



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

---

---

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD  
LEÓN**

**TEMA:**

**“EFECTO DEL EJERCICIO SOBRE EL SISTEMA  
COLINÉRGICO EN EL MODELO 3xTg-AD PARA EL  
ALZHEIMER”**

**MODALIDAD DE TITULACIÓN:  
TESIS Y EXAMEN PROFESIONAL**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADA EN FISIOTERAPIA**

**P R E S E N T A:  
NAYELI BARRON LEON**

**TUTORA: MTRA. CRISTINA CARRILLO  
ASESORA: DRA. ERIKA MARÍA ORTA SALAZAR  
ASESOR: MTRO. ISAAC VARGAS RODRÍGUEZ**



**León, Guanajuato 2022**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis 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**

A la memoria de mi hermano Alan

Quien fue mi ejemplo a seguir y muchas veces mi maestro. Por iniciar conmigo el camino de la vida universitaria, por apoyarme, enseñarme a luchar y ser persistente en nuestros sueños. Responsable en gran parte que el día de hoy este culminando esta meta, por darme la fortaleza de resanar el alma. Gracias por tanto, te amo siempre.

Y

Al corazón fuerte y noble de mi mamá que a pesar de las adversidades me brinda su amor incondicional todos los días.

## Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y la ENES León por brindarme las herramientas necesarias para mi desarrollo académico, profesional y la fortuna de conocer a grandes personas en sus aulas.

A mi tutora, la maestra Cristina Carrillo a quien me complace haber conocido más y tener la oportunidad de aprender de ella, recibir sus consejos tanto académicos como personales, gracias por su comprensión y por tener las palabras exactas que necesitaba.

A la Dra. Sofía Díaz Miranda, por recibirme en el Instituto de Neurobiología y permitirme llevar a cabo la tesis en su laboratorio y hacerme sentir parte de él. “Sin prisa, pero sin pausa” una de las tantas frases que me decía y resonaba en mí para ser constante y terminar el proyecto. Gracias Doctora por el tiempo compartido y por enseñarme la importancia y respeto que nos merecen los animales.

A mi asesora, la Dra. Erika Orta por adentrarme en el mundo de la ciencia y transmitirme esa pasión por la investigación, además de su paciencia para enseñarme procedimientos completamente nuevos para mí, su amabilidad y disposición en todo momento. Mi profundo agradecimiento por el apoyo, cariño y las tazas de café compartidas.

A mi asesor, el Mtro. Isaac Vargas por su apoyo en las pruebas estadísticas y los comentarios que ayudaron a mejorar mi trabajo y aprender de él.

Quiero expresar mi admiración y agradecimiento a mis padres, Esther Leon García y José Luis Barron Antolín que sin su apoyo no estaría aquí, porque a pesar de que ellos no contaron con las herramientas para recibir una educación básica, siempre nos hablaron sobre la importancia de la escuela para enfrentar mejor los retos del día a día. Por los valores que me forjaron desde pequeña a luchar sin importar los obstáculos, ser valiente e independiente, a trabajar día a día, ser amable y honesta. Por las despedidas los fines de semana con la nostalgia de separarnos, por no cortarme las alas cuando decidí salir de casa y buscar mi futuro, gracias por creer en mí, por apoyarme moral y económicamente. No hay palabras que me alcancen para agradecerles.

A mi hermano mayor José Luis por su amor y su apoyo en los momentos difíciles que me recuerda que no importa que tan complicada sea la situación mientras nos tengamos encontraremos la solución. A mis sobrinos Santiago y Valentina que me inspiran a querer mejorar el mundo que los rodea.

A todos mis maestros de la licenciatura que en cada una de sus clases sembraban en mí la espinita de querer aprender más y estar al nivel de sus preguntas. Por apoyarme en la práctica clínica a saber dirigirme al paciente y familia con la rectitud y la responsabilidad que conlleva atender otro ser

humano. Gracias porque a pesar de una repentina pandemia y de no estar familiarizados con la enseñanza a distancia, se capacitaron y lograron transmitirme el conocimiento a través de distintas plataformas.

Agradezco con mucho cariño a mis amigas Janet, Karina, Itzel, Gema, Monse, Rubí, Gis, por la fortuna de encontrarlas, por su compañía que hacía más llevaderos los días pesados y las tardes de estudio. Atesoro todas las experiencias que compartimos y les confieso que sus risas me salvaron sin darse cuenta, por ser ese abrazo cálido que necesité.

A Juan Carlos Murrieta, a quien conocí durante la carrera y me ha acompañado desde entonces, gracias por compartir tu tiempo y conocimiento conmigo, por alentarme e impulsarme cuando sentía que no era capaz. Por ser y estar a mi lado.

Al técnico académico, M. en C. Azucena Ruth Aguilar Vázquez, por su gran apoyo durante los procedimientos en el laboratorio y la disponibilidad para resolver dudas.

Al técnico laboratorista Jorge Abraham Servín de la Cruz.

A las siguientes unidades del INB:

Unidad de proteogenómica en especial a la M. en C. Adriana González Gallardo por su ayuda en la genotipificación de los ratones empleados en el estudio.

Bioterio al Mvz. José Martín García Servín, a las Dras. Alejandra Castilla León y María A. Carbajo Mata por el apoyo en el manejo, mantenimiento y cuidado de los ratones.

Unidad de Análisis conductual, en especial a la Dra. Deisy Gasca Martínez por la facilitación del equipo necesario e instalaciones para realizar las pruebas conductuales.

A la beca otorgada como Ayudante de Investigador por el Sistema Nacional de Investigadores S.N.I. III, No. Exp. Ayudante: 1103656.

Al financiamiento de recursos a través del proyecto DGAPA-UNAM-PAPIIT-IN206322.

**¡Muchas gracias a todos por contribuir a mi formación!**

## Resumen

**Introducción:** La enfermedad de Alzheimer (EA) es de tipo neurodegenerativa con gran prevalencia a nivel mundial, donde además de las lesiones histopatológicas características como las placas de beta amiloide y los ovillos neurofibrilares se ve afectado en gran medida el sistema de neurotransmisión colinérgico, el cual desempeña un papel importante en procesos cognitivos, y es el principal afectado en la EA. Estructuras cerebrales como el núcleo basal de Meynert (NBM), y el núcleo del septum medial, son la principal fuente de inervación colinérgica a la corteza cerebral e hipocampo, siendo los que se ven afectados desde etapas tempranas en esta patología, y por consiguiente repercute en el deterioro de la memoria, aprendizaje y atención; además de estos procesos, en pacientes con la EA se ha observado un desempeño motor deficiente que se manifiesta con alteración de la postura, de la marcha y del equilibrio. Se ha demostrado que a través del ejercicio se pueden disminuir las alteraciones de la marcha relacionadas a una afectación del sistema nervioso. El ejercicio físico es un tratamiento no farmacológico, seguro, de bajo costo y eficaz en la función cognitiva de pacientes con la EA al promover la modulación de sistemas de neurotransmisión y mejora motora. **Objetivo:** investigar el efecto del ejercicio físico voluntario sobre el sistema colinérgico en el modelo murino 3xTg-AD. **Metodología:** se utilizaron ratones hembra de 10-12 meses (etapa sintomática) divididos en 4 grupos: 3xTg-AD sedentario (n=5), 3xTg-AD con ejercicio (n=5), no transgénico sedentario (n=5), no transgénico con ejercicio (n=5). La intervención con ejercicio físico voluntario tuvo una frecuencia de 5 días a la semana, por 2 horas cada día, durante 2 meses. Se realizaron 2 pruebas conductuales para evaluar memoria de trabajo y funciones ejecutivas; así mismo, la actividad motora fue evaluada a través del análisis de la marcha espontánea. Además, se realizó un análisis anatómico por inmunohistoquímica de los somas colinérgicos del NBM y del septum medial. **Resultados:** se observó mejoría en la capacidad cognitiva (alternancia, memoria de trabajo y funciones ejecutivas). También se favoreció el mantenimiento del sistema colinérgico preservando el número de células colinérgicas. **Conclusión:** una intervención no farmacológica con ejercicio físico voluntario favorece tanto las habilidades cognitivas, como a la neurotransmisión colinérgica asociada a la EA en etapas críticas de dicha patología.

**Palabras clave:** Alzheimer, ejercicio, 3xTg-AD, acetilcolina, cognición.

## Abstract

**Introduction:** Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative with great prevalence worldwide, where in addition to the characteristic histopathological lesions such as beta amyloid plaques and neurofibrillary tangles, the cholinergic neurotransmission system is damaged, which plays an important role in cognitive processes, and is the main affected in AD. Brain structures such as the nucleus basalis of Meynert (NBM), and the nucleus of the medial septum, are the main source of cholinergic innervation to the cerebral cortex and hippocampus, and those are affected from the early stages in this pathology, and consequently affects memory, learning and attention impairment. In addition to these processes, poor motor performance has been observed in patients with AD, manifested by altered posture, walk, and balance. Evidence show that exercise can help to improve gait disturbances related to an affectation of the nervous system. Physical exercise is a non-pharmacological, safe, low-cost and effective treatment in the cognitive function of patients with AD by promoting the modulation of neurotransmission systems and motor improvement. **Objective:** this work has the purpose to investigate the effect of voluntary physical exercise on the cholinergic system in the murine 3xTg-AD model. **Method:** Female mice of 10-12 months (symptomatic stage) divided into 4 groups were used: sedentary 3xTg-AD (n = 5), 3xTg-AD with exercise (n = 5), sedentary non-transgenic (n = 5), non-transgenic with exercise (n = 5). The intervention with voluntary physical exercise had a frequency of 5 days a week, for 2 hours each day, for 2 months. Two behavioral tests were carried out to assess working memory and executive functions; likewise, motor activity was evaluated through spontaneous gait analysis. In addition, an anatomical analysis by immunohistochemistry of the cholinergic bodies of the NBM and the medial septum was performed. **Results:** it was observed an improvement in cognitive capacity (alternation, working memory and executive functions). As well as favoring the maintenance of the cholinergic system by preserving the number of cholinergic cells. **Conclusion:** a non-pharmacological intervention with voluntary physical exercise helps both cognitive abilities and the cholinergic neurotransmission associated with AD in critical stages of the disease.

**Keywords:** Alzheimer, exercise, 3xTg-AD, acetylcholine, cognition.

## Índice

Introducción .....	1
1.0 Antecedentes .....	3
1.1 Clasificación de la enfermedad de Alzheimer .....	3
1.2 Factores de riesgo para desarrollar la enfermedad de Alzheimer .....	3
1.2.1 Envejecimiento .....	3
1.2.3 Sexo .....	4
1.2.4 Alimentación .....	4
1.2.5 Sedentarismo .....	4
1.3 Etapas de la enfermedad de Alzheimer .....	5
1.4 Lesiones macroscópicas .....	5
1.5 Lesiones microscópicas .....	6
1.6 Neurotransmisores en la EA .....	7
1.7 Importancia del sistema colinérgico en la enfermedad de Alzheimer .....	8
1.7.1 Acetilcolina y su relevancia en la enfermedad de Alzheimer .....	8
1.7.2 Síntesis de Acetilcolina (Ach) .....	9
1.7.3 La hipótesis colinérgica en la enfermedad de Alzheimer .....	10
1.7.4 Disfunción motora y acetilcolina .....	10
2.0 Modelos animales para el estudio de la EA (modelo 3xTg-AD) .....	11
2.1 Etapas y cambios en el modelo 3xTg-AD .....	12
2.2 Dimorfismo sexual en el modelo 3xTg-AD .....	13
3.0 Tratamientos en la enfermedad de Alzheimer .....	13
3.1 Tratamiento farmacológico .....	14
3.2 Tratamiento no farmacológico (ejercicio físico) .....	14
3.2.1 Ejercicio físico voluntario .....	18
3.2.2 Intervenciones de ejercicio físico en el modelo 3xTg-AD para la enfermedad de Alzheimer .....	20
4.0 Planteamiento del problema .....	22
5.0 Justificación .....	22
5.1 Pregunta de investigación .....	23



5.2 Hipótesis.....	23
Hipótesis nula.....	23
5.3 Objetivo general .....	24
5.3.1 Objetivos específicos .....	24
6.0 Material y métodos .....	25
6.1 Animales de experimentación .....	25
6.2 Características de la intervención de ejercicio físico voluntario.....	26
6.3 Pruebas conductuales.....	27
6.3.1 Análisis de funciones ejecutivas (acaparamiento de comida) .....	27
6.3.2 Análisis de memoria de trabajo y espacial (laberinto en T) .....	27
6.4 Prueba Motora.....	28
6.4.1 Análisis de la marcha .....	28
6.5 Perfusión y conservación de tejidos.....	28
6.6 Pruebas inmunohistoquímicas .....	29
6.7 Captura de imágenes en el microscopio.....	29
6.8 Análisis de imágenes .....	30
6.9 Pruebas estadísticas .....	30
7.0 Resultados.....	31
7.1 Rendimiento del ejercicio físico.....	31
.....	31
7.2 Conducta de funciones ejecutivas.....	31
7.3 Tarea de memoria de trabajo y espacial.....	32
7.4 Evaluación motora.....	34
7.5 Resultados inmunohistoquímicos .....	35
7.5.1 Células colinérgicas en el núcleo basal de Meynert .....	35
7.5.2 Células colinérgicas en el núcleo del septum medial .....	36
8.0 Discusión .....	38
9.0 Conclusión.....	42
Referencias .....	43

## Introducción

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) y a la revista de la asociación de Alzheimer, la demencia es un término general que está caracterizado por la disfunción cognitiva, lo cual incluye la dificultad en la planeación y resolución de problemas, dificultad en la memoria y lenguaje y otras habilidades necesarias para la realización de actividades de la vida diaria humana ("Demencia", 2020; "2020 Alzheimer's Disease Facts and Figures," 2020). La demencia afecta mundialmente a 50 millones de personas y se estima que para el 2030 se eleve la cifra a 82 millones, lo cual indica un crecimiento acelerado de la enfermedad entre la población. Existen diversas formas de presentación de demencia como: demencia vascular, demencia por cuerpos de Lewy, demencia frontotemporal, demencia por Enfermedad de Alzheimer, siendo ésta última la de mayor incidencia con un 60-70% del total de demencias ("Demencia", 2020).

La enfermedad de Alzheimer (EA) lleva el nombre del psiquiatra alemán, Alois Alzheimer, que reportó el primer caso en 1906, hace más de 100 años en la convención de psiquiatras del suroeste de Alemania en su edición No. 37 (Breijyeh & Karaman, 2020; Liu et al., 2019). El observó en una de sus pacientes, cambios de comportamiento, así como pérdida de memoria que empeoró con el tiempo. Luego de la muerte del paciente, al examinar el cerebro, se percató de la presencia de las placas de betamiloide y la pérdida neuronal, por lo cual la describió como una grave enfermedad que afecta la corteza cerebral (Breijyeh & Karaman, 2020).

La EA es una disfunción neurodegenerativa, de carácter progresivo, irreversible e incurable. Se caracteriza por la pérdida de memoria que se exacerba con el tiempo, dificultad de razonamiento, cambios de personalidad, afectación del habla, orientación viso espacial y disfunción del sistema motor (Deture & Dickson, 2019; Liu et al., 2019). Los síntomas que presentan se pueden englobar a grandes rasgos en tres grupos: la afectación cognitiva, síntomas psiquiátricos y disturbios del comportamiento y la dificultad para la realización de tareas cotidianas (Jia et al., 2019). Actualmente, es un problema de salud pública muy importante pues a medida que la población envejece, tiene más probabilidades de desarrollar la EA, ya que la edad es uno de los factores de riesgo más relevantes, por lo cual las organizaciones de salud tienen previsto un aumento en el índice de los casos y con ello una repercusión económica al incrementar la cobertura de tratamientos, sin dejar de lado las complicaciones que llegan a sufrir los pacientes y sus familiares donde su calidad de vida se deteriora enormemente.

Por lo anterior, son de suma importancia las estrategias de intervención que coadyuven a disminuir o retrasar la sintomatología de los pacientes afectados; entre los tratamientos se encuentran los farmacológicos y los no farmacológicos donde la fisioterapia juega un rol fundamental a través del ejercicio físico, este ha demostrado resultados positivos debido a los diversos cambios que induce el mismo y se observan a nivel cerebral, que van desde el aspecto anatómico, celular y molecular los cuales contribuyen a favorecer el proceso de memoria, aprendizaje y plasticidad cerebral; de

igual manera, la intervención en etapas tempranas en pacientes con la EA, el ejercicio aeróbico ha mejorado distintos dominios, entre ellos, las funciones ejecutivas y la memoria (De la Rosa et al., 2020).

Para comprender el impacto, plantear distintas estrategias terapéuticas, así como los posibles mecanismos a través de los cuales el ejercicio físico ayuda a mejorar la sintomatología de los pacientes, son de suma importancia los estudios preclínicos que contemplan la experimentación con modelos de ratones transgénicos que presentan las principales características neuropatológicas de la enfermedad. Se han realizado estudios en modelos transgénicos con intervenciones de ejercicio físico de tipo forzado, es decir que presentan parámetros previamente establecidos y de tipo voluntario, donde se han observado mayores beneficios en este último puesto que disminuye el estrés psicológico que influye en la patogénesis de la EA, disminuye la carga de la placa betamiloide y favorece el aprendizaje espacial (Baglietto-Vargas et al., 2015; Yuede et al., 2018). Es por ello, que en el presente trabajo se optó por utilizar el ejercicio físico voluntario como método de intervención y describir cómo influye en la densidad de células colinérgicas, así como en el desempeño cognitivo y motor.

## **1.0 Antecedentes**

### **1.1 Clasificación de la enfermedad de Alzheimer**

La EA tiene dos presentaciones clínicas de acuerdo con el momento de su aparición: el primero, de inicio temprano o también conocido como familiar que representa la minoría de los casos con un 5-10%, la edad promedio de su diagnóstico es a los 45 años y se sabe que es causado por la mutación de la proteína precursora amiloidea (PPA) localizada en el cromosoma 21, presenilina 1 (PSEN1) en el cromosoma 14 y presenilina 2 (PSEN2) en el cromosoma 1 (Deture & Dickson, 2019; Liu et al., 2019).

El segundo, es la EA de tipo esporádico o también llamada de inicio tardío, que como su nombre lo indica, aparece a los 65 años o después, es el de incidencia más común y en éste se sabe que influye en una pequeña parte la mutación de la apolipoproteína E (APOE) alelo  $\epsilon 4$  localizado en el cromosoma 19, es secretado por el hígado y el sistema nervioso central, debido a ello tiene un papel importante en el metabolismo de los lípidos, al igual que se cree que puede promover la formación de filamentos de beta amiloide, además de éste factor de riesgo genético, existen otros factores que influyen como un trauma encefálico, neuroinflamación, alimentación deficiente, sedentarismo, obesidad, estrés oxidativo, esto por mencionar algunos ya que es multifactorial y compleja (Gronek et al., 2019; Liu et al., 2019).

### **1.2 Factores de riesgo para desarrollar la enfermedad de Alzheimer**

A pesar de ser una enfermedad de etiología multifactorial, existen varios factores de riesgo que se han asociado a su padecimiento, como es el estilo de vida que ha adoptado la sociedad en los últimos años y que ha contribuido al incremento en la incidencia de desórdenes metabólicos como diabetes, obesidad, hiperlipidemias que contribuyen a su vez a desarrollar enfermedades cardiovasculares. Asimismo, la edad, el sexo y los antecedentes heredofamiliares juegan un papel importante (Breijyeh & Karaman, 2020; Camandola & Mattson, 2017).

#### **1.2.1 Envejecimiento**

Es un proceso irreversible que ocurre en todos los seres vivos, donde se presentan cambios neuroanatómicos como: disminución del volumen y peso cerebral, reducción en el número de sinapsis, alargamiento de los ventrículos y presencia de placas seniles en zonas específicas (Breijyeh & Karaman, 2020). Además, existe un adelgazamiento en la corteza prefrontal, lóbulo medial, lóbulo temporal e hipocampo a causa del envejecimiento, así como, disminución de la sustancia gris relacionada con el declive de sinapsis y arborización dendrítica. La interacción deficiente entre corteza prefrontal e hipocampo repercutirá en el desempeño cognitivo, afectando dominios como la memoria episódica, memoria espacial, memoria de trabajo y velocidad de procesamiento (Camandola & Mattson, 2017).

Durante el envejecimiento normal del cerebro existe un hipometabolismo de la glucosa, disfunción mitocondrial y niveles elevados de estrés oxidativo, condiciones que se exacerban en la EA y por ende tienen un papel esencial en la etiología de la enfermedad (Garatachea et al., 2015).

### **1.2.3 Sexo**

Un factor de riesgo que ha llamado la atención es el sexo, pues las mujeres representan 2/3 de la población con la EA. A través de estudios de neuroimagen y postmortem se ha demostrado que el sexo femenino presenta mayor daño en deterioro mental en comparación con los hombres (Breijyeh & Karaman, 2020). Koran et al (2017) reportaron una progresión de atrofia hipocampal más rápida en mujeres, así como, niveles más altos de proteína tau hiperfosforilada en la corteza frontal respecto a los hombres. En cuanto a estudios en modelos animal, Carroll et al (2010) encontraron una mayor acumulación del péptido de beta amiloide ( $\beta A$ ) en la corteza frontal de ratones hembra de 6-8 meses de edad que presentan características tipo Alzheimer y déficit cognitivo mayor comparado con los ratones macho de la misma edad (Yang et al., 2018a). Lo anterior, suelen atribuirlo al periodo de menopausia donde existe pérdida de hormonas importantes que actúan como neuroprotectores, en este caso, los estrógenos regulan actividades cerebrales como la neurotransmisión, desarrollo neuronal, protección contra el estrés oxidativo y reducen niveles de péptidos de  $\beta A$  y la proteína tau hiperfosforilada (Breijyeh & Karaman, 2020).

### **1.2.4 Alimentación**

Se ha demostrado, que para un buen funcionamiento cerebral es necesaria una dieta rica en antioxidantes y vitaminas que asegure los nutrientes que nuestro cerebro necesita, en cambio, una dieta con alta ingesta calórica y ácidos grasos saturados promueve el inicio de la EA. Dentro de las vitaminas importantes para el cerebro se encuentran la vitamina B12 y vitamina D, ésta última tiene un papel importantísimo al promover la neurotransmisión, neurogénesis, sinaptogénesis y prevenir la muerte neuronal (Breijyeh & Karaman, 2020).

Algunos estudios han demostrado que una mala nutrición disminuye la función cognitiva a causa de la pérdida de sinapsis. Mientras que en estudios en modelos animales se ha observado que la malnutrición desde etapas tempranas de la vida causa un daño en la capacidad de aprendizaje espacial (Breijyeh & Karaman, 2020).

### **1.2.5 Sedentarismo**

La inactividad física es un factor de riesgo de mortalidad en hombres y mujeres debido a las enfermedades a las que contribuye. Tiene repercusión en los diferentes sistemas del cuerpo incluyendo el sistema nervioso central (SNC) y en el adulto mayor puede causar pérdida de densidad ósea y masa muscular por mencionar algunos (Garatachea et al., 2015).

El sedentarismo es un factor de riesgo para desarrollar demencia y se cree que es responsable de la prevalencia e impacto de la EA pues contribuye a incrementar el daño oxidativo, disminuye los

factores neurotróficos importantes en procesos de neuroplasticidad cerebral y neurogénesis y disminuye el metabolismo cerebral (Garatachea et al., 2015; Radak et al., 2010).

### **1.3 Etapas de la enfermedad de Alzheimer**

Al ser la EA de carácter progresivo, se puede clasificar en tres etapas que fueron establecidas por el Institute on Aging and the Alzheimer's Association (NIA-AA) en el 2011.

1. La primera etapa también llamada preclínica, suele ser asintomática, aunque ya existe un proceso fisiopatológico en la corteza e hipocampo que se estima inicia años antes de su presentación clínica ("2020 Alzheimer's Disease Facts and Figures," 2020; Lloret et al., 2019).

2. Fase de daño cognitivo leve, es la etapa donde aparecen síntomas como pérdida de memoria, llegando a desconocer a personas de su entorno, familiares y amigos, cambios de humor repentinos y depresión, se encuentran desorientados en tiempo y espacio y mínima concentración en las actividades que realizan, sin embargo, no existe un compromiso de la independencia del paciente (Breijyeh & Karaman, 2020).

3. Finalmente se encuentra la etapa de demencia donde hay acumulación de placas neuríticas y ovillos neurofibrilares tanto en corteza como estructuras subcorticales, manifestándose un daño cognitivo y funcional mayor que resultará en la pérdida de independencia del paciente y limitación para las actividades de la vida diaria (Breijyeh & Karaman, 2020; Lloret et al., 2019; Parnetti et al., 2019).

### **1.4 Lesiones macroscópicas**

La exploración a nivel macroscópico no es un diagnóstico certero sobre la enfermedad, se emplea más como una herramienta que puede servir de apoyo complementario a los demás estudios. Entre los cambios observados, se presenta la atrofia progresiva de carácter difuso que afecta principalmente el lóbulo frontal y lóbulo temporal donde se encuentra el hipocampo, estructura muy importante en la cognición. Es justamente la atrofia de esta estructura y de la amígdala una característica de la EA. Respecto a los surcos cerebrales, se encuentran más pronunciados y atrofia de las circunvoluciones, así como dilatación o agrandamiento de los ventrículos laterales. Todo lo anterior repercute el volumen y por ende disminuye el peso cerebral (Deture & Dickson, 2019). Fig.

1



Figura 1. Cambios neuroanatómicos presentes en la EA. Modificada de (Deture & Dickson, 2019).

### 1.5 Lesiones microscópicas

Se han descrito lesiones histopatológicas muy características en la EA, las primeras son: las placas de beta amiloide extracelulares que consisten en la acumulación de residuos de péptidos beta amiloide principalmente  $\beta$ A40 y  $\beta$ A42, los cuales derivan de la proteína precursora amiloide (PPA) que se somete a un proceso proteolítico regulado por las enzimas  $\beta$  y  $\gamma$  secretasas para formar estos péptidos  $\beta$ A (Deture & Dickson, 2019; Gronek et al., 2019). Las placas pueden presentar diversas morfologías como neuríticas, difusas, clásicas y compactas, sin embargo, se ha observado que las predominantes en la EA son las placas difusas y centrales (Breijyeh & Karaman, 2020; Deture & Dickson 2019). Estas placas se concentran principalmente en hipocampo, amígdala y corteza cerebral, dañando a los axones y dendritas de las neuronas, así como impidiendo la sinapsis entre ellas, estimulando la activación de astrocitos y microglía (Breijyeh & Karaman, 2020).

Otra lesión son los ovillos o marañas neurofibrilares intracelulares que están formados por proteína tau hiperfosforilada como resultado de un desequilibrio en la actividad de las cinasas y fosfatasas (principalmente la proteína fosfatasa 2A), impidiendo que la proteína realice su función estabilizadora de los microtúbulos. Para compensar este daño, las neuronas sintetizan nuevamente tau y van aglomerando la tau fosforilada en las marañas neurofibrilares. Se considera altamente tóxica pues se ha relacionado con el grado de demencia con la cantidad de ovillos neurofibrilares presentes (Deture & Dickson, 2019; Gronek et al., 2019); Yang et al., 2018a). Fig. 2.

La disfunción sináptica también es una lesión característica de la EA, conlleva una disminución del número de sinapsis y degeneración neuronal afectando principalmente a las neuronas colinérgicas y glutaminérgicas, a esta pérdida se le atribuye en particular el declive de la memoria y cognición en diferentes etapas (Oddo et al., 2003; Orta-Salazar et al., 2016).

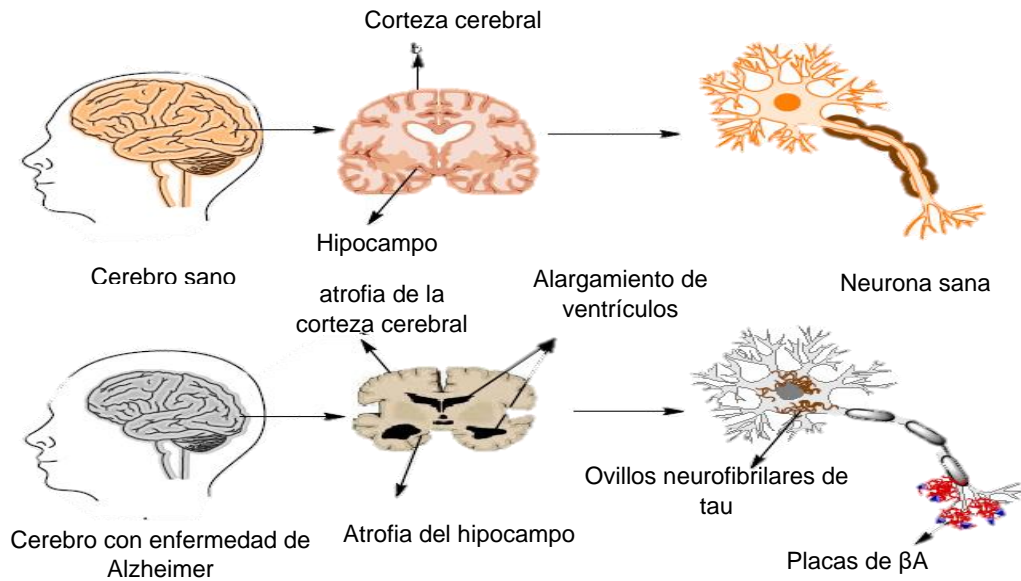


Figura 2. Cambios anatómicos e histopatológicos presentes en cerebros con la EA. Modificada de (Breijyeh & Karaman, 2020)

## 1.6 Neurotransmisores en la EA

Además de los cambios estructurales a nivel macroscópico y microscópico que se presentan durante la EA, también existe una alteración en los diferentes sistemas de neurotransmisión como el colinérgico, serotoninérgico, dopaminérgico y noradrenérgico.

La serotonina juega un papel importante en la toma de decisiones, interacción social y memoria espacial debido a su relación con el hipocampo y corteza frontal. Cuando existe un descenso en este neurotransmisor, se desarrollan síntomas conductuales y psicológicos característicos de la EA como la irritación, agresividad, ansiedad, agitación, apatía, etc. (Chakraborty et al., 2020; Štrac et al., 2016).

Así mismo, se presentan niveles bajos de noradrenalina o también llamada norepinefrina (NE), debido a la atrofia y degeneración del núcleo Locus Coeruleus, que es el núcleo encargado de secretar esta sustancia que ejerce efecto en distintas estructuras como la corteza prefrontal, tálamo, amígdala, cerebelo, hipocampo y debido a ello es importante en procesos cognitivos, de comportamiento y de control motor. Se ha reportado su deterioro sobre todo en casos avanzados de la enfermedad, lo cual sugiere que los niveles de NE en el cerebro son dependientes de la etapa (Bekdash, 2021; Pan et al., 2020).



En cuanto a la dopamina, a pesar de que los estudios han sido inconsistentes sobre el papel y niveles de este neurotransmisor en la EA, en los últimos años se ha demostrado su repercusión, puesto que las neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral tienen proyecciones a estructuras muy importantes como el hipocampo, corteza cerebral y núcleo accumbens donde se encargan de actividades como la modulación del movimiento voluntario, memoria y plasticidad sináptica. (Pan et al., 2019).

La disfunción colinérgica se ha reportado como la primera y más extensiva, puesto que, la acetilcolina disminuye hasta en un 95%, mientras que, los otros neurotransmisores tienen una menor disminución comparada con ésta, sin embargo, siguen teniendo una gran relevancia debido a los efectos de la pérdida de sus neuronas (Hampel et al., 2019; Manzano Palomo et al., 2006).

## **1.7 Importancia del sistema colinérgico en la enfermedad de Alzheimer**

### **1.7.1 Acetilcolina y su relevancia en la enfermedad de Alzheimer**

El sistema colinérgico tiene un papel fundamental en procesos de atención, aprendizaje, memoria, sueño y respuesta al estrés (H. Ferreira-Vieira et al., 2016), dichos procesos se encuentran deteriorados en pacientes con EA debido a la disfunción del neurotransmisor de acetilcolina (ACh) el cual juega un papel clave en la neuropatología de la EA no solo en etapas tardías sino desde etapas tempranas (Hampel et al., 2018).

Podría ser el sistema neurotransmisor neuromodulador más importante del cerebro, la ACh se distribuye en una variedad de estructuras, y se sintetiza en cuatro núcleos ubicados en el cerebro basal anterior: a) el núcleo septal medial que se proyecta hacia el hipocampo; b) el dominio vertical de la banda diagonal, proyectándose también al hipocampo; c) el dominio horizontal de la banda diagonal, que se proyecta hacia el bulbo olfatorio; y, d) el núcleo basal de Meynert (NBM), que se proyecta hacia la corteza cerebral y la amígdala. Además, la ACh se produce en la porción rostral del tronco encefálico en los núcleos pedúnculo-pontino y tegmental dorsal lateral, que se proyecta hacia el tálamo. Finalmente, al núcleo interpeduncular y amígdala basolateral; y estriado, proyectándose a la corteza frontal (Manzano Palomo et al., 2006; Mesulam, 1995).

Una de las características principales es la pérdida de neuronas colinérgicas en el NBM que produce falla en la transmisión colinérgica cortical debido a la deficiencia de la ACh. Se ha comprobado que el número de receptores postsinápticos colinérgicos es normal o moderadamente disminuido mientras que los receptores presinápticos presentan una reducción significativa (Manzano Palomo et al., 2006) es debido a estas alteraciones que existe un daño en la transmisión sináptica y

clínicamente se presenta con el deterioro de memoria, aprendizaje y atención desde etapas tempranas de la EA (Hampel et al., 2018).

En los estudios que se han realizado en pacientes donde evalúan el diagnóstico, se ha observado que la lesión del sistema colinérgico se presenta desde la etapa asintomática o prodromal de la EA y por consiguiente se presenta un daño en el transporte de información a la corteza (Hampel et al., 2018). La denervación cortical ocasionada por la degeneración de las neuronas colinérgicas en el NBM se puede manifestar con síntomas como agitación, psicosis, depresión, ansiedad, desórdenes del sueño, entre otros (Orta-Salazar et al., 2014).

e

### 1.7.2 Síntesis de Acetilcolina (ACh)

La síntesis de ACh se lleva a cabo en el citoplasma y en terminales presinápticas a partir de la combinación de sustrato de colina y acetil coenzima A (Ac CoA) y gracias a la acción de la enzima colina acetiltransferasa (ChAT) resultará la producción de ACh en la vesícula de la neurona presináptica (fig. 3), luego de su formación el transportador vesicular de acetilcolina (VAChT) la conduce y libera en el espacio sináptico para que se una al receptor en la neurona postsináptica y se lleve a cabo la sinapsis (Hampel et al., 2018; H. Ferreira-Vieira et al., 2016). Cuando existe un exceso del neurotransmisor, éste es degradado en colina y acetato por la enzima acetil colinesterasa (AChE) para su recaptación en la vesícula presináptica e iniciar nuevamente el proceso de biosíntesis de ACh (Hampel et al., 2018).

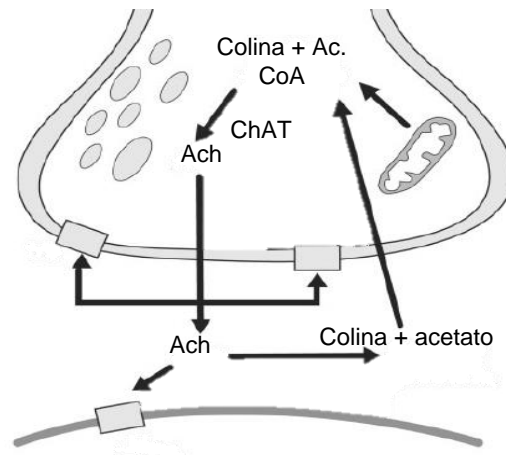


Figura 3. Síntesis de acetilcolina. Imagen modificada de (Hampel et al., 2018)

### **1.7.3 La hipótesis colinérgica en la enfermedad de Alzheimer**

En 1976 Peter Davies y A.J.F.Maloney estudiaron la actividad de las enzimas involucradas en la síntesis de neurotransmisores en distintas regiones de cerebros sanos y cerebros con la EA postmortem. Ellos encontraron disminución en la actividad de la enzima ChAT en corteza e hipocampo de los cerebros con la EA (Liu et al., 2019). Debido a éste resultado fue propuesta la hipótesis colinérgica que se basa en la reducción de los marcadores (receptor nicotínico postsináptico  $\alpha 7$  y el receptor muscarínico presináptico M2) en la corteza cerebral y degeneración de las neuronas colinérgicas del NBM que es la principal fuente de inervación colinérgica a la corteza, por lo que tiene un papel esencial en la función cognitiva asociado a el daño progresivo en este sistema de neurotransmisión (Breijyeh & Karaman, 2020; Liu et al., 2019).

### **1.7.4 Disfunción motora y acetilcolina**

Aunque la disfunción sensorio motriz clínicamente se observa en las últimas etapas de la enfermedad, se encuentra presente desde el inicio y progresivamente empeora a la par de la disfunción cognitiva, más no a la misma intensidad (Albers et al., 2015). Existe afectación en la fuerza, el equilibrio, la coordinación, movilidad y flexibilidad, lo cual repercute en la postura y en alteraciones de la marcha, donde los parámetros como la longitud de zancada, longitud de paso y ancho de paso generalmente se encuentran disminuidos lo cual incrementa el riesgo de caídas que a su vez termina complicando la movilidad e independencia del sujeto (Garvock-de Montbrun et al., 2019; Zidan et al. 2012). Aunque existe una variación entre la marcha de los roedores por ser cuadrúpedos respecto a la marcha bípeda de los humanos, los conceptos básicos para el análisis son análogos (Lakes & Allen, 2016). A través del ejercicio físico se puede prevenir o mejorar los patrones de marcha anormal que están correlacionados con las alteraciones en el sistema nervioso (Klapdor et al., 1997).

Respecto a esto, existe la hipótesis que en la EA existe una pérdida del control motor que podría deberse a la acumulación de las lesiones características de la enfermedad, como los depósitos de  $\beta A$  y los ovillos neurofibrilares en la corteza motora primaria, el cuerpo estriado y la sustancia nigra, regiones cerebrales que influyen en la función motora y dicha acumulación contribuiría a la degeneración de neuronas motoras (Albers et al., 2015; Garvock-de Montbrun et al., 2019).

Las alteraciones en los circuitos corticales pueden, por tanto, analizarse en un contexto morfológico y neuroquímico y relacionarse con la sintomatología clínica. Algunos estudios indican un papel esencial del sistema colinérgico asociado con el aprendizaje motor especializado, ya que podría regular la plasticidad de la corteza motora (Conner et al 2010), estos, se relacionan con el rendimiento de la marcha, mientras que las tareas simples y duales indican que los marcadores colinérgicos presinápticos están reducidos en el hipocampo y la corteza cerebral en la EA. En los estadios leves y avanzados de la patología, el número de neuronas colinérgicas en la corteza cerebral se ha encontrado consistentemente en el cerebro basal anterior (Geula et al., 2008;

Ikonomovic et al., 2011; Mufson et al., 2003), acompañado de disminuciones en la enzima colina acetiltransferasa (ChAT) (Lehericy et al., 1993; Wilcock et al., 1982).

## 2.0 Modelos animales para el estudio de la EA (modelo 3xTg-AD)

Los modelos experimentales utilizan principalmente animales como la rata y el ratón debido a su similitud a la fisiología humana, son una herramienta que permite comprender la neuropatología de la EA y evaluar el efecto de pruebas preclínicas para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas y responder las interrogantes que no podrían estudiarse en pacientes humanos (Zhao, 2017).

Anteriormente no se contaba con un modelo transgénico que presentara las características neuropatológicas de la EA, lo cual representaba una problemática pues se veía limitado el estudio de la patología y sus posibles tratamientos, así pues, en 1995 se registró la creación del primer ratón transgénico con carga sustancial de placa amiloide, la mutación APP V717F (Indiana) y desde entonces ha existido un incremento en la creación de modelos transgénicos (Games et al., 1995; Zhao, 2017), sin embargo, los modelos desarrollados no presentaban todas las lesiones patológicas características de la enfermedad, para ello era necesario realizar un proceso más laborioso e invasivo como introducir múltiples transgenes en el ratón (Oddo et al., 2003).

Así pues, en el 2003, fue creado el modelo triple transgénico (3xTg-AD) en el laboratorio del Dr. Laferla en la Universidad de Irvine California por Salvatore Oddo y colaboradores, los cuales microinyectaron simultáneamente en embriones unicelulares “Knock in” de fondo genético PS1<sub>M146V</sub>, los transgenes humanos APP<sub>Swe</sub> y Tau<sub>P301L</sub>. Posteriormente se reimplantaron las células embrionarias en madres adoptivas y la descendencia resultante fue identificada como el modelo 3xTg-AD. De esta manera se evitó la cruce de tres líneas independientes y solo se introdujeron dos transgenes en la línea original del ratón genéticamente modificado. Es el primer modelo multitransgénico en desarrollar las placas de  $\beta$  y ovillos neurofibrilares (Oddo et al., 2003). Fig. 4

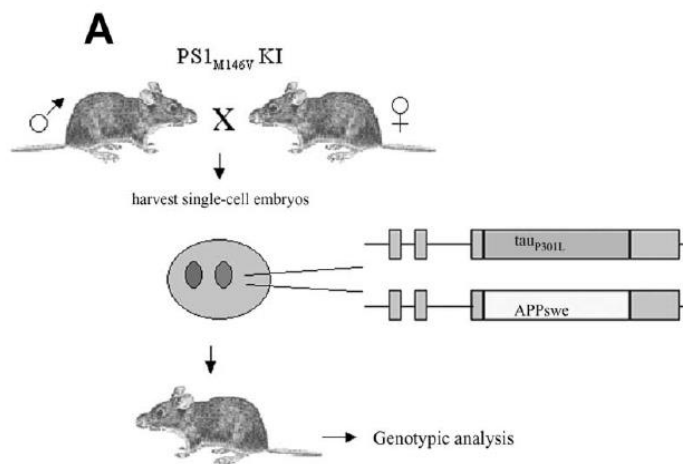


Figura 4. Imagen que ejemplifica el proceso de creación del modelo 3xTg-AD (Oddo et al., 2003).

## 2.1 Etapas y cambios en el modelo 3xTg-AD

Es importante conocer la neuropatología presente en cada modelo (Zhao, 2017) debido a ello, los creadores del 3xTg-AD estudiaron el momento preciso de la aparición de las características patológicas, reportando la primera manifestación neuropatológica a la edad de 3-4 meses. En el 3xTg-AD se desarrolla de manera progresiva la patología con la presencia de  $\beta$ A y la proteína tau hiperfosforilada dependiente de la edad (tabla 1), sin embargo, el momento y lugar de aparición no es el mismo, primero se desarrollan los depósitos de  $\beta$ A en corteza y posteriormente la patología tau en hipocampo lo cual coincide con la hipótesis de la cascada amiloide (Oddo et al., 2003). Respecto al sistema colinérgico de este modelo se sabe que las alteraciones también son dependientes de la edad y el sexo es un factor importante y el afectando al núcleo basal de Meynert (NBM) es el que principalmente se ve afectado (Orta-Salazar et al., 2014).

En la siguiente tabla se resumen los cambios observados

<b>Cambios observados en el modelo 3xTg-AD</b>	
4 meses	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inicia el daño cognitivo relacionado con la acumulación intraneuronal del péptido <math>\beta</math>A en regiones neocorticales como hipocampo y la amígdala.</li> </ul>
6-8 meses	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A los 6 meses, son visibles los depósitos de <math>\beta</math>A en la corteza frontal en las capas 4 y 5 de manera predominante.</li> <li>• Inmunoreactividad intraneuronal <math>\beta</math>A evidente en neuronas piramidales en región CA1 del hipocampo.</li> <li>• Afectación de la transmisión sináptica.</li> <li>• Disminución de potenciación a largo plazo (LTP).</li> <li>• A los 7 meses, incrementan astrocitos inmunoreactivos a la proteína fibrilar ácida glial (GFAP) y microglia inmunoreactiva a Iba-1.</li> </ul>
8-10 meses	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Exacerbación de depósitos de <math>\beta</math>A observados en región cortical.</li> <li>• Desarrollo de gliosis.</li> </ul>
12 meses	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Son evidentes los ovillos neurofibrilares en las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo y progresivamente en estructuras corticales.</li> <li>• Los depósitos de <math>\beta</math>A ya son fácilmente visibles en el hipocampo y otras regiones corticales.</li> </ul>
12-14 meses	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Las características fisiopatológicas ya están completamente establecidas y avanzan aún más.</li> </ul>
18 meses	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ovillos neurofibrilares presentes tanto en hipocampo como en corteza.</li> </ul>

Tabla 1. Cambios observados en el modelo 3xTg-AD (Oddo et al., 2003; Alzforum., 2018)

## **2.2 Dimorfismo sexual en el modelo 3xTg-AD**

Se han realizado estudios en modelos animales en los que se ha analizado la diferencia neuropatológica en la EA con respecto al sexo, Carroll et al en el 2010 encontraron una acumulación de  $\beta$ A mayor en la corteza frontal y, déficit cognitivo más pronunciado de los ratones hembra 3xTg-AD de 6-8 meses en comparación con los machos de la misma edad y modelo (Yang et al., 2018a).

Por su parte, en el 2018 el creador del modelo 3xTg-AD, Oddo y Belfiore evaluaron las características patológicas de la EA en ratones hembra a distintas edades, encontrando a los 6 meses placas de  $\beta$ A y tau hiperfosforilada en regiones del hipocampo que avanza con la edad a otras zonas como la corteza donde es claramente visible a los 12 meses. El proceso de neuroinflamación y declive cognitivo también se pueden observar a los 6 meses en el modelo, lo cual, coincide con todos los cambios neuropatológicos que se desarrollan en ese momento y van avanzando a medida que envejece (Belfiore et al., 2019).

Yang (2018b), investiga las diferencias neuropatológicas y cognitivas en función del sexo en ratones 3xTg-AD de 12 meses, donde afirma que los ratones hembra presentan mayor carga de placas de  $\beta$ A, agregación de ovillos neurofibrilares, neuroinflamación en hipocampo y comportamiento cognitivo más afectado respecto a los ratones macho, atribuyéndolo al daño en la vía de señalización PKA-CREB-MAPK que resulta en una deficiencia de estrógenos, los cuales tienen un papel neuroprotector en desórdenes neurodegenerativos.

## **3.0 Tratamientos en la enfermedad de Alzheimer**

A pesar de ser una enfermedad incurable, hasta el momento, se cuenta con diferentes intervenciones que tienen por objetivo disminuir la sintomatología de los pacientes, no obstante, ninguno de éstos puede detener el curso de la enfermedad. Una de estas estrategias es el tratamiento farmacológico, donde se encuentran dos grupos de medicamentos: los inhibidores de acetilcolinesterasa y los antagonistas de N-Metil D-aspartato (NMDA), estos medicamentos mejoran los síntomas cognitivos, sin embargo, sus efectos son de duración limitada y varían entre cada persona (Breijyeh & Karaman, 2020).

Por otro lado, se encuentran las terapias no farmacológicas que son aquellas que no involucran la administración de ningún tipo de medicamento. Ejemplos de éstas son el ejercicio físico, la estimulación cognitiva, musicoterapia y terapia ocupacional que se enfocan en mantener la función cognitiva, mejorar la calidad de vida del paciente y facilitar la realización de actividades diarias. Éste tipo de terapias han reportado ser eficaces en el tratamiento de los síntomas de comportamiento donde reducen la ansiedad, agitación, agresión, depresión, entre otros ("2020 Alzheimer's Disease Facts and Figures", 2020; Breijyeh & Karaman, 2020).

No existe un tratamiento ideal por sí solo, se necesita de un manejo activo que incluya a diferentes profesionales de la salud; el tratamiento multidisciplinario e individualizado ejercerá efectos benéficos que se verán reflejados en la calidad de vida.

### **3.1 Tratamiento farmacológico**

El tratamiento farmacológico cumple con la función de regulador de neurotransmisores por lo tanto puede aliviar los síntomas por un periodo de tiempo corto, pero no impedir o retrasar la progresión de la enfermedad por lo cual no tienen un efecto significativo. Además, el último fármaco aprobado por la Administración de medicamentos y alimentos de los Estados Unidos (FDA) fue en el año 2003, debido a ello los investigadores se han dado a la tarea de buscar diferentes alternativas terapéuticas que sean actuales y permitan influir en la progresión (Francis et al., 2020; Hampel et al., 2018; Liu et al., 2019).

Existen dos tipos de fármacos aprobados para utilizarse en la EA que se clasifican de acuerdo a su función, el primer grupo son los inhibidores de acetilcolinesterasa (AChEIs) que como el nombre lo dice bloquean la enzima colinesterasa (AChE) para evitar la degradación de ACh presente y mantener su actividad en las sinapsis colinérgicas. Algunos de los fármacos anticolinérgicos son donepezilo, rivastagmina y galantamina, entre otros (Hampel et al., 2018; Liu et al., 2019).

El segundo grupo son los antagonistas de N-Metil D-aspartato (NMDA) y su fármaco es la memantina. La sobreactivación de los NMDA conduce al incremento en niveles de  $Ca^{2+}$  que promueve la muerte celular y disfunción sináptica, los antagonistas previenen esta sobreactivación de los receptores de glutamataérgicos N-metil de aspartato (NMDAR) y restaura la actividad normal del  $Ca^{2+}$  (Breijyeh & Karaman, 2020).

La razón principal por la cual los pacientes abandonan el tratamiento farmacológico son las reacciones adversas que se presentan como las náuseas, vómito, anorexia, pérdida de peso, entre otros. Estos efectos se han reportado en la administración oral de Rivastagmina. La tacrina fue el primer medicamento para el tratamiento de la EA en 1995, sin embargo, debido a su toxicidad hepática fue descontinuada (Breijyeh & Karaman, 2020; Liu et al., 2019).

### **3.2 Tratamiento no farmacológico (ejercicio físico)**

El ejercicio físico es un tratamiento no farmacológico que se ha utilizado ampliamente debido a sus beneficios por ello se considera importante conocer su definición, ya que, el ejercicio físico y la actividad física son términos que suelen utilizarse como si se refiriera a lo mismo y se debe tener claro tanto las características y objetivos que presentan cada uno.

El ejercicio físico es un esfuerzo corporal que involucra movimientos voluntarios donde se utilizan grandes grupos musculares que requieren un gasto de energía por encima del nivel de reposo. Es una actividad planeada, estructurada y repetitiva cuyo objetivo es mantener o mejorar el estado físico

del individuo. Mientras que la actividad física es cualquier movimiento que realizamos en la vida diaria o como recreación que también conlleva un gasto de energía (Mandolesi et al., 2018; Valenzuela et al., 2020).

Luego del ejercicio se produce un cambio en ciertas variables fisiológicas a lo que se conoce como respuesta al ejercicio, una variable fisiológica es aquella función corporal medible que cambie bajo ciertas circunstancias, como por ejemplo la frecuencia cardíaca que incrementa durante el ejercicio. Existen tres factores importantes a considerar para determinar la respuesta al ejercicio:

1. Modalidad de ejercicio: se refiere al tipo de actividad y son clasificadas de acuerdo al tipo de demanda de energía que puede ser aeróbica o anaeróbica o de acuerdo a la acción muscular como continúa y rítmica o de resistencia estática. Por ejemplo, la caminata, el ciclismo, natación, atletismo son actividades aeróbicas, rítmicas y continuas; mientras que el levantamiento de pesas y los saltos son de tipo anaeróbicos y/o de resistencia dinámica.
2. Intensidad del ejercicio: se define en términos de carga de trabajo, frecuencia cardíaca, consumo de oxígeno. Se puede realizar la prescripción del ejercicio de acuerdo con las siguientes intensidades:
  - Baja o ligera intensidad: menor o igual al 54% del máximo
  - Moderada: entre el 55-69% del máximo
  - Alta: entre el 70-89% del máximo
  - Muy alta: entre el 90-99% del máximo
  - Máxima: 100% del máximo
  - Supramáxima: más del 100% del máximo
3. Duración del ejercicio: Describe el tiempo por el cual se mantiene la acción muscular. En general entre menor sea la duración mayor será la intensidad y por el contrario entre mayor sea la duración menor será la intensidad, esto para poder mantenerse durante ese tiempo (de Sousa et al., 2021; Egziabher & Edwards, 2013; Mandolesi et al., 2018).

El ejercicio aeróbico utiliza grandes grupos musculares y se puede mantener por un tiempo. Ejemplos de esta modalidad son: bailar, correr, nadar, caminar, ciclismo, etc. Mientras que el ejercicio anaeróbico es una actividad intensa de corta duración, un ejemplo son los intervalos de entrenamiento de corta intensidad (HIIT) y levantamiento de pesas, entre otros (Bull et al., 2020)

Por su parte, en estudios con modelos animales es más común utilizar el término actividad motora o ejercicio motor en lugar de ejercicio físico, los modelos más utilizados para llevar a cabo ejercicio son las ruedas de entrenamiento o a través de actividades de análisis locomotor. Se ha observado un cambio en sistemas de neurotransmisores como serotonina, noradrenalina y acetilcolina, así



como mejoría en funciones cognitivas posterior a la actividad motora en roedores (Mandolesi et al., 2018).

Según diversos autores, luego del diagnóstico de la EA, se tiene una esperanza de vida de 3 a 9 años e incluso algunos más específicos refieren 8 años como el tiempo promedio (de Sousa et al., 2021) que dependerá de diversos factores, entre ellos el estilo de vida (Jia et al., 2019). Se considera al ejercicio físico un componente de una vida saludable y una alternativa terapéutica no farmacológica segura y de bajo costo (Agüera Sánchez et al., 2020). Incluso, se ha reportado que se puede disminuir el riesgo de presentar la EA asociado al envejecimiento con la práctica regular de ejercicio físico, mientras que el sedentarismo o niveles bajos de ejercicio físico incrementa el riesgo de presentar enfermedades cardiovasculares favoreciendo a su vez el desarrollo de EA (Gronek et al., 2019; Mahalakshmi et al., 2020).

El ejercicio como una herramienta terapéutica no farmacológica ha sido ampliamente apoyada por sus efectos benéficos en los diferentes sistemas corporales como el sistema respiratorio, cardiovascular y cerebrovascular (di Liegro et al., 2019). La evidencia en estudios realizados en pacientes y modelos animales muestran que reduce el impacto negativo del envejecimiento en el declive de la función cognitiva, así como un efecto positivo en el inicio y progresión de enfermedades neurodegenerativas como la EA.

Se ha considerado como un tratamiento que se caracteriza por ser seguro pues los efectos secundarios suelen ser nulos, es eficaz y de bajo costo (Agüera Sánchez et al., 2020; Jia et al., 2019; Kim et al., 2019; Mahalakshmi et al., 2020). Sin embargo, a pesar que se ha demostrado su eficacia, no se ha concretado el mecanismo por el cual se desencadenan los efectos positivos y es por ello que actualmente sigue generando controversia (Kim et al., 2019).

El ejercicio desencadena los siguientes efectos en el funcionamiento cerebral:

1. Promueve la neuroplasticidad a través de la neurogénesis en hipocampo y neocortex, angiogénesis y sinaptogénesis.
2. Incrementa la señalización de factores neurotróficos como BDNF, NGF, IGF-1, GDNF facilitando su liberación.
3. Importante en la modulación de sistemas de neurotransmisores como serotonina, noradrenalina y acetilcolina.
4. Aumenta el flujo sanguíneo del cerebro al hipocampo.
5. Disminuye la neuroinflamación.
6. Estimula la biogénesis mitocondrial

(Mahalakshmi et al., 2020; Mandolesi et al., 2018)

Se han propuesto dos teorías que explicarían el mecanismo por el cual el ejercicio realiza los efectos ya mencionados. Una de ellas es a consecuencia de la estimulación de la biogénesis de la mitocondria y la regulación positiva de la autofagia se reduce el estrés oxidativo crónico. El segundo mecanismo es por la señalización de neurotrofinas y factores de crecimiento (di Liegro et al., 2019; Mahalakshmi et al., 2020).

Los factores neurotróficos están involucrados en procesos de neurogénesis, neuroplasticidad y neuroprotectores al evitar factores estresantes (tabla 2). El ejercicio estimula la señalización de los siguientes factores neurotróficos:

Factores	Función
Neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés)	Implicado en mecanismos de neurogénesis y neuroplasticidad.
Crecimiento nervioso (NGF, por sus siglas en inglés)	Actúa como neuroprotector contra el estrés químico, influye en proliferación y crecimiento neuronal.
Neurotrófico derivado de la glia (GDNF, por sus siglas en inglés)	Importante en el desarrollo y mantenimiento de neuronas dopaminérgicas principalmente.
Crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1, por sus siglas en inglés)	Implicado en la neurogénesis, proliferación y supervivencia neuronal.

Tabla 2. Factores neurotróficos y su función (Campos et al., 2016; Gronek et al., 2019)

### 3.2.1 Ejercicio físico voluntario

Para analizar los efectos que tiene el ejercicio físico en el transcurso de la EA, se ha utilizado como intervención el ejercicio físico voluntario y el ejercicio físico forzado en diferentes modelos animales que presentan las características histopatológicas de la enfermedad (García-Mesa et al., 2015). La modalidad del ejercicio, ya sea forzado o voluntario, tendrá distintos efectos a nivel cerebral y en el comportamiento (Cho et al., 2015), por ello es importante conocerlos y discernir cual es el más oportuno.

En el ejercicio físico forzado, existen parámetros ya establecidos como el tiempo e intensidad a la que debe de correr el ratón, es por ello que se utilizan estímulos como ligeros choques eléctricos en la cinta de correr para obligarlos a realizar la actividad durante el tiempo establecido. Los estímulos utilizados y la presión de una intensidad constante es lo que pudiera desencadenar el estrés psicológico en el modelo de estudio. En los roedores se ha comprobado que el ejercicio forzado incrementa los biomarcadores de respuesta al estrés y esto a su vez exagera y acelera los síntomas de la enfermedad (Yuede et al., 2018). Puesto que, las hormonas del estrés tienen un papel importante en la producción y degradación de  $\beta$ A y en la taupatía, por ende, se ve influenciado el proceso de patogénesis de la EA (Baglietto-Vargas et al., 2015).

Ante la presencia de estrés agudo, se activa el sistema nervioso simpático y el eje hipotalámico-pituitario-adrenal que favorecen la liberación de glucocorticoides y catecolaminas, las cuales inician la respuesta neuroendocrina donde los lípidos y glucosa son movilizados para satisfacer la demanda física y cognitiva. Cuando el estrés se vuelve crónico, la demanda metabólica y la activación prolongada del sistema ocasionan disfunciones metabólicas, cardiovasculares y además desórdenes psicológicos y cognitivos (Yuede et al., 2018).

La corticosterona, es la hormona que se expresa en los roedores como respuesta al estrés crónico y que puede causar pérdida de peso, entre otros cambios (Baglietto-Vargas et al., 2015; Ke et al., 2011). Otra alteración que ocurre debido a la presencia de esta hormona, es la disminución del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en el hipocampo donde influye en mecanismos de neuroplasticidad y cognición (Ke et al., 2011; Yuede et al., 2018).

Mientras que, en los pacientes con la EA, el cortisol es la hormona liberada como respuesta al estrés y se han encontrado niveles altos en líquido cefalorraquídeo y plasma, así como la disfunción del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (Baglietto-Vargas et al., 2015).

Debido a ello, se han adaptado las ruedas de ejercicio físico voluntario en los roedores como un modelo que puede eliminar el componente de estrés (Ke et al., 2011) y, por ende, evitar que se desencadenen los efectos indeseables que contribuyen a la patogenia de la enfermedad. En esta modalidad, a diferencia del ejercicio forzado, no se cuenta con una intensidad o duración específica,

que es el componente que puede ocasionar el estrés psicológico. Los roedores se encuentran alojados en una caja conectada a la rueda de ejercicio y ellos deciden el momento y el tiempo que quieren realizar ejercicio de manera voluntaria sin la presión de parámetros determinados por el experimentador (fig. 5). En cuanto a los estudios con intervención de ejercicio físico voluntario en pacientes, se ha reportado el beneficio en la funcionalidad e independencia, así como, la función cognitiva (Lu et al., 2020).

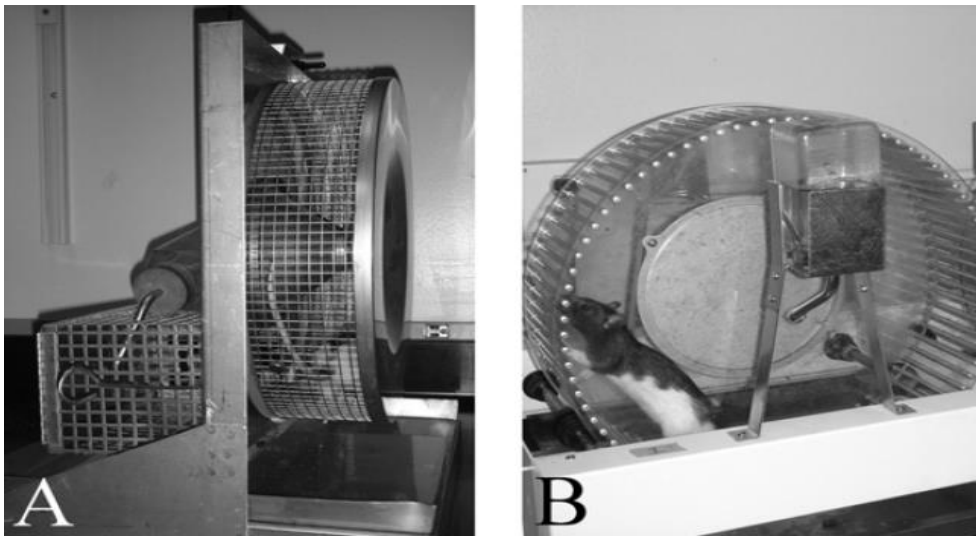


Figura 5. A) rueda utilizada en el ejercicio físico voluntario y B) rueda de ejercicio físico forzado. Imagen tomada de Leasure & Jones (2008).

### 3.2.2 Intervenciones de ejercicio físico en el modelo 3xTg-AD para la enfermedad de Alzheimer

Autor y año	Modelo	Características de la intervención	Resultados
Donghyun Kim, et al (2019)	3xTg-AD	Ejercicio aeróbico 5 días de la semana durante 40 minutos con variaciones de velocidad por 12 semanas en una cinta de correr.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución significativa en la carga de placas de <math>\beta</math>A y disminución de neuroinflamación en hipocampo y corteza.</li> <li>• Mejora cognitiva de memoria y aprendizaje espacial.</li> <li>• Se previno el daño inducido por EA en neurogénesis adulta.</li> </ul>
Cho Jinkyung, et al (2015)	3xTg-AD	Ejercicio aeróbico Con una frecuencia de 5 días a la semana. Tiempo de 30 min por sesión. Durante 12 semanas de intervención.	<p>A los 7 meses:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mejoría en memoria y aprendizaje espacial.</li> <li>• Disminución de tau fosforilada.</li> </ul> <p>A los 27 meses:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mejoría en memoria y aprendizaje espacial.</li> <li>• Disminución de carga de <math>\beta</math>A 40 y 42.</li> <li>• Disminución de tau fosforilada.</li> <li>• Aumento del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF).</li> </ul>

Haskins et al, (2016)	3xTg-AD	Ejercicio físico Frecuencia de 1 y 3 veces por semana. Intensidad de 8 m/min. Con una duración de 60 min cada sesión. Durante 12 semanas de intervención	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mejoría en las miokinas inflamatorias en sangre y citosinas corticales en el grupo que realizó ejercicio 3 veces a la semana.</li> <li>• No se observó esta mejoría en el grupo que realizó ejercicio 1 vez a la semana.</li> </ul>
García-Mesa Yoelvis (2016)	3xTg-AD	Ejercicio físico Con una frecuencia de 7 días a la semana. Tenían libre acceso a las ruedas durante 3 meses de intervención.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución de tau fosforilada.</li> <li>• Disminución de placas amiloides.</li> <li>• Disminución del estrés oxidativo.</li> <li>• Mejoría en memoria y aprendizaje espacial.</li> <li>• Se normalizaron los síntomas de comportamiento psicológico y demencial.</li> </ul>
Giménez-Llort Lydia (2010)	3xTg-AD	Ejercicio físico Con una frecuencia de 5 días a la semana. Tiempo de mínimo (15 min/día, 5 cm/s) a moderado (30 min/día, 7 cm/s) Durante 5 semanas de intervención.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución del péptido <math>\beta</math>A 42 en los ratones machos 3xTg-AD.</li> </ul>

Tabla 3. Evidencia de la intervención con ejercicio físico en el modelo 3xTg-AD y sus resultados obtenidos.

## 4.0 Planteamiento del problema

El envejecimiento es un factor de riesgo muy importante para desarrollar enfermedades neurodegenerativas como la demencia, siendo la más común la enfermedad de Alzheimer (EA). Se estima un crecimiento de la población adulta en México, puesto que en la encuesta realizada por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en el 2015 se reportaron más de 12 millones de adultos mayores a 60 años, mientras que las proyecciones indican que para el 2030 serán más de 20 millones (Academia Nacional de Medicina de México 2017; SEDESOL 2017). Además, en este grupo poblacional y gran parte de los mexicanos, se han identificado factores ambientales críticos como alimentación deficiente y falta de actividad física que contribuyen a padecimientos como diabetes y enfermedades cardiovasculares relacionadas con el desarrollo de la EA. Esto significaría una probabilidad mayor de padecimiento pues los factores de riesgo se exacerban cada día más.

En el 2015 el costo de atención a pacientes con demencias fue de 818 mil millones de dólares a nivel mundial (OMS 2020). El sistema de salud público de nuestro país no está preparado económicamente para un incremento de casos de la EA (Academia Nacional de Medicina de México 2017). Por ello es importante que los hospitales y centros de salud cuenten además del tratamiento farmacológico con estrategias como programas fisioterapéuticos donde se utiliza el ejercicio terapéutico solo o en conjunto a ejercicios cognitivos para la prevención y tratamiento de la EA.

## 5.0 Justificación

Existe una gran necesidad de estrategias terapéuticas que ayuden a coadyuvar los efectos de la EA como el daño cognitivo subsecuente a la afectación del sistema colinérgico, donde la transmisión de información a la corteza se encuentra deteriorada, reflejándose clínicamente en el detrimento de la memoria, aprendizaje y atención desde etapas tempranas de la EA (Hampel et al., 2018). La afectación de estos procesos, a la larga, compromete la parte motora y por ende la independencia y calidad de vida del paciente.

Debido a que la etiología de la enfermedad es multifactorial la terapia/tratamiento causal se desconoce, sin embargo, existen algunas que se han centrado en disminuir los síntomas y reducir la progresión del daño. Dentro de los tratamientos farmacológicos destacan dos tipos de medicamentos: los inhibidores de acetilcolinesterasa (AChEIs) (Tacrina, Donepezilo, Rivastagmina y Galantamina) y los antagonistas del N-metil-D-aspartato (receptor NMDA) (Memantina). En los últimos años se han desarrollado trabajos evaluando su uso y concluyendo que presentan efectos moderados (Liu et al., 2019).

Existen tratamientos no farmacológicos relacionados a estilos de vida saludable, dieta sana y ejercicio, el cual ha sido ampliamente apoyado su uso en la prevención y tratamiento de

enfermedades neurodegenerativas pues es eficaz, seguro y de bajo costo. Ha demostrado mejorar la función cognitiva en la EA al promover la neurogénesis, plasticidad cerebral, modular sistemas de neurotransmisión como la colinérgica y disminuir la producción de  $\beta$ A, entre otros (Alzheimer's association, 2020).

La importancia de este estudio con un modelo para estudiar la EA, es la oportunidad de evaluar sistemas de neurotransmisión como el colinérgico posterior al régimen de ejercicio y con ello el desarrollo de nuevas propuestas terapéuticas con características diferentes a lo establecido, como el componente voluntario que disminuye el estrés causado por el ejercicio forzado (Francis et al., 2020).

## **5.1 Pregunta de investigación**

¿Es efectivo el ejercicio físico voluntario en la preservación de neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert y núcleo del septum medial, así como en la disminución del deterioro cognitivo y motor en ratones hembra triple transgénico para la enfermedad tipo Alzheimer (3xTg-AD) en comparación con los diferentes grupos con tratamiento y sedentarios?

## **5.2 Hipótesis**

El ejercicio físico voluntario preservará las neuronas colinérgicas en el núcleo basal de Meynert y en el septum medial, además de retrasar el deterioro cognitivo y motor en ratones hembra triple transgénico para la enfermedad tipo Alzheimer (3xTg-AD).

### **Hipótesis nula**

El ejercicio físico voluntario no preservará las neuronas colinérgicas en el núcleo basal de Meynert y en el septum medial, además no retrasará el deterioro cognitivo y motor en ratones hembra triple transgénico para la enfermedad tipo Alzheimer (3xTg-AD).



## **5.3 Objetivo general**

Evaluar el efecto del ejercicio físico voluntario durante 8 semanas en el sistema colinérgico a nivel celular, motor y cognitivo en modelo de ratón hembra de 10-12 meses triple transgénico (3xTg-AD) para la enfermedad tipo Alzheimer.

### **5.3.1 Objetivos específicos**

- Analizar el efecto del ejercicio físico voluntario en la función cognitiva y motora a través de las pruebas conductuales en los diferentes grupos con tratamiento y sedentarios.
- Evaluar el efecto del ejercicio físico voluntario en las neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert (NBM) y núcleo del septum de los grupos con tratamiento y sedentarios.

## 6.0 Material y métodos

### 6.1 Animales de experimentación

Los animales que se utilizaron en el presente trabajo fueron obtenidos y alojados en el bioterio del Instituto de Neurobiología (INB) de la UNAM campus Juriquilla, Qro. En la colonia de ratones transgénicos en cajas habitación de policarbonato (12 x 12 x 25 cm), conectadas a aire lavado y mantenidos en cuartos con condiciones controladas de temperatura a 22°C y humedad ambiental relativa del 50% con un ciclo luz/oscuridad de 12/12 h, iniciándose a las 7:00 a.m. hasta que se utilizaron.

Aprobado por el comité de bioética del Instituto, cumpliendo con la Norma Oficial Mexicana para el manejo de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999). De igual manera, los experimentos se realizaron en conformidad con la guía para el cuidado y uso de los animales del laboratorio establecido por el *National Institute of Health (NIH)* y la *National Academy of Science*.

Es importante señalar que para llevar a cabo cada una de las etapas experimentales, fui previamente capacitada y supervisada por una investigadora experta en el manejo de la muestra y equipo que se utilizó para la presente investigación.

Para el presente estudio, se utilizaron ratones hembra 3xTg-AD de 10-12 meses de edad (n=10) y ratones no transgénicos del mismo sexo y edad (n=10). Se dividieron en 4 grupos: 2 con intervención de ejercicio y, 2 como sedentarios. Los cuales se alojaron en la colonia del bioterio del INB, mientras que los grupos de ejercicio en un cuarto de la unidad de análisis conductual con condiciones de temperatura de  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , ciclos de luz/ oscuridad 12:12 h con comida y agua *ad libitum* y fueron almacenados de 2 a 3 animales en cajas de policarbonato (12 x 12 x 25 cm). La muestra total se dividió en 4 grupos de la siguiente manera:

1. 3xTg-AD ejercicio n=5
2. 3xTg-AD sedentario n=5
3. No-Tg ejercicio n=5
4. No-Tg sedentario n=5

## 6.2 Características de la intervención de ejercicio físico voluntario

La intervención se llevó a cabo durante 2 meses u 8 semanas en donde realizaban ejercicio aeróbico voluntario los 5 días a la semana, durante 2 horas diariamente. En la unidad de análisis de conducta del INB se dispone de un equipo Panlab Harvard Apparatus que ayudó en el registro del ejercicio realizado, el cual se compone de: 5 cajas de policarbonato con medidas de 36x 20x 14cm que se comunican a través de un cilindro a ruedas de actividad de acero inoxidable modelo LE 905 con diámetro de 16cm conectadas al Multicounter LE3806 que permite almacenar el número de rotaciones de la rueda hechas por el animal cada 10 minutos y exporta los datos al ordenador mediante el programa SeDaCOM en un formato de Excel, esto para tener un mejor control del desempeño del ejercicio. Se colocó individualmente un ratón por caja para su movimiento libre y voluntario durante el tiempo de intervención, con agua y alimento *ad libitum* (fig 6). Una vez terminado su tiempo de ejercicio se limpiaban las cajas con alcohol al 10% e ingresaba el segundo grupo de ratones.

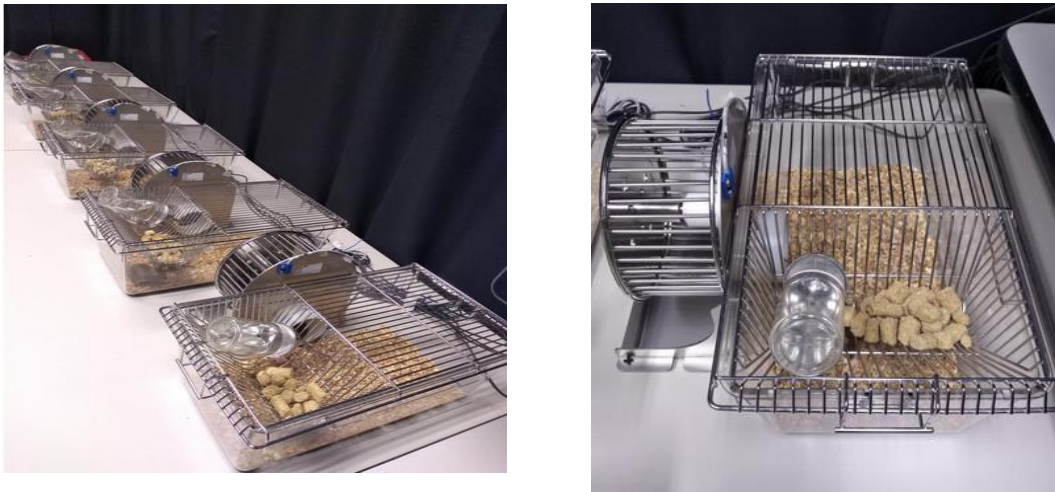


Figura 6. Ruedas de ejercicio voluntario de la Unidad de Análisis conductual del INB. Imágenes de fuente propia.

### **6.3 Pruebas conductuales**

Posterior a las 8 semanas de intervención, se llevó a cabo la evaluación cognitiva para evaluar memoria de trabajo y espacial, así como la de acaparamiento de comida para evaluar funciones ejecutivas, y por último una prueba de marcha espontánea para evaluar el estado motor.

#### **6.3.1 Análisis de funciones ejecutivas (acaparamiento de comida)**

Posterior a la intervención de ejercicio físico voluntario, se realizó una prueba de food hoarding que es una conducta innata del roedor, sensible a la detección de lesión en el hipocampo. Consiste en resguardar su alimento, transportándolo de una fuente externa a su caja (R. M. J. Deacon et al., 2002). Cuando existe una disfunción hipocampal se reflejará en la disminución de la conducta, esto podría ser similar al daño en las actividades de la vida diaria en los humanos (R. Deacon, 2012) donde son necesarios los procesos de memoria, aprendizaje y atención que se ven afectados a consecuencia de la degeneración de neuronas colinérgicas desde etapas tempranas de la EA (Hampel et al., 2018).

Para dicha tarea, se utilizaron cajas de plástico de policarbonato conectadas a un tubo externo de malla de alambre de 50 cm de largo que contenían 30 g de Froot Loops®. El procedimiento inicia por la mañana colocando un ratón por caja durante una hora para permitir la exploración y habituación mientras se encuentra bloqueada la entrada al tubo que contiene Froot Loops®. Durante este tiempo, no es recomendable que tengan comida puesto que puede alterar el resultado de la conducta. Posteriormente, se desbloquea la entrada las 12 horas que dura el ciclo y al finalizar se pesa la cantidad de cereal restante en el tubo para así realizar el cálculo de cuánto transportó (R. M. J. Deacon, 2007).

#### **6.3.2 Análisis de memoria de trabajo y espacial (laberinto en T)**

Esta tarea evalúa la memoria de trabajo y espacial así como alternación espontánea en los roedores, a través de un laberinto donde se les permite elegir entre uno de los dos brazos y evaluar si éste alterna al lado contrario que eligió, puesto que los ratones presentan una conducta natural de alternar un brazo elegido, a esto se le conoce como alternación refleja y muestra la motivación del animal de explorar su ambiente, localizar comida, agua o refugio, funciones que dependen de la integridad del hipocampo (Lalonde,2002).

Para dicha tarea se utilizó un laberinto de acrílico en forma de T con paredes transparentes y cerradas, donde se pueden distinguir tres regiones: brazo largo o de inicio y dos brazos cortos (derecho e izquierdo), las medidas del laberinto para ratón son de 40 cm de largo, 10 cm de ancho y 15 cm de alto. Alrededor se colocan claves extra laberínticas para la evaluación de memoria de tipo espacial.

Cada prueba se repite 3 veces al día durante 3 días continuos (9 por animal). Cada prueba se compone de dos fases: en la primera fase muestra se coloca al ratón en el brazo de inicio y se le permite elegir entre alguno de los brazos cortos, una vez dentro las 4 patas y la cola completa, se cierra la puerta tipo guillotina del brazo para que tenga la oportunidad de explorar durante 30 segundos. En la segunda fase de elección se coloca nuevamente al ratón en el brazo de inicio para que elija entre alguno de los brazos cortos. Al final de la prueba se analiza el porcentaje de alternación que presentó cada animal (R.M.J. Deacon & Rawlins, 2006).

Si el ratón no elige un brazo en ninguna de las dos fases de la tarea, se cuentan 60 segundos y se retira del laberinto y se coloca en su caja de habitación, este dato se cancela del análisis, se espera la siguiente ronda de pruebas, y se repite hasta completar 9 de forma individual. Los datos finales se obtienen calculando el porcentaje de alternación de las tareas completadas de cada ratón.

## **6.4 Prueba Motora**

### **6.4.1 Análisis de la marcha**

Para obtener las huellas, se colocó pintura acrílica no tóxica de color rojo en las patas delanteras y pintura azul en las patas traseras. Los animales se colocaron al inicio de un túnel (40 x 9 cm) que tenía papel blanco en el piso para una mejor vista de las huellas y se les permitió caminar en línea recta hasta el final donde fueron colocados nuevamente en su caja de almacenamiento. No se incluyó comida o algún tipo de recompensa que modificara el patrón de marcha durante la prueba. Se determinaron parámetros espaciotemporales como la longitud de zancada y ancho de paso.

## **6.5 Perfusión y conservación de tejidos**

Los animales fueron sacrificados una vez que se realizaron las pruebas conductuales, para ello se anestesiaron con pentobarbital sódico a una dosis de 15 mg/kg de peso corporal y los cerebros fueron fijados por perfusión intracardiaca. Se utilizó una solución amortiguadora de fosfatos (con un pH 7.4, y una concentración 0.1M), después de ese paso a la solución fijadora al 4% de paraformaldehído. Posteriormente, se extrajo el encéfalo completo por decapitación, se postfijó por inmersión en la misma solución fijadora, y se almacenan en refrigeración durante 24hrs, y se cambió a la solución por sacarosa al 30% para crioproteger antes de realizar los cortes sagitales en serie (50 µm de espesor) del tejido cerebral en el criostato Leica CM1510-1. Se continuó con la técnica de inmunohistoquímica para el análisis microscópico.

## **6.6 Pruebas inmunohistoquímicas**

Los tejidos se colocan en solución amortiguadora de fosfatos (PBS por sus siglas en inglés) que cuenta con un pH de 7.4 y concentración 0.1 M por 10 minutos en agitación, luego pasan por ácido fórmico durante 7 min., se realizan tres lavados con PBS 0.1M, 8 min c/u, se inactivan peroxidadas con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) durante 30 minutos en agitación, seguido de 3 lavados con PBS 0.1M, posteriormente se colocan en una mezcla de PBS y Tween 0.1% (solución detergente para permeabilizar el tejido) por 30 minutos en agitación. Con la misma mezcla se incuban los tejidos en el anticuerpo primario ChAT (AB144, concentración 1:500, Millipore). Se mantienen a 4°C en agitación durante 24 h.

En el segundo día, se sacan de refrigeración y se ponen en agitación hasta que estén a temperatura ambiente, se realizan lavados con PBS 0.1M, 8 min c/u en agitación para enseguida colocar el anticuerpo secundario (BA-5000, biotinilado, concentración 1:500, Invitrogen) donde permanecen los tejidos por 2 h en agitación a temperatura ambiente, se llevan a cabo los lavados con PBS 0.1 M, 8 min c/u en agitación, luego se dejan en agitación durante 1.5 h en solución avidina/biotina (A+B), se realizan lavados con PBS 0.1M, 8 min c/u en agitación, y finalmente se revela el tejido con diaminobencidina (DAB). Los tejidos se montaron sobre portaobjetos y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su deshidratación y montaje.

Para la deshidratación las laminillas se pasan por cuatro soluciones diferentes, alcohol al 90%, alcohol al 100%, xilol 1 y xilol 2 durante 10 minutos cada uno, se colocan unas gotas de entellan que actúa como un medio de montaje para microscopia y posteriormente el cubreobjetos, para la captura de imágenes en el microscopio.

## **6.7 Captura de imágenes en el microscopio**

Para la evaluación de los somas colinérgicos en el núcleo basal de Meynert y núcleo del septum medial se midió la presencia y número total de somas colinérgicos inmunorreactivos para ChAT, en una zona que abarca el punto lateral a Bregma -0.04 a 0.24 mm para el núcleo del septum medial, mientras que, para el núcleo basal de Meynert va de 1.44 a 2.40 mm lateral a Bregma el cual se consideró de acuerdo al atlas del cerebro del ratón (Franklin y Paxinos, 2008), con el empleo de un Microscopio NiKOn objetivo de 10X, en un área de 105 x 50 mm.

Microscopio fotónico (Nikon modelo CiL), con óptica apocromática en objetivos Plan 4x/0.10 para ubicación de las áreas y las imágenes tomadas con Plan 10x/0.25 la captura fue a través de la cámara.

## **6.8 Análisis de imágenes**

Se utilizó el software ImageJ Fiji con el cual se realizó el procesamiento y análisis de imágenes cuantificando las neuronas colinérgicas positivas tanto del núcleo basal de Meynert así como del septum medial.

## **6.9 Pruebas estadísticas**

Se utilizó el software GraphPad Prism 8 y R 3.6.3, para evaluar las diferencias entre los grupos con tratamiento de ejercicio físico voluntario y los sedentarios. Únicamente se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney en el rendimiento del ejercicio. Los demás resultados se sometieron al análisis de la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad con la prueba de Levene y posteriormente se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, así como, la prueba post hoc de Tukey. Los resultados se consideraron significativos cuando la  $p < 0.05$  para todas las pruebas.

Para el análisis de la inmunohistoquímica, se utilizó el modelo mixto lineal anidado usando "lmerTest" donde se consideraron 3 niveles: las células inmunopositivas a ChAT como el nivel 0, el nivel de corte del tejido como el 1 y el número de ratón el nivel 2. De igual manera, los resultados se encuentran expresados en promedio y  $P < 0.05$ .

## 7.0 Resultados

### 7.1 Rendimiento del ejercicio físico

Para evaluar el desempeño del ejercicio físico voluntario que tuvieron los ratones tanto no transgénicos (No tg) como transgénicos (3xTg-AD) se analizó el número de vueltas durante las 8 semanas de intervención. Se observó diferencia significativa en el desempeño del ejercicio físico en el grupo de ratones no tg (mediana=1500 vueltas) respecto al grupo 3xTg-AD (mediana=1248 vueltas),  $U=33.50$ ,  $P= <0.0001$  (Fig. 7).

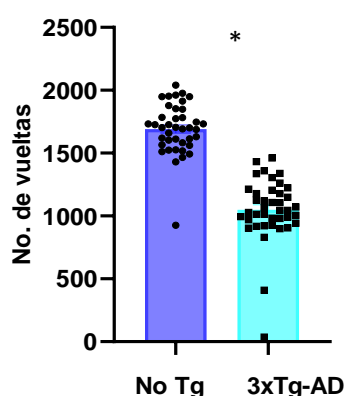


Figura 7. Gráfica que muestra el número de vueltas que realizó el grupo no transgénico (No Tg) y el grupo transgénico (3xTg-AD) durante el tiempo total de intervención. Los valores representan la media  $\pm$  SEM  
\* $p < 0.05$

### 7.2 Conducta de funciones ejecutivas

Para determinar si existe una relación entre el comportamiento y el mantenimiento de las células colinérgicas en la EA se evaluó la acumulación de alimento de la vida diaria específico de la especie. La cantidad promedio de Froot Loops® acumulado por los ratones triple transgénicos y no transgénicos con las condiciones de ejercicio físico voluntario y sedentarios. Se obtuvo lo siguiente: gen ( $F(1,12)=0.91$ ,  $P=0.35$ ), tratamiento ( $F(1,12)=0.52$ ,  $P=0.48$ ), interacción gen: tratamiento ( $F(1,12)=2.85$ ,  $P=0.11$ ) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. El grupo 3xTg-AD que llevó a cabo ejercicio, transportó en promedio  $9.8 \pm 6.8$  g mientras que, los sedentarios  $2.8 \pm 3.8$  g, teniendo una diferencia de 7 gr que se puede observar en la gráfica, sin embargo, no fue estadísticamente significativo. Por otro lado, el grupo No-Tg de ejercicio, acarreó  $3.8 \pm 3.1$  g y su grupo sedentario un total de  $16.8 \pm 11.9$  g siendo un resultado controversial (Fig. 8).



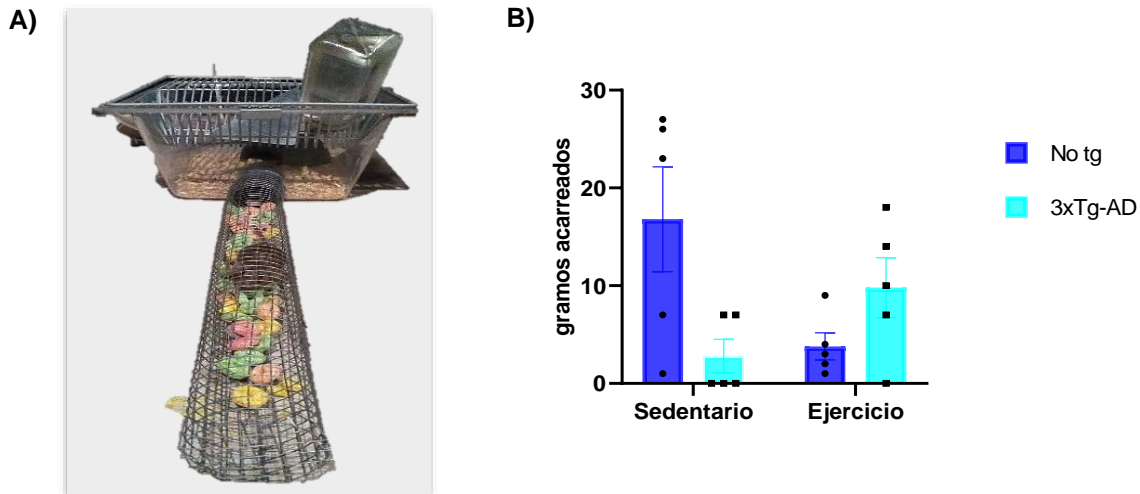


Figura 8. A) Imagen del ratón en la prueba del acaparamiento de comida B) Gráfica que representa el peso promedio en gramos  $\pm$  error estándar de la media (SEM) de Froot Loops® acumulado. Comparación entre grupos de ratones no transgénicos (No tg) y transgénicos (3xTg-AD) sedentarios y con ejercicio físico voluntario.

### 7.3 Tarea de memoria de trabajo y espacial

Para evaluar la memoria de trabajo y espacial a través de la alternancia espontánea se realizó la tarea conductual del laberinto en T.

Se encontró diferencia significativa en el factor tratamiento (intervención con ejercicio físico) ( $F(1,16) = 6.415, P=0.02$ ), sin embargo en el factor del gen ( $F(1,16) = 1.900, P=0.18$ ) y la interacción gen: tratamiento ( $F(1,16) = 1.329, P=0.26$ ) no se observaron diferencias significativas. Se aplicó la prueba post hoc de Tukey donde no se observaron diferencias significativas. El grupo 3xTg-AD que realizó ejercicio físico tuvo una alternancia promedio de  $71.1 \pm 14.9\%$ , mientras que, el sedentario fue de  $35.5 \pm 14.4\%$ . Por su lado, el grupo No-Tg con intervención de ejercicio tuvo un  $73.3 \pm 21.6\%$  de alternancia, mientras que, los sedentarios presentaron un  $59.9 \pm 32.9\%$ . Así pues, se puede observar que los grupos que realizaron ejercicio físico tuvieron mejor desempeño (Fig. 9).

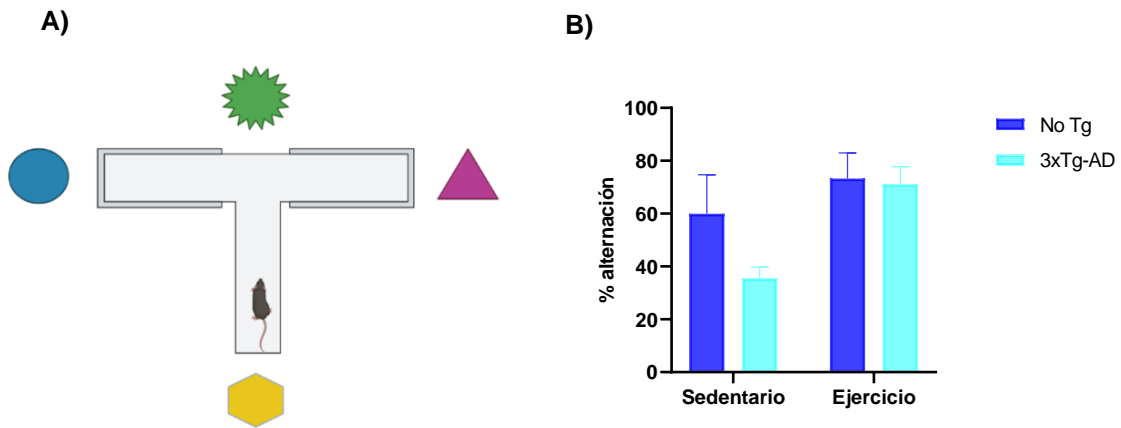


Figura 9. A) Imagen representativa del laberinto y claves espaciales B) Gráfica que muestra el porcentaje de alternación espontánea. Comparación entre los grupos 3xTg-AD y no transgénicos, sedentarios y con ejercicio físico voluntario. Las gráficas muestran el promedio  $\pm$  error estándar de la media por grupo con una significancia (\*P <0.05) de alternación en todos los grupos

## 7.4 Evaluación motora

Se llevó a cabo el análisis de la marcha de los roedores el cual consiste en identificar las huellas de las extremidades delanteras y traseras para medir en centímetros la longitud de zancada y el ancho de paso, obteniendo los siguientes resultados. En el análisis estadístico de la longitud de zancada: el factor tratamiento ( $F(1,16)=3.2$ ,  $P= 0.08$ ), gen ( $F(1,16)=1.08$ ,  $P= 0.3$ ) y la interacción gen: tratamiento ( $F(1,16)=0.7$ ,  $P= 0.4$ ). El grupo 3xTg-AD de ejercicio tuvo un promedio de  $5.8 \pm 0.7$  cm y los sedentarios  $6.2 \pm 1.2$  cm. En cuanto a los no transgénicos, los del grupo de ejercicio presentaron una longitud de zancada de  $5.8 \pm 0.9$  cm y los sedentarios con  $6.9 \pm 0.5$  cm (Fig. 10 A y C).

Por su lado, en el análisis del ancho de paso se encontraron los siguientes valores: factor tratamiento ( $F(1,16)=3.07$ ,  $P= 0.09$ ), gen ( $F(1,16)=1.85$ ,  $P= 0.19$ ) y la interacción gen: tratamiento ( $F(1,16)=0.3$ ,  $P= 0.5$ ). El promedio del ancho de paso del grupo 3xTg-AD que realizó ejercicio fue de  $1.9 \pm 0.1$  cm mientras los sedentarios  $1.6 \pm 0.2$  cm. A su vez, el grupo no transgénico de ejercicio presentó un ancho de paso de  $1.72 \pm 0.3$  cm en promedio y los sedentarios  $1.6 \pm 0.1$  cm (Fig. 10 B y D).

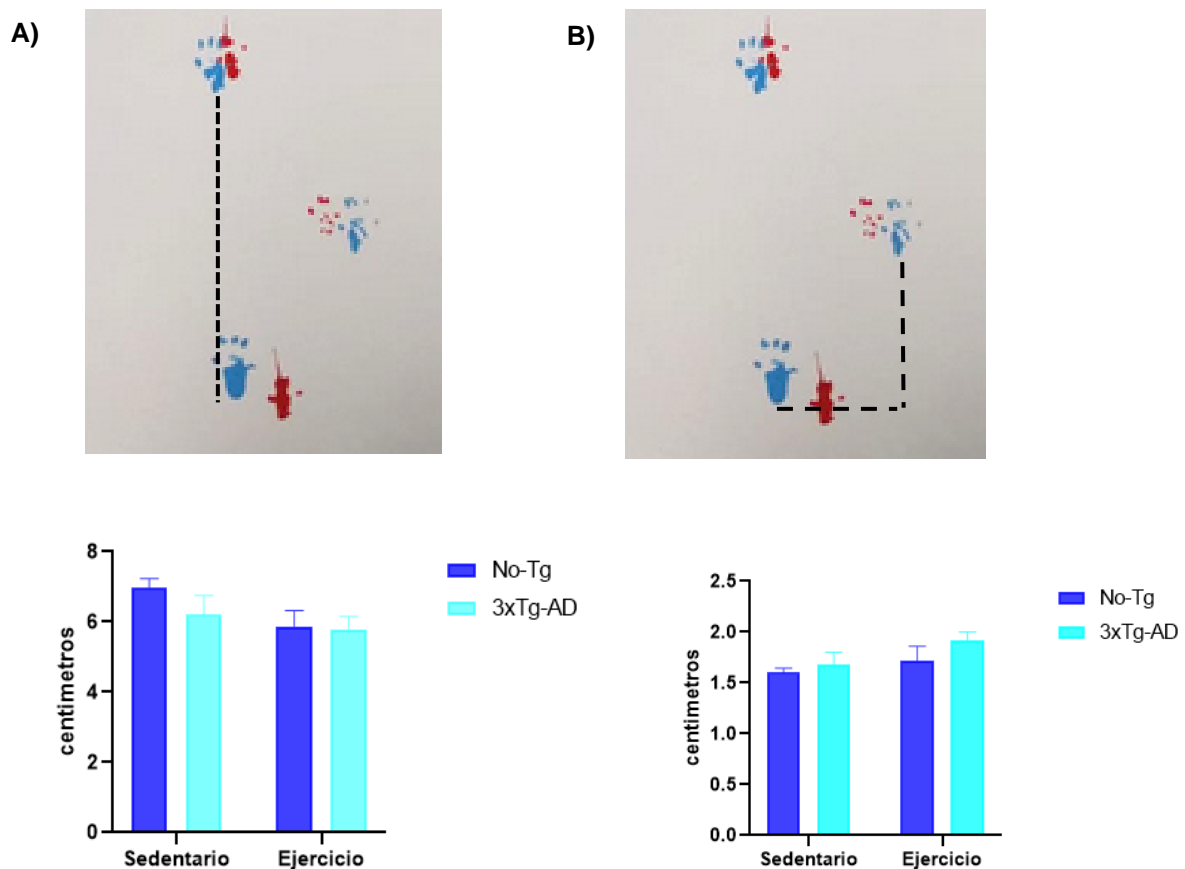


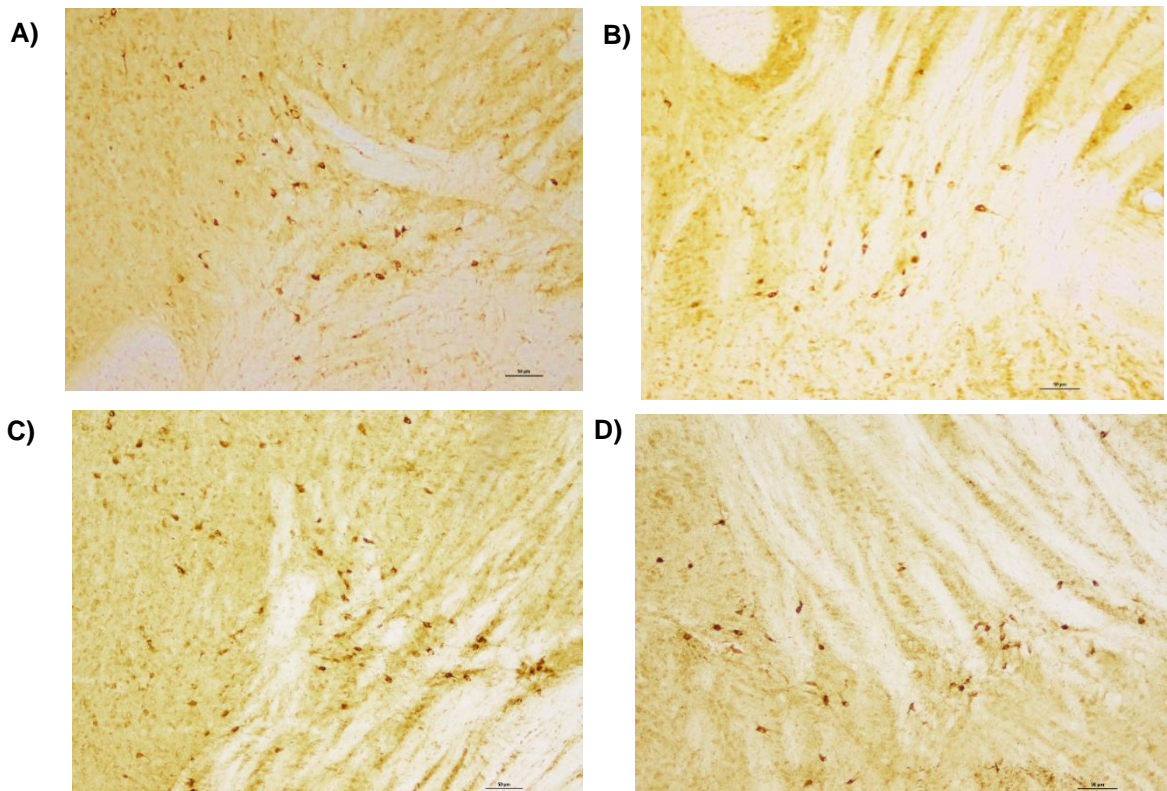
Figura 10. Gráficas con los parámetros de la evaluación motora. (A) longitud de zancada de cada grupo. (B) se muestra el ancho de paso de los diferentes grupos. Los valores representan la media  $\pm$  SEM.

## 7.5 Resultados inmunohistoquímicos

Para determinar si la intervención con ejercicio físico voluntario ayuda a conservar las células colinérgicas se evaluó por medio de inmunohistoquímica utilizando el anticuerpo de la colina acetiltransferasa (ChAT).

### 7.5.1 Células colinérgicas en el núcleo basal de Meynert

Se obtuvieron los siguientes resultados: gen ( $F(1,98)=1.51$ ,  $P=0.22$ ), tratamiento ( $F(1,98)=7.18$ ,  $P=0.008^{**}$ ), interacción genotipo: tratamiento ( $F(1,103)=0.07$ ,  $P=0.79$ ). En la prueba post hoc Tukey se observó diferencia significativa entre el grupo 3xTg-AD que realizó ejercicio respecto del grupo No tg sedentario con un valor de  $P=0.03$ . En el grupo 3xTg-AD de ejercicio se contabilizó un promedio de  $368.49 \pm 118.6$  células/ $\text{mm}^2$  en el NBM, mientras en el grupo sedentario se presentó una menor cantidad con  $333.30 \pm 125.3$ . En cuanto al grupo no transgénico que llevó a cabo el ejercicio se presentó un promedio de  $370.48 \pm 108.2$  células/ $\text{mm}^2$  y los sedentarios  $316.94 \pm 99.8$ . Lo cual nos indica que en ambos grupos con intervención de ejercicio físico la densidad de células colinérgicas preservadas fue mayor (Fig. 11).



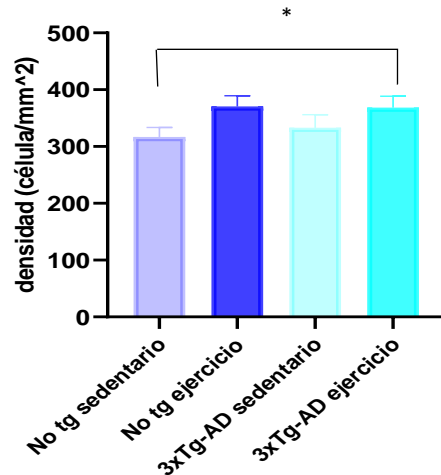


Figura 11. Imagen comparativa de la densidad de somas colinérgicas en el núcleo basal de Meynert de ratones 3xTg-AD y no tg con intervención de ejercicio y sedentarios, observados en el microscopio con un objetivo de 10x. A) NBM del ratón 3xTg-AD con tratamiento de ejercicio. B) NBM del ratón 3xTg-AD sedentario. C) NBM del ratón no tg con tratamiento de ejercicio y D) NBM del ratón no tg sedentario. E) Comparación del promedio de células inmunopositivas a ChAT en el NBM en cada uno de los grupos evaluados. Los valores representan la media  $\pm$  SEM \*P<0.05

### 7.5.2 Células colinérgicas en el núcleo del septum medial

El análisis estadístico arrojó los siguientes resultados en donde no se observaron diferencias significativas: genotipo ( $F(1,41)=0.24$ ,  $P=0.62$ ), tratamiento ( $F(1,41)=1.04$ ,  $P=0.31$ ), interacción genotipo: tratamiento ( $F(1,39)=2.94$ ,  $P=0.09$ ). El promedio de células colinérgicas por  $\text{mm}^2$  en el núcleo del septum medial en el grupo 3xTg-AD que realizó ejercicio fue de  $358.3 \pm 95.5$ , mientras en el grupo sedentario de  $296.86 \pm 26.3$ . Por su parte los no transgénicos con intervención de ejercicio tuvieron un promedio de  $306 \pm 103.7$  células/  $\text{mm}^2$  y los sedentarios  $329.7 \pm 92.8$ . Se puede inferir que en el grupo 3xTg-AD con intervención de ejercicio físico voluntario fue mayor la cantidad de neuronas respecto a los sedentarios (Fig. 12).

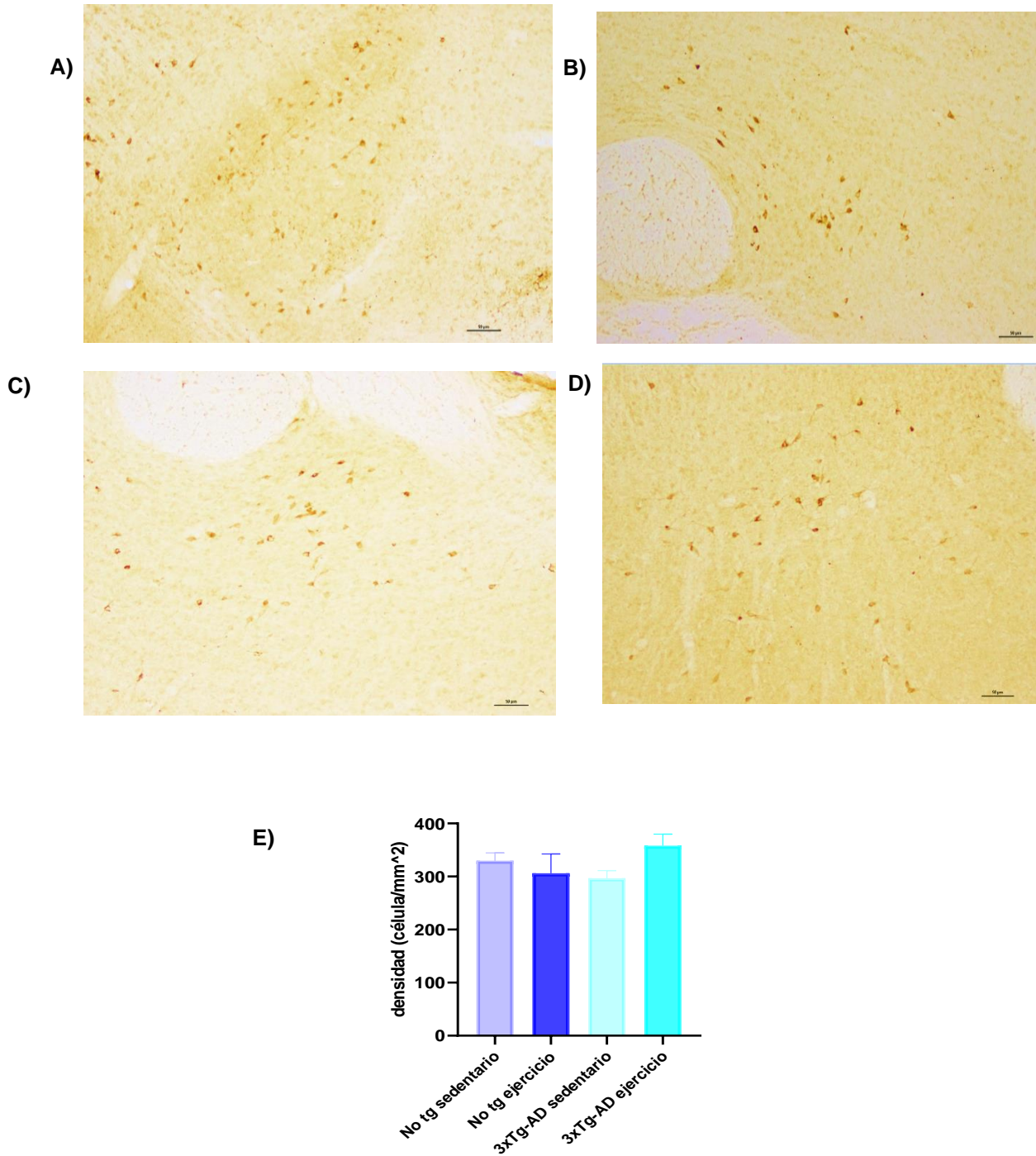


Figura 12. Imagen comparativa de la densidad de somas colinérgicas en el núcleo del septum medial de ratones 3xTg-AD y no tg con intervención de ejercicio y sedentarios, observados en el microscopio con un objetivo de 10x. A) núcleo del septum medial del ratón 3xTg-AD con tratamiento de ejercicio. B) núcleo del septum medial del ratón 3xTg-AD sedentario. C) núcleo del septum medial del ratón no tg con tratamiento de ejercicio y D) septum medial de ratón no tg sedentario. E) Comparación del promedio de células inmunopositivas a ChAT en el septum medial en cada uno de los grupos evaluados. Los valores representan la media  $\pm$  SEM \*P<0.05.

## 8.0 Discusión

Los resultados encontrados muestran que la intervención con ejercicio físico voluntario durante 8 semanas fue benéfica en el desempeño de la capacidad cognitiva (memoria de trabajo y funciones ejecutivas), además de un mayor número de somas colinérgicas en el núcleo basal de Meynert y núcleo del septum medial del grupo 3xTg-AD de ejercicio en comparación con los sedentarios. Ya que, se ha demostrado que algunos sistemas moleculares como los factores neurotróficos participan de manera benéfica en el cerebro con el ejercicio físico, tanto de manera central como periférica (Cotman et al. 2007), como el derivado del cerebro (BDNF), el cual es un mediador de sinapsis, conectividad neuronal y plasticidad (McAllister et al, 1999; Schinder et al, 2000) y, el factor de crecimiento nervioso (NGF) el cuál participa en la sobrevivencia de la células colinérgicas, estimulando su liberación y llevando de forma retrógrada a las neuronas colinérgicas septales, por lo que proporciona un mecanismo potencial para modelar las entradas colinérgicas y por lo tanto, asegurar la plasticidad del hipocampo (Conner et al. 2009).

En estudios con modelos animales se ha propuesto una hipótesis que sugiere que la interrupción de la señalización asociada a NGF puede contribuir a la pérdida de neuronas colinérgicas y posterior dificulta un buen desempeño en la función cognitiva (pérdida de memoria) (Gutierrez et al. 1997; Chem et al. 1997; Schinder and Poo, 2000).

Dado su papel trófico en los núcleos colinérgicos, el NGF se ha considerado una terapia potencial para prevenir la pérdida de estas neuronas en la EA, por lo que en este trabajo se propone que a través del ejercicio físico se elevan los niveles de este factor y favorecer el mantenimiento y preservación de las células colinérgicas en el cerebro basal anterior en el modelo de ratón transgénico para la enfermedad tipo Alzheimer (3xTg-AD), se observó un menor desempeño de ejercicio respecto al grupo control (No-Tg), lo cual se puede atribuir a la etapa media de la enfermedad y los cambios tanto estructurales como neuroquímicos que se manifiestan con apatía, falta de motivación e interés por realizar actividades.

Además del daño cognitivo característico en la EA, Garvock-de Montbrun et al., 2019 y Zidan et al., 2012 comentan la existencia de la disfunción motora que dificulta la realización de actividades de la vida diaria, como la marcha, donde disminuye la velocidad, longitud y ancho de paso. Sin embargo, en el presente estudio no se observaron diferencias significativas entre el grupo con las características de la EA y aquellos no tg lo cual se pudiera atribuir a la edad de estudio (14 meses, comparable con etapa media de la enfermedad), ya que, en los artículos reportan la afectación motora severa en la última fase de la enfermedad; si bien, desde el inicio existe una afectación en la postura, coordinación, equilibrio, todo ello se conjunta y resulta en la afectación severa de la marcha. Existe la hipótesis que es resultado de la acumulación de las lesiones histopatológicas de la EA en áreas encargadas del funcionamiento motor como la corteza motora primaria, el cuerpo estriado,

además de la degeneración axonal y la unión neuromuscular anormal (Garvock-de Montbrun et al., 2019).

No obstante, en el ancho de paso se observó un aumento que no fue significativo, lo que coincide con lo reportado por Klapdor et al., 1997, donde comenta que el ejercicio físico puede retardar las alteraciones en el sistema nervioso periférico, ya que se ha demostrado que la ACh participa como neurotransmisor en los ganglios autonómicos y la unión neuromuscular (Feldberg and Gaddum, 1934; Dale et al. 1936). De acuerdo a esto, sería interesante realizar un estudio de comparación de los parámetros espaciotemporales de la marcha en diferentes edades para observar cómo se comporta el deterioro de acuerdo a la etapa de la enfermedad.

En cuanto a la función cognitiva el grupo 3xTg-AD tuvo un mejor resultado en las pruebas conductuales que evaluaron la memoria de trabajo, atención visoespacial y funciones ejecutivas en comparación con el grupo 3xTg-AD sedentario. Así pues, existe gran evidencia sobre la mejoría cognitiva después de la intervención con ejercicio físico tanto en pacientes humanos como en distintos modelos animal que representan la enfermedad tipo Alzheimer, que, aunque no tengan características idénticas comparten algunas y, se han observado resultados favorables. Por su parte, en trabajos previos realizados en el modelo 3xTg-AD se ha demostrado mejora cognitiva en la memoria y aprendizaje espacial luego de 12 semanas de intervención con ejercicio físico aeróbico en estudios realizados por Jinkyung 2015 y Kim 2019. De esta manera, diversos autores entre ellos (Di Liegro et al., 2019; Haskins et al., 2016; Valenzuela et al., 2020) reconocen al ejercicio físico como una terapia no farmacológica que promueve la función cognitiva en sujetos sanos y ayuda en la atenuación del declive cognitivo en los sujetos con la EA.

En la tarea de acarreamiento de comida donde se evaluaron las funciones ejecutivas, la cual requiere una serie de actos motores y cognitivos que van desde la planeación motora, elección, acarreamiento y almacenamiento de comida, involucrando la vía comunicante entre la corteza prefrontal-hipocampo, así pues, se ha demostrado que, cuando existe una disfunción hipocampal se refleja en la disminución de ésta conducta, esto podría ser similar al daño en las actividades de la vida diaria en los humanos (R. M. J. Deacon, 2007; R. Deacon, 2012).

En este trabajo se encontró que la cantidad de alimento acumulado por el grupo de ratones 3xTg-AD con intervención de 8 semanas de ejercicio físico voluntario fue mayor que el grupo de ratones sedentarios, teniendo una diferencia de 7 gramos. Estos datos sugieren que el hipocampo puede estar involucrado en la modulación de la secuencia de acaparamiento, dado que la información adquirida permite a los animales construir una representación interna de las propiedades espaciales de su entorno, pues estas tareas muestran un claro deterioro en la mediana edad, signo importante de progresión de la EA, y con ejercicio físico voluntario se ha demostrado que participa en



mecanismos neurobiológicos subyacentes a estos efectos, en su mayoría involucrados en el hipocampo.

Una de las pruebas mejor establecidas de la memoria de trabajo espacial es el laberinto en T de alternancia espontánea (d'Isa et al. 2021). Esta se evaluó por medio de la alternación espontánea que se afecta debido a una variedad de déficits como la integridad de la corteza prefrontal, el hipocampo y la implicación de éste en la atención espacial y visual (R.M.J. Deacon & Rawlins, 2006; Wirths et al., 2008). En este trabajo se encontró que el grupo de ratones 3xTg-AD que realizó ejercicio físico tuvo una alternancia mayor (31%) que el grupo sedentario. Por otro lado, el grupo No tg con intervención de ejercicio tuvo una mayor alternancia (13.3%) comparado con los sedentarios de la misma condición, dado que, la exploración de nuevos estímulos ambientales depende de la integridad de las vías límbicas como el hipocampo, y otras como el prosencéfalo basal, y corteza prefrontal, entre otros.

Algunos sistemas de neurotransmisores se han visto implicados en el comportamiento de alternancia como ácido gamma-aminobutírico y dopamina, varios estudios han demostrado que el bloqueo de los sistemas colinérgicos puede suprimir este comportamiento (Douglas & Isaacson, 1966, Lalonde, 2002). Estos son consistentes con la hipótesis de que la alternancia espontánea es independiente de un sistema septo-hipocampal, ya que, una de las características que se presentan desde las etapas iniciales de la EA es la disminución de células colinérgicas en la neocorteza en el lóbulo temporal y áreas de asociación frontal y parietal., estas conexiones son esenciales para el funcionamiento cognitivo. En la EA existe inicialmente una desconexión entre el hipocampo y la corteza entorrinal que depriva al primero de sus aferencias corticales, a lo cual se suma la falta de inervación, lo cual es probable en vista del déficit en la alternancia espontánea provocada por el núcleo magnocelular del prosencéfalo basal (Murray & Fibiger, 1986). En el 2011 Perez et al., encontró que los déficits colinérgicos corticales afectan la función cognitiva en el modelo de ratón 3xTg-AD.

Además de los beneficios del ejercicio físico a nivel cognitivo, en cuanto a la participación en estructuras colinérgicas en éste estudio se observó una preservación de células colinérgicas en el NBM y septum medial en el grupo de 3xTg-AD con intervención de ejercicio físico voluntario durante 8 semanas en comparación con el grupo sedentario, lo que puede inferir que, al preservarse mayor densidad de somas colinérgicos en las estructuras encargadas de la inervación colinérgica hacia corteza e hipocampo se le puede atribuir el desempeño favorable en las pruebas conductuales del grupo 3xTg-AD que realizó ejercicio físico voluntario.

Dentro de nuestro conocimiento y hasta el momento no se han publicado otros estudios similares donde analicen el efecto del ejercicio físico voluntario en éstos núcleos en específico del sistema colinérgico en el modelo 3xTg-AD, sin embargo existe un antecedente de Pérez y colaboradores

(2011) en el cual realizaron una caracterización morfológica y bioquímica del sistema colinérgico del 3xTg-AD pero sin llevar a cabo algún tipo de intervención, donde encontraron que las alteraciones son dependientes de la edad y el sexo

Además de estos hallazgos encontrados, un punto interesante que resalta la literatura consultada es la falta de una dosificación ideal para el ejercicio, puesto que es complicado establecerla debido a diversos factores como la etapa de la enfermedad y las diferentes características que se presentan. Sin embargo, se han realizado revisiones para encontrar cuál es el ejercicio adecuado y las características que más favorecen en la EA; Tal como sugiere la revisión sistemática de Sousa et al., 2021 donde sostiene que la modalidad más utilizada en el modelo animal es el ejercicio aeróbico con el uso de las ruedas de ejercicio, el cual resultó benéfico al disminuir las características patológicas de la EA, además, reportan que 60 min al día, los 5 días de la semana, durante 4-12 semanas a intensidad moderada fueron los parámetros más utilizados. Por otro lado, en aquellos estudios realizados en humanos donde comparan el ejercicio aeróbico contra el ejercicio de resistencia se han observado mejores resultados con el ejercicio aeróbico, ya que, reportaron un aumento del volumen hipocampal y capacidad funcional del paciente (Agüera Sánchez et al., 2020). En la presente investigación se optó por utilizar el ejercicio aeróbico voluntario debido a los efectos del estrés que genera el ejercicio forzado, el cual incrementa el riesgo y exacerba los síntomas de la EA como lo sostiene Yuede (2018), por ende, no se puede establecer una intensidad o tiempo específico, pero se tomó en cuenta los días de intervención semanales, así como el número de semanas a las cuales se observan los beneficios a nivel histopatológico y cognitivo.

## 9.0 Conclusión

- El rendimiento de ejercicio fue significativamente mayor en el grupo no transgénico respecto al transgénico, sin embargo, la cantidad realizada por este último grupo fue benéfica para la realización de las pruebas conductuales. 8 semanas de ejercicio físico voluntario ayudaron a mejorar la memoria de trabajo y espacial, así como las funciones ejecutivas en el grupo que presenta las características de la EA.
- En la evaluación motora con la longitud de zancada y el ancho de paso, no se mostraron diferencias significativas entre los grupos con y sin tratamiento, no obstante, la etapa en que se encuentran puede ser una razón y por ello no se descarta la afectación motora solo que la afectación no fue tan severa en este momento de la evaluación.
- El ejercicio tuvo un efecto en la densidad de neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert y núcleo del septum medial del grupo 3xTg-AD.

El modelo animal 3xTg-AD es un gran recurso que nos permitió estudiar los efectos del ejercicio físico en una etapa media de la enfermedad y saber su impacto no solo a nivel periférico con el análisis de la marcha, sino también sobre el nivel sistema nervioso central en núcleos muy específicos, lo cual en la práctica clínica con pacientes es un trabajo difícil de realizar.

El modelo de intervención planteado apuesta por incluir al ejercicio físico desde las etapas tempranas y durante el transcurso de la enfermedad para ayudar al funcionamiento del sistema colinérgico, un neurotransmisor de gran relevancia que se verá reflejado tanto en la conducta como en el desempeño de las actividades diarias del paciente, disminuyendo la sintomatología y mejorando la calidad de vida.

## Referencias

- 2020 Alzheimer's disease facts and figures. (2020). *Alzheimer's and Dementia*, 16(3), 391–460. <https://doi.org/10.1002/alz.12068>
- Agüera Sánchez, M. Á., Barbancho Ma, M. Á., & García-Casares, N. (2020). Efecto del ejercicio físico en la enfermedad de Alzheimer. Una revisión sistemática. *Atención Primaria*, 52(5), 307–318. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2018.09.010>
- Albers, M. W., Gilmore, G. C., Kaye, J., Murphy, C., Wingfield, A., Bennett, D. A., Boxer, A. L., Buchman, A. S., Cruickshanks, K. J., Devanand, D. P., Duffy, C. J., Gall, C. M., Gates, G. A., Granholm, A. C., Hensch, T., Holtzer, R., Hyman, B. T., Lin, F. R., McKee, A. C., ... Zhang, L. I. (2015). At the interface of sensory and motor dysfunctions and Alzheimer's disease. In *Alzheimer's and Dementia* (Vol. 11, Issue 1, pp. 70–98). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.04.514>
- Alzforum. (Recuperado el 29 de noviembre de 2018). *Research Models 3xTg*. <https://www.alzforum.org/research-models/3xtg>
- Baglietto-Vargas, D., Chen, Y., Suh, D., Ager, R. R., Rodriguez-Ortiz, C. J., Medeiros, R., Myczek, K., Green, K. N., Baram, T. Z., & LaFerla, F. M. (2015). Short-term modern life-like stress exacerbates A $\beta$ -pathology and synapse loss in 3xTg-AD mice. *Journal of Neurochemistry*, 134(5), 915–926. <https://doi.org/10.1111/jnc.13195>
- Bekdash, R. A. (2021). The cholinergic system, the adrenergic system and the neuropathology of alzheimer's disease. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 3, pp. 1–18). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22031273>
- Belfiore, R., Rodin, A., Ferreira, E., Velazquez, R., Branca, C., Caccamo, A., & Oddo, S. (2019). Temporal and regional progression of Alzheimer's disease-like pathology in 3xTg-AD mice. *Aging Cell*, 18(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/accel.12873>
- Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2020). Comprehensive review on Alzheimer's disease : *Molecules*, 25(24), 5789.
- Bull, F. C., Al-Ansari, S. S., Biddle, S., Borodulin, K., Buman, M. P., Cardon, G., Carty, C., Chaput, J. P., Chastin, S., Chou, R., Dempsey, P. C., Dipietro, L., Ekelund, U., Firth, J., Friedenreich, C. M., Garcia, L., Gichu, M., Jago, R., Katzmarzyk, P. T., ... Willumsen, J. F. (2020). World health organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. In *British Journal of Sports Medicine* (Vol. 54, Issue 24, pp. 1451–1462). BMJ Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2020-102955>

- Camandola, S., & Mattson, M. P. (2017). Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration. *The EMBO Journal*, 36(11), 1474–1492. <https://doi.org/10.15252/emboj.201695810>
- Campos, C., Rocha, N. B. F., Lattari, E., Paes, F., Nardi, A. E., & Machado, S. (2016). Exercise-induced neuroprotective effects on neurodegenerative diseases: the key role of trophic factors. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 16(6), 723–734. <https://doi.org/10.1080/14737175.2016.1179582>
- Chakraborty, S., Lennon, J. C., Malkaram, S. A., Zeng, Y., Fisher, D. W., Dong, H., & Sciences, B. (2020). *disease*. 3433, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.03.050>. Serotonergic
- Chen, K., Nishimura, M., Armanini, M., Crowley, C., Spencer, S., & Phillips, H. (1997). Disruption of a single allele of the nerve growth factor gene results in atrophy of basal forebrain cholinergic neurons and memory deficits. *The Journal Of Neuroscience*, 17(19), 7288–7296. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-19-07288.1997>
- Cho, J., Shin, M. K., Kim, D., Lee, I., Kim, S., & Kang, H. (2015). Treadmill running reverses cognitive declines due to Alzheimer disease. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 47(9), 1814–1824. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000612>
- Cotman, C., Berchtold, N., & Christie, L. (2007). Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends In Neurosciences*, 30(9), 464–472. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.06.011>
- d'Isa, R., Comi, G., & Leocani, L. (2021). Apparatus design and behavioural testing protocol for the evaluation of spatial working memory in mice through the spontaneous alternation T-maze. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00402-7>
- Dale, H., Feldberg, W., & Vogt, M. (1936). Release of acetylcholine at voluntary motor nerve endings. *The Journal Of Physiology*, 86(4), 353–380. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1936.sp003371>
- Deacon, R. (2012). Assessing burrowing, nest construction, and hoarding in mice. *Journal of Visualized Experiments*, 59, 1–10. <https://doi.org/10.3791/2607>
- Deacon, R. M. J. (2007). Assessing hoarding in mice. *Nature Protocols*, 1(6), 2828–2830. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.171>
- Deacon, R. M. J., Croucher, A., & Rawlins, J. N. P. (2002). Hippocampal cytotoxic lesion effects on species-typical behaviours in mice. *Behavioural Brain Research*, 132(2), 203–213. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00401-6](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00401-6)

- Demencia*. Who.int. (2020). Retrieved 21 September 2020, from <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dementia>.
- De la Rosa A, Olaso-Gonzalez G, Arc-Chagnaud C, Millan F, Salvador-Pascual A, García-Lucerga C, et al. (2020). Physical exercise in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *J Sport Health Sci*; 9:394-404
- De Sousa, R. A. L., Rodrigues, C. M., Mendes, B. F., Improtá-Caria, A. C., Peixoto, M. F. D., & Cassilhas, R. C. (2021). Physical exercise protocols in animal models of Alzheimer's disease: a systematic review. *Metabolic Brain Disease*, 36(1), 85–95. <https://doi.org/10.1007/s11011-020-00633-z>
- Deture, M. A., & Dickson, D. W. (2019). The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 14(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0333-5>
- di Liegro, C. M., Schiera, G., Proia, P., & di Liegro, I. (2019). Physical activity and brain health. *Genes*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/genes10090720>
- Douglas, R. J., & Isaacson, R. L. (1966). (n.d.). *Spontaneous alternation and scopolamine 1*.
- Feldberg, W., & Gaddum, J. (1934). The chemical transmitter at synapses in a sympathetic ganglion. *The Journal Of Physiology*, 81(3), 305-319. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1934.sp003137>
- Francis, N., Robison, L. S., Popescu, D. L., Michaelos, M., Hatfield, J., Xu, F., Zhu, X., Davis, J., Anderson, M. E., Anderson, B. J., van Nostrand, W. E., & Robinson, J. K. (2020). Voluntary wheel running reduces amyloid- $\beta$  42 and rescues behavior in aged Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 73(1), 359–374. <https://doi.org/10.3233/JAD-190810>
- Games, D., Adams, D., Alessandrini, R., Barbour, R., Borthellette, P., Blackwell, C., Carr, T., Clemens, J., Donaldson, T., Gillespie, F., Guido, T., Hagopian, S., Johnson-Wood, K., Khan, K., Lee, M., Leibowitz, P., Lieberburg, I., Little, S., Masliah, E., ... Zhao, J. (1995). Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F  $\beta$ -amyloid precursor protein. *Nature*, 373(6514), 523–527. <https://doi.org/10.1038/373523a0>
- Garatachea, N., Pareja-Galeano, H., Sanchis-Gomar, F., Santos-Lozano, A., Fiuza-Luces, C., Morán, M., Emanuele, E., Joyner, M. J., & Lucia, A. (2015). Exercise attenuates the major hallmarks of aging. *Rejuvenation Research*, 18(1), 57–89. <https://doi.org/10.1089/rej.2014.1623>
- García-Mesa, Y., Colie, S., Corpas, R., Cristòfol, R., Comellas, F., Nebreda, A. R., Gim'Nez-Llort, L., & Sanfeliu, C. (2015). Oxidative stress is a central target for physical exercise neuroprotection

- against pathological brain aging. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 71(1), 40–49. <https://doi.org/10.1093/gerona/glv005>
- Garvock-de Montbrun, T., Fertan, E., Stover, K., & Brown, R. E. (2019). Motor deficits in 16-month-old male and female 3xTg-AD mice. *Behavioural Brain Research*, 356, 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.09.006>
- Geula, C., Nagykerly, N., Nicholas, A., & Wu, C. K. (2008). Cholinergic neuronal and axonal abnormalities are present early in aging and in Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 67(4), 309–318. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e31816a1df3>
- Gutierrez, LM., García, MC., Roa, P., Martínez, A. (2017). La enfermedad de Alzheimer y otras demencias como problema nacional de salud. *Academia Nacional de Medicina de México*.
- Gutiérrez, H., Miranda, M., & Bermúdez-Rattoni, F. (1997). Learning Impairment and cholinergic deafferentation after cortical nerve growth factor deprivation. *The Journal Of Neuroscience*, 17(10), 3796-3803. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-10-03796.1997>
- Gronek, P., Balko, S., Gronek, J., Zajac, A., Maszczyk, A., Celka, R., Doberska, A., Czarny, W., Podstawski, R., Clark, C. C. T., & Yu, F. (2019). Physical activity and Alzheimer's disease: A narrative review. *Aging and Disease*, 10(6), 1282–1292. <https://doi.org/10.14336/AD.2019.0226>
- Hampel, H., Mesulam, M. M., Cuello, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Cavedo, E., Snyder, P. J., & Khachaturian, Z. S. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*, 141(7), 1917–1933. <https://doi.org/10.1093/brain/awy132>
- Hampel, H., Mesulam, M. M., Cuello, A. C., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Farlow, M. R., Snyder, P. J., Giacobini, E., & Khachaturian, Z. S. (2019). Revisiting the cholinergic hypothesis in alzheimer's disease: emerging evidence from translational and clinical research. In *The journal of prevention of Alzheimer's disease* (Vol. 6, Issue 1, pp. 2–15). NLM (Medline). <https://doi.org/10.14283/jpad.2018.43>
- Haskins, M., Jones, T. E., Lu, Q., & Bareiss, S. K. (2016). Early alterations in blood and brain RANTES and MCP-1 expression and the effect of exercise frequency in the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 610, 165–170. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.11.002>
- H. Ferreira-Vieira, T., M. Guimaraes, I., R. Silva, F., & M. Ribeiro, F. (2016). Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. *Current Neuropharmacology*, 14(1), 101–115. <https://doi.org/10.2174/1570159x13666150716165726>

- Ikonomic, M. D., Klunk, W. E., Abrahamson, E. E., Wu, J., Mathis, S. C. A., Scheff, S. W., Mufson, E. J., & Dekosky, S. T. (2011). *Precuneus amyloid burden is associated with reduced cholinergic activity in Alzheimer disease*.
- Jia, R. X., Liang, J. H., Xu, Y., & Wang, Y. Q. (2019). Effects of physical activity and exercise on the cognitive function of patients with Alzheimer disease: A meta-analysis. *BMC Geriatrics*, *19*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12877-019-1175-2>
- Ke, Z., Yip, S. P., Li, L., Zheng, X. X., & Tong, K. Y. (2011). The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: A rat brain ischemia model. *PLoS ONE*, *6*(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016643>
- Kim, D., Cho, J., & Kang, H. (2019). Protective effect of exercise training against the progression of Alzheimer's disease in 3xTg-AD mice. *Behavioural Brain Research*, *374*(July), 112105. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112105>
- Klapdor, K., Dulfer, B. G., Hammann, A., & van der Staay, F. J. (1997). A low-cost method to analyse footprint patterns. *Journal of Neuroscience Methods*, *75*(1), 49–54. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(97\)00042-3](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(97)00042-3)
- Lalonde, R. (2002). The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *26*(1), 91-104. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(01\)00041-0](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(01)00041-0)
- Lehericy, S., Hirsch, E. C., Cekvera-Pi-rot, P., Hersh, L. B., Bakchine, S., Piette, F., Duyckaerts, C., Hauw, J.-J., Javoy-Agid, F., Agid, Y., 289, I. U., & Pharmacie, N. (1993). Heterogeneity and selectivity of the degeneration of cholinergic neurons in the basal forebrain of patients with alzheimer's disease. In *THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY* (Vol. 330).
- Liu, P. P., Xie, Y., Meng, X. Y., & Kang, J. S. (2019). History and progress of hypotheses and clinical trials for alzheimer's disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *4*(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-019-0063-8>
- Lloret, A., Esteve, D., Lloret, M. A., Cervera-Ferri, A., Lopez, B., Nepomuceno, M., & Monllor, P. (2019). When does Alzheimer's disease really start? The role of biomarkers. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(22), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ijms20225536>
- Lu, X., Moeini, M., Li, B., de Montgolfier, O., Lu, Y., Bélanger, S., Thorin, É., & Lesage, F. (2020). Voluntary exercise increases brain tissue oxygenation and spatially homogenizes oxygen delivery in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, *88*, 11–23. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2019.11.015>



- Mahalakshmi, B., Maurya, N., Lee, S. da, & Kumar, V. B. (2020). Possible neuroprotective mechanisms of physical exercise in neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ijms21165895>
- Mandolesi, L., Polverino, A., Montuori, S., Foti, F., Ferraioli, G., Sorrentino, P., & Sorrentino, G. (2018). Effects of physical exercise on cognitive functioning and wellbeing: Biological and psychological benefits. *Frontiers in Psychology*, 9(APR), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.00509>
- Manzano Palomo, S., de la Morena Vicente, M. A., & Barquero Jiménez, M. S. (2006). Neurotransmisores en la enfermedad de Alzheimer. *Revista de Neurología*, 42(06), 350. <https://doi.org/10.33588/rn.4206.2005219>
- Mesulam, M. M. (1995). The cholinergic contribution to neuromodulation in the cerebral cortex. *Seminars in the Neurosciences*, 7(5), 297–307. <https://doi.org/10.1006/smns.1995.0033>
- Mufson, E. J., Ginsberg, S. D., Ikonovic, M. D., & DeKosky, S. T. (2003). Human cholinergic basal forebrain: Chemoanatomy and neurologic dysfunction. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 26(4), 233–242. [https://doi.org/10.1016/S0891-0618\(03\)00068-1](https://doi.org/10.1016/S0891-0618(03)00068-1)
- Oddo, S., Caccamo, A., Shepherd, J. D., Murphy, M. P., Golde, T. E., Kaye, R., Metherate, R., Mattson, M. P., Akbari, Y., & LaFerla, F. M. (2003). Triple-transgenic model of Alzheimer's Disease with plaques and tangles: Intracellular A $\beta$  and synaptic dysfunction. *Neuron*, 39(3), 409–421. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00434-3](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00434-3)
- Orta-Salazar, E., Cuellar-Lemus, C. A., Díaz-Cintra, S., & Feria-Velasco, A. I. (2014). Cholinergic markers in the cortex and hippocampus of some animal species and their correlation to Alzheimer's disease. *Neurología*, 29(8), 497–503. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2012.10.007>
- 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. *Update on Dementia*. <https://doi.org/10.5772/64619>
- Pan, X., Kaminga, A. C., Jia, P., Wen, S. W., Acheampong, K., & Liu, A. (2020). Catecholamines in Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. In *Frontiers in Aging Neuroscience* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00184>
- Pan, X., Kaminga, A. C., Wen, S. W., Wu, X., Acheampong, K., & Liu, A. (2019). Dopamine and dopamine receptors in Alzheimer's disease: A systematic review and network meta-analysis. In *Frontiers in Aging Neuroscience* (Vol. 10, Issue JUL). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00175>

- Perez, S. E., He, B., Muhammad, N., Oh, K. J., Fahnestock, M., Ikonovic, M. D., & Mufson, E. J. (2011). Cholinergic basal forebrain system alterations in 3xTg-AD transgenic mice. *Neurobiology of Disease*, 41(2), 338–352. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.10.002>
- Radak, Z., Hart, N., Sarga, L., Koltai, E., Atalay, M., Ohno, H., & Boldogh, I. (2010). Exercise plays a preventive role against Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(3), 777–783. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-091531>
- Schinder, A. (2000). The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. *Trends In Neurosciences*, 23(12), 639-645. doi: 10.1016/s0166-2236(00)01672-6
- SEDESOL (2017). Análisis prospectivo de la población de 60 años de edad en adelante. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/201801/An\\_lisis\\_prospectivo\\_de\\_la\\_poblacion\\_de\\_60\\_años\\_en\\_adelante.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/201801/An_lisis_prospectivo_de_la_poblacion_de_60_años_en_adelante.pdf)
- Štrac, D. Š., Pivac, N., & Mück-Šeler, D. (2016). The serotonergic system and cognitive function. *Translational Neuroscience*, 7(1), 35–49. <https://doi.org/10.1515/tnsci-2016-0007>
- Valenzuela, P. L., Castillo-García, A., Morales, J. S., de la Villa, P., Hampel, H., Emanuele, E., Lista, S., & Lucía, A. (2020). Exercise benefits on Alzheimer's disease: State-of-the-science. *Ageing Research Reviews*, 62(May), 101108. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101108>
- Wilcock, G. K., Esiri, M. M., Bowen, D. M., & Smith, C. C. T. (1982). Correlation of Cortical Choline Acetyltransferase Activity with the Severity of Dementia and Histological Abnormalities. In *the Neurological Sciences* (Vol. 57).
- Wirh's, O., Breyhan, H., Schäfer, S., Roth, C., & Bayer, T. A. (2008). Deficits in working memory and motor performance in the APP/PS1ki mouse model for Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 29(6), 891–901. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2006.12.004>
- Yang, J. T., Wang, Z. J., Cai, H. Y., Yuan, L., Hu, M. M., Wu, M. N., & Qi, J. S. (2018a). Sex Differences in Neuropathology and Cognitive Behavior in APP/PS1/tau Triple-Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Neuroscience Bulletin*, 34(5), 736–746. <https://doi.org/10.1007/s12264-018-0268-9>
- Yang, J. T., Wang, Z. J., Cai, H. Y., Yuan, L., Hu, M. M., Wu, M. N., & Qi, J. S. (2018b). Sex differences in neuropathology and cognitive behavior in APP/PS1/tau triple-transgenic mouse model of alzheimer's disease. *Neuroscience Bulletin*, 34(5), 736–746. <https://doi.org/10.1007/s12264-018-0268-9>
- Yuede, C. M., Timson, B. F., Hettinger, J. C., Yuede, K. M., Edwards, H. M., Lawson, J. E., Zimmerman, S. D., & Cirrito, J. R. (2018). Interactions between stress and physical activity on

Alzheimer's disease pathology. In *Neurobiology of Stress* (Vol. 8, pp. 158–171). Elsevier Inc.  
<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2018.02.004>

Zhao, H. (2017). 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiology & Behavior*, 176(10), 139–148.  
<https://doi.org/10.1007/s00401-016-1662-x>.Alzheimer

Zidan, M., arCoverde, C., BoM de Araújo, narahana, vasques, P., rios, alexandre, laks, jerson, & deslandes, andrea. (n.d.). Post-graduation program in physical education at UGF; laboratory of neuroscience of exercise (LaNEx/UGF). In *Public Health*.