BL/6J and triple transgenic alzheimer's mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/813672>
- Huang, J.-L., Fu, S.-T., Jiang, Y.-Y., Cao, Y.-B., Guo, M.-L., Wang, Y., & Xu, Z. (2007). Protective effects of Nicotiflorin on reducing memory dysfunction, energy metabolism failure and oxidative stress in multi-infarct dementia model rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 86(4), 741–748. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.03.003>
- Jaworski, T., Kügler, S., Van Leuven, F., & Van Leuven, F. (2010). Modeling of tau-mediated synaptic and neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2010. <https://doi.org/10.4061/2010/573138>
- Jeong, S. K., Park, H. J., Park, B. D., & Kim, I.-H. (2010). Effectiveness of Topical Chia Seed Oil on Pruritus of End-stage Renal Disease (ESRD) Patients and Healthy Volunteers. *Annals of Dermatology*, 22(2), 143. <https://doi.org/10.5021/ad.2010.22.2.143>
- Jos, J., & Ezquerro, R. (2007). 100 años de enfermedad de Alzheimer . Alois Alzheimer : su vida y su obra Historia de la enfermedad de Alzheimer. *Real Invest Demenc*, 12–22. Retrieved from <http://www.revistaalzheimer.com>.
- Jucker, Beyreuther, Haass, Nitsch, C. (2006). *Alzheimer: 100 Years and Beyond*. (Research a). Springer.
- Kalra, E. K. (2003). Nutraceutical--definition and introduction. *AAPS pharmSci*, 5(3), 27–28. <https://doi.org/10.1208/ps050325>
- Kim, D., Nguyen, M. D., Dobbin, M. M., Fischer, A., Sananbenesi, F., Rodgers, J.

- T., ... Johnson, G. (2007). SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *The EMBO Journal*, *26*(13), 3169–79. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601758>
- Kim, J., Lee, H. J., & Lee, K. W. (2010). Naturally occurring phytochemicals for the prevention of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, *112*(6), 1415–1430. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06562.x>
- Kim, J. M., Kim, D. H., Park, S. J., Park, D. H., Jung, S. Y., Kim, H. J., ... Ryu, J. H. (2010). The n-butanolic extract of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* enhances long-term memory in the passive avoidance task in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *34*(6), 1011–7. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.05.015>
- Kivipelto, M., Ngandu, T., Fratiglioni, L., Viitanen, M., Kåreholt, I., Winblad, B., ... Nissinen, A. (2005). Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, *62*(10), 1556–60. <https://doi.org/10.1001/archneur.62.10.1556>
- Kuti, J. O. (2004). Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chemistry*, *85*(4), 527–533. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00184-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00184-5)
- Lacor, P. N. (2004). Synaptic Targeting by Alzheimer's-Related Amyloid Oligomers. *Journal of Neuroscience*, *24*(45), 10191–10200. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3432-04.2004>
- Laughton, M. J., Evans, P. J., Moroney, M. A., Houlst, J. R. S., & Halliwell, B. (1991). Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochemical Pharmacology*, *42*(9), 1673–1681. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(91\)90501-U](https://doi.org/10.1016/0006-2952(91)90501-U)
- Lei, X., Yu, J., Niu, Q., Liu, J., Fraering, P. C., Wu, F., ... Wiltfang, J. (2015). The FDA-approved natural product dihydroergocristine reduces the production of the Alzheimer's disease amyloid- β peptides. *Scientific Reports*, *5*, 16541. <https://doi.org/10.1038/srep16541>
- Lim, G. P., Chu, T., Yang, F., Beech, W., Frautschy, S. A., & Cole, G. M. (2001). The Curry Spice Curcumin Reduces Oxidative Damage and Amyloid Pathology in an Alzheimer Transgenic Mouse, *21*(21), 8370–8377.
- Lin, R., Chen, X., Li, W., Han, Y., Liu, P., & Pi, R. (2008). *Exposure to metal ions regulates mRNA levels of APP and BACE1 in PC12 cells: Blockage by curcumin*. *Neuroscience Letters* (Vol. 440). <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.05.070>
- López-Romero, P., Pichardo-Ontiveros, E., Avila-Nava, A., Vázquez-Manjarrez, N., Tovar, A. R., Pedraza-Chaverri, J., & Torres, N. (2014). The Effect of Nopal (*Opuntia Ficus Indica*) on Postprandial Blood Glucose, Incretins, and

- Antioxidant Activity in Mexican Patients with Type 2 Diabetes after Consumption of Two Different Composition Breakfasts. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 114(11), 1811–1818. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2014.06.352>
- Luna-Muñoz, J., Chávez-Macías, L., García-Sierra, F., & Mena, R. (2007). Earliest Stages of Tau Conformational Changes are Related to the Appearance of a Sequence of Specific Phospho-Dependent Tau Epitopes in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 12(4), 365–375.
- Ma, Q.-L., Yang, F., Rosario, E. R., Ubeda, O. J., Beech, W., Gant, D. J., ... Cole, G. M. (2009). β -Amyloid Oligomers Induce Phosphorylation of Tau and Inactivation of Insulin Receptor Substrate via c-Jun N-Terminal Kinase Signaling: Suppression by Omega-3 Fatty Acids and Curcumin. *Journal of Neuroscience*, 29(28).
- Mastrangelo, M. a, & Bowers, W. J. (2008). Detailed immunohistochemical characterization of temporal and spatial progression of Alzheimer's disease-related pathologies in male triple-transgenic mice. *BMC Neuroscience*, 9, 81. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-9-81>
- Matias, a, Nunes, S. L., Poejo, J., Mecha, E., Serra, a T., Madeira, P. J. A., ... Duarte, C. M. M. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory activity of a flavonoid-rich concentrate recovered from *Opuntia ficus-indica* juice. *Food & Function*, 5(12), 3269–80. <https://doi.org/10.1039/c4fo00071d>
- Matias, I., Buosi, A. S., & Gomes, F. C. A. (2016). Functions of flavonoids in the central nervous system: Astrocytes as targets for natural compounds. *Neurochemistry International*, 95, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.01.009>
- Mattson, M. P. (2004). Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, 430(7000), 631–639. <https://doi.org/10.1038/nature02621>
- Mayeux, R. (2003). EPIDEMIOLOGY OF NEURODEGENERATION. *Annual Review of Neuroscience*, 26(1), 81–104. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.26.043002.094919>
- Mayeux, R., & Stern, Y. (2012). Epidemiology of Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(8). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006239>
- Mecocci, P., & Polidori, M. C. (2012). Antioxidant clinical trials in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1822(5), 631–8. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.10.006>
- Mecocci, P., Tinarelli, C., Schulz, R. J., & Polidori, M. C. (2014). Nutraceuticals in cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Frontiers in Pharmacology*, 5 JUN(June), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00147>
- Medina, M., & Avila, J. (2014). New perspectives on the role of tau in Alzheimer's

- disease. Implications for therapy. *Biochemical Pharmacology*, 88(4), 540–547. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.01.013>
- Mena, R., Edwards, P. C., Harrington, C. R., Mukaetova-Ladinska, E. B., & Wischik, C. M. (1996). Staging the pathological assembly of truncated tau protein into paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, 91(6), 633–41. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8781663>
- Milagro, F. I., Mansego, M. L., De Miguel, C., & Martínez, J. A. (2013). Dietary factors, epigenetic modifications and obesity outcomes: Progresses and perspectives. *Molecular Aspects of Medicine*, 34(4), 782–812. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.06.010>
- Moran-Ramos, S., Avila-Nava, A., Tovar, A. R., Pedraza-Chaverri, J., Lopez-Romero, P., & Torres, N. (2012). Opuntia ficus indica (Nopal) Attenuates Hepatic Steatosis and Oxidative Stress in Obese Zucker (fa/fa) Rats. *Journal of Nutrition*, 142(11), 1956–1963. <https://doi.org/10.3945/jn.112.165563>
- Muyllaert, D., Terwel, D., Borghgraef, P., Devijver, H., Dewachter, I., & Van Leuven, F. (2006). Transgenic mouse models for Alzheimer's disease: the role of GSK-3B in combined amyloid and tau-pathology. *Revue Neurologique*, 162(10), 903–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17028556>
- Nazareno, M. A. (2013). New insights about medicinal uses and health-beneficial properties of cactus products. *Acta Horticulturae*, 995, 237–250.
- Oddo, S., Caccamo, A., Kitazawa, M., Tseng, B. P., & LaFerla, F. M. (2003, December 1). Amyloid deposition precedes tangle formation in a triple transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. Elsevier. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0197458003002033?showall=true>
- Oddo, S., Caccamo, A., Shepherd, J. D., Murphy, M. P., Golde, T. E., Kaye, R., ... LaFerla, F. M. (2003). Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular A β and synaptic dysfunction. *Neuron*, 39(3), 409–21. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12895417>
- Oddo, S., Caccamo, A., Smith, I. F., Green, K. N., & LaFerla, F. M. (2006). A Dynamic Relationship between Intracellular and Extracellular Pools of A β . *The American Journal of Pathology*, 168(1), 184–194. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.050593>
- Oh, P. S., & Lim, K. T. (2006). Glycoprotein (90 kDa) isolated from Opuntia ficus-indica var. saboten MAKINO lowers plasma lipid level through scavenging of intracellular radicals in Triton WR-1339-induced mice. *Biol Pharm Bull*, 29(7), 1391–1396. <https://doi.org/JST.JSTAGE/bpb/29.1391> [pii]
- Onozuka, H., Nakajima, A., Matsuzaki, K., Shin, R.-W., Ogino, K., Saigusa, D., ... Ohizumi, Y. (2008). Nobiletin, a Citrus Flavonoid, Improves Memory

- Impairment and A β Pathology in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 326(3).
- Ontiveros-Torres, M. Á., Labra-Barrios, M. L., Díaz-Cintra, S., Aguilar-Vázquez, A. R., Moreno-Campuzano, S., Flores-Rodríguez, P., ... Luna-Arias, J. P. (2016). Fibrillar Amyloid- β Accumulation Triggers an Inflammatory Mechanism Leading to Hyperphosphorylation of the Carboxyl-Terminal End of Tau Polypeptide in the Hippocampal Formation of the 3 \times Tg-AD Transgenic Mouse. *Journal of Alzheimer's Disease*, 52(1), 243–269. <https://doi.org/10.3233/JAD-150837>
- Orta-Salazar, E., Vargas-Rodríguez, I., Castro-Chavira, S. A., Feria-Velasco, A. I., & Díaz-Cintra, S. (2016). Alzheimer's Disease: From Animal Models to the Human Syndrome (p. Ch. 0). Rijeka: InTech. <https://doi.org/10.5772/64619>
- Osorio-Esquivel, O., Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez, V. B., Dorantes-Álvarez, L., & Giusti, M. M. (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*, 44(7), 2160–2168. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.011>
- Osuna-martínez, U., Reyes-esparza, J., & Rodríguez-fragoso, L. (2014). Cactus (*Opuntia ficus-indica*): A Review on its Antioxidants Properties and Potential Pharmacological Use in Chronic Diseases. *Natural Products Chemistry & Research*, 2(6), 2–9. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000153>
- Paquet, D., Schmid, B., & Haass, C. (2010). Transgenic Zebrafish as a Novel Animal Model to Study Tauopathies and Other Neurodegenerative Disorders in vivo. *Neurodegenerative Diseases*, 7(1–3), 99–102. <https://doi.org/10.1159/000285515>
- Praticò, D. (2008). Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. *Trends in Pharmacological Sciences*, 29(12), 609–615. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.09.001>
- Prince, M., Wimo, A., Guerchet, M., Gemma-Claire, A., Wu, Y.-T., & Prina, M. (2015). World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia - An analysis of prevalence, incidence, cost and trends. *Alzheimer's Disease International*, 84. <https://doi.org/10.1111/j.0963-7214.2004.00293.x>
- Puzzo, D., Gulisano, W., Arancio, O., & Palmeri, A. (2015). The keystone of Alzheimer pathogenesis might be sought in A β physiology. *Neuroscience*, 307, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.08.039>
- Puzzo, D., Privitera, L., Fa', M., Staniszewski, A., Hashimoto, G., Aziz, F., ... Arancio, O. (2011). Endogenous amyloid- β is necessary for hippocampal synaptic plasticity and memory. *Annals of Neurology*, 69(5), 819–830. <https://doi.org/10.1002/ana.22313>
- Puzzo, D., Privitera, L., Leznik, E., Fà, M., Staniszewski, A., Palmeri, A., & Arancio, O. (2008). Picomolar amyloid-beta positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of*

- the Society for Neuroscience*, 28(53), 14537–45.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2692-08.2008>
- Querfurth, H. W., & LaFerla, F. M. (2010). Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine*, 362(4), 329–344.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra0909142>
- Ramadan, M. F., & Mörsel, J.-T. (2003). Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food Chemistry*, 82(3), 339–345. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00550-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00550-2)
- Rendeiro, C., Guerreiro, J. D. T., Williams, C. M., & Spencer, J. P. E. (2012). Flavonoids as modulators of memory and learning: molecular interactions resulting in behavioural effects. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 71(2), 246–62. <https://doi.org/10.1017/S0029665112000146>
- Rendeiro, C., Spencer, J. P. E., Vauzour, D., Butler, L. T., Ellis, J. A., & Williams, C. M. (2009). The impact of flavonoids on spatial memory in rodents: From behaviour to underlying hippocampal mechanisms. *Genes and Nutrition*, 4(4), 251–270. <https://doi.org/10.1007/s12263-009-0137-2>
- Resende, R., Moreira, P. I., Proença, T., Deshpande, A., Busciglio, J., Pereira, C., & Oliveira, C. R. (2008). Brain oxidative stress in a triple-transgenic mouse model of Alzheimer disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 44(12), 2051–7. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.012>
- Riezzo, G., Chiloiro, M., & Russo, F. (2005). Functional foods: salient features and clinical applications. *Current Drug Targets. Immune, Endocrine and Metabolic Disorders*, 5(3), 331–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16178793>
- Roberson, E. D., Scearce-Levie, K., Palop, J. J., Yan, F., Cheng, I. H., Wu, T., ... Mucke, L. (2007). Reducing Endogenous Tau Ameliorates Amyloid β -Induced Deficits in an Alzheimer's Disease Mouse Model. *Science*, 316(5825).
- Rossi, A. S., Oliva, M. E., Ferreira, M. R., Chicco, A., & Lombardo, Y. B. (2013). Dietary chia seed induced changes in hepatic transcription factors and their target lipogenic and oxidative enzyme activities in dyslipidaemic insulin-resistant rats. *The British Journal of Nutrition*, 109(9), 1617–27. <https://doi.org/10.1017/S0007114512003558>
- Sabogal-Guáqueta, A. M., Muñoz-Manco, J. I., Ramírez-Pineda, J. R., Lamprea-Rodriguez, M., Osorio, E., & Cardona-Gómez, G. P. (2015). The flavonoid quercetin ameliorates Alzheimer's disease pathology and protects cognitive and emotional function in aged triple transgenic Alzheimer's disease model mice. *Neuropharmacology*, 93C, 134–145. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.01.027>
- Scarmeas, N., Luchsinger, J. A., Schupf, N., Brickman, A. M., Cosentino, S., Tang, M. X., ... PA, A. (2009). Physical Activity, Diet, and Risk of Alzheimer Disease. *JAMA*, 302(6), 627. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1144>

- Scarmeas, N., Stern, Y., Mayeux, R., Luchsinger, J. A., MM, B., JL, C., ... DS, K. (2006). Mediterranean Diet, Alzheimer Disease, and Vascular Mediation. *Archives of Neurology*, 63(12), 1709. <https://doi.org/10.1001/archneur.63.12.noc60109>
- Schaffer, S., Schmitt-Schillig, S., Müller, W. E., & Eckert, G. P. (2005). Antioxidant properties of Mediterranean food plant extracts: geographical differences. *Journal of Physiology and Pharmacology : An Official Journal of the Polish Physiological Society*, 56 Suppl 1, 115–24. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15800389>
- Schmidt, S. D., Nixon, R. A., & Mathews, P. M. (2005). ELISA method for measurement of amyloid-beta levels. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 299, 279–97. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15980612>
- Selkoe, D. J. (2002). Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science*, 298(5594), 789–791. <https://doi.org/10.1126/science.1074069>
- Shimmyo, Y., Kihara, T., Akaike, A., Niidome, T., & Sugimoto, H. (2008). Epigallocatechin-3-gallate and curcumin suppress amyloid beta-induced beta-site APP cleaving enzyme-1 upregulation. *Neuroreport*, 19(13), 1329–33. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e32830b8ae1>
- Simpson, T., Pase, M., & Stough, C. (2015). Bacopa monnieri as an Antioxidant Therapy to Reduce Oxidative Stress in the Aging Brain. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2015, 615384. <https://doi.org/10.1155/2015/615384>
- Sindi, S., Mangialasche, F., & Kivipelto, M. (2015). Advances in the prevention of Alzheimer's Disease. *F1000prime Reports*, 7, 50. <https://doi.org/10.12703/P7-50>
- Solanki, I., Parihar, P., Mansuri, M. L., & Parihar, M. S. (2015). Flavonoid-Based Therapies in the Early Management of Neurodegenerative Diseases. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 6(1), 64–72. <https://doi.org/10.3945/an.114.007500>
- Sosa, A. L., Albanese, E., Stephan, B. C. M., Dewey, M., Acosta, D., Ferri, C. P., ... Assantachai, P. (2012). Prevalence, Distribution, and Impact of Mild Cognitive Impairment in Latin America, China, and India: A 10/66 Population-Based Study. *PLoS Medicine*, 9(2), e1001170. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001170>
- Spencer, J. P. E. (2009). The impact of flavonoids on memory: physiological and molecular considerations. *Chemical Society Reviews*, 38(4), 1152. <https://doi.org/10.1039/b800422f>
- Spencer, J. P. E., Vafeiadou, K., Williams, R. J., & Vauzour, D. (2012). Neuroinflammation: modulation by flavonoids and mechanisms of action. *Molecular Aspects of Medicine*, 33(1), 83–97.

<https://doi.org/10.1016/j.mam.2011.10.016>

Sterniczuk, R., Antle, M. C., LaFerla, F. M., & Dyck, R. H. (2010). Characterization of the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease: Part 2. Behavioral and cognitive changes. *Brain Research*, *1348*, 149–155.

<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.06.011>

Sterniczuk, R., Dyck, R. H., LaFerla, F. M., & Antle, M. C. (2010). Characterization of the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease: Part 1. Circadian changes. *Brain Research*, *1348*, 139–148.

<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.05.013>

Stintzing, F. C., & Carle, R. (2005). Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition & Food Research*, *49*(2), 175–194. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200400071>

Subash, S., Braidy, N., Essa, M. M., Zayana, A. B., Ragini, V., Al-Adawi, S., ... Guillemin, G. J. (2015). Long-term (15mo) dietary supplementation with pomegranates from Oman attenuates cognitive and behavioral deficits in a transgenic mice model of Alzheimer's disease. *Nutrition*, *31*(1), 223–229.

<https://doi.org/10.1016/j.nut.2014.06.004>

Subash, S., Essa, M. M., Al-asmí, A., Al-adawi, S., & Vaishnav, R. (2014). Chronic Dietary Supplementation of 4 % Figs on the Modification of Oxidative Stress in Alzheimer ' s Disease Transgenic Mouse Model, 2014.

<https://doi.org/10.1155/2014/546357>

Terwel, D., Muyliaert, D., Dewachter, I., Borghgraef, P., Croes, S., Devijver, H., & Van Leuven, F. (2008). Amyloid Activates GSK-3 β to Aggravate Neuronal Tauopathy in Bigenic Mice. *The American Journal of Pathology*, *172*(3), 786–798. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070904>

Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A. M., Allegra, M., & Livrea, M. A. (2004). Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans : a comparative study with vitamin C 1 – 3.

Varadarajan, S., Yatin, S., Aksenova, M., & Butterfield, D. a. (2000). Review: Alzheimer's amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative stress and neurotoxicity. *Journal of Structural Biology*, *130*(2–3), 184–208.

<https://doi.org/10.1006/jsbi.2000.4274>

Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M. J., & Spencer, J. P. E. (2010). Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients*, *2*(11), 1106–31.

<https://doi.org/10.3390/nu2111106>

Vauzour, D., Vafeiadou, K., Rodriguez-Mateos, A., Rendeiro, C., & Spencer, J. P. E. (2008). The neuroprotective potential of flavonoids: a multiplicity of effects. *Genes & Nutrition*, *3*(3–4), 115–26. <https://doi.org/10.1007/s12263-008-0091-4>

Williams, R. J., Mohanakumar, K. P., & Beart, P. M. (2015). Neuro-nutraceuticals:

- The path to brain health via nourishment is not so distant. *Neurochemistry International*. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2015.08.012>
- Williams, R. J., Mohanakumar, K. P., & Beart, P. M. (2016). Neuro-nutraceuticals: Further insights into their promise for brain health. *Neurochemistry International*, *95*, 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.03.016>
- Williams, R. J., & Spencer, J. P. E. (2012a). Flavonoids, cognition, and dementia: Actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for Alzheimer disease. *Free Radical Biology and Medicine*, *52*(1), 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.010>
- Williams, R. J., & Spencer, J. P. E. (2012b). Flavonoids, cognition, and dementia: actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for Alzheimer disease. *Free Radical Biology & Medicine*, *52*(1), 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.010>
- Wortmann, M. (2015). World alzheimer report 2014: Dementia and risk reduction. *Alzheimer's and Dementia*, *11*(7), P837. Retrieved from <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L72125622%5Cnhttp://resolver.lib.washington.edu/resserv?sid=EMBASE&issn=15525260&id=doi:&atitle=World+alzheimer+report+2014%3A+Dementia+and+risk+reduction&stitle=Alzheimer%27s+Dement>
- Yang, F., Lim, G. P., Begum, A. N., Ubeda, O. J., Simmons, M. R., Ambegaokar, S. S., ... Cole, G. M. (2005). Curcumin inhibits formation of amyloid β oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, *280*(7), 5892–5901. <https://doi.org/10.1074/jbc.M404751200>
- Yen, G.-C., Duh, P.-D., & Tsai, H.-L. (2002). Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry*, *79*(3), 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00145-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00145-0)
- Zhao, M., Yang, N., Yang, B., Jiang, Y., & Zhang, G. (2007). Structural characterization of water-soluble polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladodes in relation to their anti-glycated activities. *Food Chemistry*, *105*(4), 1480–1486. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.031>
- Zito, P., Sajeve, M., Bruno, M., Rosselli, S., Maggio, A., & Senatore, F. (2013). Essential oils composition of two Sicilian cultivars of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae) fruits (prickly pear). *Natural Product Research*, *27*(14), 1305–1314. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.734823>
- Zou, D., Brewer, M., Garcia, F., Feugang, J. M., Wang, J., Zang, R., ... Lee, J. (2005). Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *Nutrition Journal*, *4*(1), 25. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-4-25>

XII. INDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Alzheimer.....	8
Figura 2.- Procesos no amiloidogénico y amiloidogénico.....	10
Figura 3.- Hiperfosforilación de la proteína tau.....	12
Figura 4.- Ratón triple transgénico para EA (3xTg-AD).....	14
Figura 5.- Mecanismos del estrés oxidante (EO).....	16
Figura 6.- Alimentos funcionales.....	21
Figura 7.- Equivalencias de edad entre humano y ratón.....	30
Figura 8.- Plano del tanque utilizado en el LAM.....	32
Figura 9.- Entrenamiento 7meses.....	37
Figura 10.- Retención 7meses.....	38
Figura 11.- Reentrenamiento 12 meses.....	39
Figura 12.-Entrenamiento 7 y 12 meses.....	40
Figura 13.- Retención 12 meses.....	41
Figura 14.- Fotomicrografía panorámica del Hipocampo.....	43
Figura 15.- β A total.....	43
Figura 16.- Fibrillas y oligómeros de β A (OC).....	43
Figura 17.- β A42.....	44
Figura 18.- MDA.....	45

XIII.INDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Distribución y contenido de fenoles y flavonoides en <i>Opuntia ficus-índica</i>	22
Tabla 2.- Comparación de la composición de ácidos grasos en la penca de <i>O. ficus-índica</i> con otros aceites comestibles..	22
Tabla 3.- Distribución y contenido de Vitaminas en la penca de <i>O ficus-índica</i>	23
Tabla 4.- Distribución y contenido de minerales en la penca de <i>O ficus-índica</i>	23
Tabla 5.- Distribución contenido de aminoácidos en la penca de <i>Opuntia ficus-índica</i>	24
Tabla 6.- Contenido de ácidos fenólicos e isoflavonas en la chía (<i>Salvia hispanica L</i>).....	25
Tabla 7.- Diseño de portafolio dietario (PD).....	29

XIV. INDICE DE ABREVIATURAS

Alimentos funcionales	AF
American Institute of Nutrition 1993	AIN
Proteína precursora amiloide	APP:
Copper-binding domain	CuBD
Ácido docosahexaenoico	DHA
Dihidroergocristina	DHEC
Enfermedad de Alzheimer	EA
Epigallocatequina-3- galato	EGCG
Estrés oxidante	EO
Especies reactivas de oxígeno	ERO
Food and Drug Administration	FDA
Filamentos helicoidales pareados	FHP
Growth factor-like domain	GFLD
Glycogen Synthase Kinase 3 Beta	GSK3 β
Hipocampo	H
Laberinto acuático de Morris	LAM
Potenciación a largo plazo	LTP
Malondialdehido	MDA
Marañas neurofibrilares	MNF
No Transgénicos	NoTG
Organización Mundial de la Salud	OMS
Solución salina amortiguada por fosfatos	PBS
Portafolio dietario	PD
Paraformaldehído	PFA
Presenilina 1	PS1
Acidos grasos poliinsaturados	PUFAs
Sistema nervioso	SN
Sistema nervioso central	SNC
Transgénicos	TG
Unidades reproductivas	UR
β amiloide	β A