



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD

LEÓN

TEMA:

“NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL EN EL ADULTO EN UN MODELO PARA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER ESPORÁDICA”

MODALIDAD DE TITULACIÓN:

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN FISIOTERAPIA

PRESENTA:

GISELLE DEL CARMEN CERVANTES MARTINEZ

TUTOR:

MTRA. CRISTINA CARRILLO PRADO

ASESORES

DRA. PAOLA CRISTINA BELLO MEDINA

DR. DIEGO ALEXANDER GONZÁLEZ FRANCO



LEÓN, GUANAJUATO, MÉXICO. 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.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La demencia es un síndrome que se caracteriza por la pérdida de la memoria, del lenguaje y de otras áreas asociadas al comportamiento humano, y comienza a perjudicar al individuo que la padece en los ámbitos sociales, familiares y económicos. En la actualidad, alrededor del mundo se reportan 24.3 millones de casos con demencia y se prevé que este número aumente a 81.1 millones para el año 2040. La enfermedad de Alzheimer (EA) esporádica provoca alteraciones histológicas y cognitivas similares a la EA de origen familiar; por lo tanto, para su estudio se han implementado el uso de modelos animales, quienes mimetizan esta enfermedad a través de la administración intracerebroventricular de un compuesto llamado estreptozotocina, que induce un aumento en el estrés oxidativo, una mayor neuroinflamación y una disminución en el metabolismo de la glucosa cerebral, generando alteración en la generación de nuevas neuronas después del periodo embrionario en los nichos neurogénicos como el bulbo olfatorio y el giro dentado del hipocampo, denominándose así como neurogénesis adulta. Luego de que los animales comienzan a presentar síntomas propios de la enfermedad como la pérdida de la memoria, se ha observado que la repetición de una misma tarea, durante varios ensayos, realizada por varios días, llamada sobreentrenamiento aumenta la plasticidad sináptica en el hipocampo, esto debido a la inducción de experiencias adquiridas, resultando en un almacenamiento de la memoria espacial y una generación de nuevas neuronas. **OBJETIVO:** Evaluar los efectos que provoca la administración de estreptozotocina intracerebroventricular y el sobreentrenamiento en el laberinto acuático de Morris sobre en el aprendizaje espacial y la neurogénesis del adulto en el GD del hipocampo. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se administró vehículo (VEH) o estreptozotocina intracerebroventricular (STZ) (3 mg/kg) diluida en líquido cefalorraquídeo artificial, en los ventrículos laterales. Fueron asignados a cuatro grupos: 1) bioterio (BIO), 2) control de nado (CN), 3) LAM1, con una sesión de entrenamiento, o 4) LAM3. El día 30 se realizó la tarea conductual en el laberinto acuático de Morris. Se analizó la proporción del área de DCX de la proteína doblecortina (DCX, por sus siglas en inglés) del ginu del giro dentado y de las bandas suprapiramidal e infrapiramidal del hipocampo. Los datos estadísticos de la conducta e histológicos se analizaron con la prueba estadística ANOVA y en caso de ser significativa se utilizó la prueba post hoc de Bonferroni y se consideró estadísticamente significativo el valor de $p < 0.05$, con un intervalo de confianza del 95%. **RESULTADOS:** En los animales a los que se les administró VEH se observó un aprendizaje normal en aquellos que solo realizaron una sesión de entrenamiento en el LAM, mientras que los que tuvieron un sobreentrenamiento presentaron un aprendizaje incrementado. Para los animales con STZ se pudo observar un deterioro cognitivo en el aprendizaje espacial, pero aquellos que fueron tratados con un sobreentrenamiento obtuvieron un aprendizaje normal, parecido a aquellos animales con VEH que realizaron una sesión de entrenamiento. En el análisis histológico, se encontró una disminución de la proteína DCX en los animales con STZ, en las regiones del ginu y

en las bandas suprapiramidal e infrapiramidal del giro dentado del hipocampo dorsal pero este resultado se vio modificado en aquellos animales que realizaron un sobreentrenamiento cognitivo.

CONCLUSIÓN: El modelo de la EA esporádica, inducida por STZ icv, presenta alteraciones en el aprendizaje espacial, al igual que alteraciones histológicas, como la disminución en la proteína DCX, indicando una baja tasa de la neurogénesis adulta. El sobreentrenamiento cognitivo, revierte los efectos observados en este modelo preclínico, pudiendo considerarse como una intervención adecuada de la EA esporádica.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer esporádica, neurogénesis adulta, giro dentado, DCX, sobreentrenamiento

ABSTRACT

INTRODUCTION: Dementia is a syndrome that is characterized by the loss of memory, language, and other areas associated with human behavior, and begins to harm the individual who suffers it in the social, family, and economic ambits. Currently, 24.3 million cases of dementia are reported around the world and this number is expected to rise to 81.1 million by 2040. Sporadic Alzheimer's disease (SAD) causes histological and cognitive alterations similar to familial AD. Therefore, for this study have been implemented the use of animal models, who mimic this disease through the intracerebroventricular administration of a compound called streptozotocin, which induces an increase in oxidative stress, neuroinflammation, and a decrease in the metabolism of cerebral glucose, generating alteration in the generation of new neurons after the embryonic period in the so-called neurogenic niches such as the olfactory bulb and the dentate gyrus of the hippocampus, so-called adult neurogenesis. After the animals begin to present symptoms of the disease such as memory loss, it has been observed that the repetition of the same task, during several trials, performed for several days, So-called overtraining increases synaptic plasticity in the hippocampus, this due to the induction of acquired experiences, resulting in storage of spatial memory and a generation of new neurons. **OBJECTIVE:** To evaluate the effects of intracerebroventricular streptozotocin administration and overtraining in the Morris water maze, on spatial learning and adult neurogenesis in the dentate gyrus hippocampus. **MATERIALS AND METHODS:** Vehicle (VEH) or intracerebroventricular streptozotocin (STZ) (3 mg/kg) diluted in artificial cerebrospinal fluid in the lateral ventricles was administered. The mice were assigned randomly to four groups: 1) bioterium (BIO), 2) swimming control (CN), 3) MWM1, with a training session, or 4) MWM3. On the 30th day the behavioral task was performed in the Morris water maze. The proportion of the doclecortin (DCX) area of the dentate gyrus gynu and the suprapyramidal and infrapyramidal bands of the hippocampus were analyzed. Behavioral and histological statistical data were analyzed with the ANOVA statistical test and, if significant, the Bonferroni post hoc test was used, and the value of $p < 0.05$ was considered statistically significant, with a 95% confidence interval. **RESULTS:** During the two days of administration of the STZ, a decrease in body weight was observed in all groups, indicating a period of recovery after surgery. In the animals given VEH, normal learning was observed in those who had only one LAM training session, while those who had overtraining had increased learning. For animals with STZ, cognitive impairment in spatial learning could be observed, but those who were treated with overtraining obtained normal learning, similar to those animals with VEH who performed a training session. On histological analysis, a decrease in the DCX protein was found in animals with STZ, in the regions of gynu and the suprapyramidal and infrapyramidal bands of the dentate gyrus, of the dorsal hippocampus but this result was modified in those animals that performed cognitive overtraining. **CONCLUSION:** The sporadic Alzheimer's disease model induced by STZ icv, presents alterations in spatial learning, as well as histological alterations, such as the decrease in the DCX protein, indicating a low rate of adult neurogenesis. Cognitive overtraining reversed the effects observed in this preclinical model and can be considered an appropriate intervention of SAD.

Keywords: Sporadic Alzheimer's disease, adult neurogenesis, dentate gyrus, DCX, overtraining

AGRADECIMIENTOS

A la máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser un sueño materializado.

A la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, por ser mi segundo hogar durante los cuatro años de la carrera, un lugar de aprendizaje, compromiso y entrega.

A la Licenciatura en Fisioterapia de la ENES UNAM, por brindarme los conocimientos necesarios en sus aulas y clínica para poder desarrollarme.

Al Instituto de Neurobiología, en especial a la Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda, por darme la oportunidad de entrar a su laboratorio a desarrollar un proyecto, cuyo fin es el aportar conocimientos al área cerebral.

A mi tutora Cristina Carrillo Prado, por brindarme sus conocimientos, ser una excelente maestra, consejera, por mostrarme que cada cambio es una nueva oportunidad en la vida.

A mis asesores la Dra. Paola Cristina Bello Medina y al Dr. Diego Alexander González Franco, por su tiempo, enseñanzas durante mi estancia en el laboratorio, por su paciencia y su motivación cuando ya no encontraba cómo continuar.

A Azucena Aguilar Vázquez, por su excelente su apoyo técnico.

A la Ing. Nydia Elsa Hernández Ríos, por permitirme hacer uso de su unidad de microscopía del INB, compartir sus conocimientos conmigo y tenerme paciencia.

Al Dr. José Martín García Servín, a la **Dra. Alejandra Castilla** y a la **Dra. María Carbajo** por darme acceso al bioterio del INB y facilitarme los animales que se utilizaron para realizar este estudio, al igual por todos sus conocimientos compartidos.

Al Programa de Becas de Manutención, al Programa de Becas para Titulación Egresados de Alto Rendimiento, por proporcionarme los recursos para solventar mis gastos durante mi periodo en la Universidad.

A los doctores y maestros, porque cada uno sembró lo mejor de ustedes en mi vida profesional y en mi persona. Por inspirarme a lo largo de este camino llamado “universidad”, por todas las enseñanzas, conocimientos y valores que compartieron conmigo. Gracias de todo corazón Dra. Aline, Dr. Barrera, Dr. Valencia, Mtra. Ileana, Mtra. Paulina, Lic. Natalia, Lic. Carlos, Mtra. Peralta, Mtra. Adriana.

A Erika, Héctor, Sergio, Erick, Gema, Nay, América, Manuel y Mariana, porque gracias a ustedes la universidad fue más ligera, por todas las noches de desvelos, por todos los aprendizajes compartidos, por darme consuelo en esos momentos donde me sentía triste, por acompañarme en los mejores y peores momentos.

A Gema, Nay y Juliana, por acompañarme en este proceso llamado titulación, por estar conmigo en los momentos fáciles y difíciles, por mostrarme que por más difícil que parezca una situación, siempre habrá una solución para ello, por todas las risas, alegrías, consejos, enojos, tristezas y frustraciones.

A mis pacientes, mi motivación principal para continuar aprendiendo para día con día ser mejor, gracias por su confianza y constancia.

A mis ratones, porque sin ellos no sería posible mi proyecto de investigación.

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme culminar mis estudios universitarios, por darme fortaleza en los momentos donde me encontraba perdida. Por haberme ayudado a encontrar mi pasión y acompañarme cada día.

A mis padres, por todo el apoyo que me han dado a lo largo de la vida, por su motivación constante, por su paciencia, por sus abrazos después de un día pesado en la Universidad, por ser mi claro ejemplo de trabajo, humildad y honestidad.

A mis abuelos, por todas sus palabras de motivación en mi formación académica, por los valores que han inculcado a la familia.

A mis tíos/as, primas/os, por ser mis primeros pacientes, por esos consejos que me ayudaron a tomar decisiones que mejoraron mi persona, por motivarme a realizar las cosas aun con miedo.

Abreviaturas

ACh: acetilcolina

APP: Precursora amiloide

BDNF: factor neurotrófico derivado del cerebro

bFGF: factor de crecimiento de fibroblastos

BHE: barrera hematoencefálica

BIO: bioterio

BrdU: 5-bromo-2-deoxiuridina

CA: cuerno de Amón

CCG: capa de células granulares

CN: control de nado

DM: diabetes mellitus

DCX: proteína doblecortina

EA: Enfermedad de Alzheimer

EAs: Enfermedad de Alzheimer esporádica

GABA: ácido γ -amino butírico

GD: giro dentado

GLU: glutamato

Icv: intracerebroventricular

LAM: laberinto acuático de Morris

LCRa: líquido cefalorraquídeo artificial

MCI: deterioro cognitivo leve

NA: neurogénesis adulta

PBS: solución salina tamponada con fosfato

PBST: solución salina tamponada con fosfato más tween.

PFA: paraformaldehído

PSEN-1: presenilina 1

PSEN-2: presenilina 2

5-HT: serotonina

SNC: sistema nervioso central

STZ: estreptozotocina

VEH: vehículo

VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial

ZSG: zona subgranular

ZSV: zona subventricular

ÍNDICE

RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	4
ABREVIATURAS.....	9
CAPÍTULO 1	
INTRODUCCIÓN.....	13
CAPÍTULO 2	
ANTECEDENTES.....	15
Modelos animales para el estudio de la Enfermedad de Alzheimer.....	17
Modelo esporádico de la Enfermedad de Alzheimer (Estreptozotocina)....	17
El hipocampo.....	18
Aprendizaje y memoria.....	21
Neurogénesis postnatal en el adulto.....	22
Neurogénesis en el giro dentado.....	23
Marcadores de neurogénesis: Proteína doblecortina (DCX).....	26
Sobrentrenamiento cognitivo en el laberinto acuático de Morris.....	28
CAPÍTULO 3	
JUSTIFICACIÓN.....	31
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	33
HIPÓTESIS.....	33
CAPÍTULO 4	
OBJETIVOS.....	34
OBJETIVO GENERAL.....	34
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
CAPÍTULO 5	
MATERIALES Y MÉTODO.....	35
Animales.....	35

Inducción del modelo esporádico de la EA.....	35
Diseño del estudio.....	36
Laberinto acuático de Morris (LAM).....	37
Eutanasia y extracción de cerebros.....	38
Criosección.....	38
Inmunohistoquímica de fluorescencia para DCX.....	39
Captura y análisis de imágenes.....	39
Análisis estadístico.....	41
 CAPÍTULO 6	
RESULTADOS.....	42
Peso corporal.....	42
Aprendizaje espacial en el laberinto acuático de Morris.....	43
Velocidad de nado.....	45
Proporción del área de la proteína DCX en el ginu del GD del hipocampo...45	
Proporción del área de la proteína DCX en la banda suprapiramidal del GD del hipocampo.....	46
Proporción del área de la proteína DCX en la banda infrapiramidal del GD del hipocampo.....	47
 CAPÍTULO 7	
DISCUSIÓN.....	51
 CAPÍTULO 8	
CONCLUSIONES.....	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

INTRODUCCIÓN

La demencia es un síndrome que se caracteriza por la pérdida de la memoria, del lenguaje y de otras áreas asociadas al comportamiento humano, y comienza a perjudicar al individuo que la padece en los ámbitos sociales, familiares y económicos (Libre Rodríguez & Gutiérrez Herrera, 2014).

El concepto de demencia ha sido modificado constantemente, debido a que en él implican distintos tipos de ésta, pueden existir trastornos neurocognitivos mayores; demencia en los adultos mayores, demencia causada por depresión o demencia a causa de la enfermedad de Alzheimer (EA) (Tello-Rodríguez et al., 2016; Vatanabe et al., 2020). Se prevé que la población con enfermedad de Alzheimer sea de 52 millones en 2030 y aumente a 152 millones de personas en 2050 (WHO, 2020). Aproximadamente hasta el año 2014 existían 800,000 personas afectadas por la demencia en México, esperando que esta cifra aumente a 3.5 millones para el año 2050 (Bernal, 2017).

El 70% de las demencias ocurren en adultos mayores, teniendo un mayor porcentaje la Enfermedad de Alzheimer (EA). Las características histopatológicas que se observan en la EA son las placas amiloideas, compuestas por β -amiloide, ovillos neurofibrilares y la hiperfosforilación de la proteína tau, al igual la mutación de la presenilina 1 y presenilina 2; para el Alzheimer familiar, mientras tanto para la EA esporádica no se conoce su etiología, pero se sabe que su desarrollo comienza partir de varias comorbilidades presentes en la persona enferma (Fiest et al., 2016; Rowland et al., 2018).

Para el estudio de esta patología se ha implementado el uso de modelos animales, ya sea, animales transgénicos o inducidos; uno de los modelos para la EA esporádica es la administración intracerebroventricular de estreptozotocina (STZ), permitiendo evaluar la disfunción cognitiva y las alteraciones histopatológicas que provoca esta (Grieb, 2016; Mullane & Williams, 2019).

En tales trabajos realizados en modelos de la enfermedad de Alzheimer esporádica se ha reportado que esta enfermedad provoca una neuroinflamación, y ésta afecta un proceso que ocurre tanto en el giro dentado del hipocampo, como en el bulbo olfatorio, la neurogénesis adulta; que es la generación de nuevas neuronas después del periodo embrionario, en el cerebro de los mamíferos adultos. Al igual se ha descubierto que la neurogénesis adulta es necesaria para la función hipocampal, ya que, está asociada al aprendizaje y memoria (Mishra et al., 2017; Mongiat & Schinder, 2011; Toda & Gage, 2018).

Por lo tanto, se han reportado casos en donde la neurogénesis adulta es afectada por la EA y que la repetición de una misma tarea, durante varios ensayos, realizada por varios días, llamada sobreentrenamiento aumenta la plasticidad sináptica en el hipocampo, esto se ha observado a través de la proteína sinaptofisina (marcador de vesículas sinápticas), en el crecimiento de fibras musgosas en el CA3 del hipocampo, esto debido a la inducción de experiencias adquiridas, resultando en un

almacenamiento de la memoria espacial y una generación de nuevas neuronas (Gómez -Padilla et al., 2020).

En esta investigación se busca demostrar que en el modelo esporádico de la EA inducido mediante la administración de la estreptozotocina intracerebroventricular provoca un deterioro cognitivo en los animales, mientras que el sobreentrenamiento en el laberinto acuático de Morris, pudiera producir un aprendizaje normal, mientras que en los animales sanos podría observarse un incremento en el aprendizaje y cómo estos cambios conductuales están relacionados con la neurogénesis en el giro dentado adulto, mediante la detección de proteína doblecortina (DCX, por sus siglas en inglés), indicando una mayor neurogénesis. Del mismo modo que, al realizar este trabajo con modelos animales nos permite en el área fisioterapéutica conocer la patología histológicamente, al igual observar los distintos procesos celulares del sistema nervioso central y cuáles son los cambios que ocurren en ellos, para con ello implementar distintas estrategias de intervención que incluyan la terapia física y la terapia cognitiva mejoran el aprendizaje y memoria en aquellos pacientes que padezcan la enfermedad de Alzheimer.

ANTECEDENTES

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo y la forma más común de demencia en la vejez, caracterizada por la pérdida progresiva de las actividades intelectuales, como el deterioro de la memoria reciente, el razonamiento y el daño en la memoria espacial; cambios en la personalidad y la inhabilidad de autocuidarse (Bassani et al., 2017; Congcong et al., 2020; Sun et al., 2015). Debido a la afectación temprana de la corteza entorrinal y el hipocampo, que da como resultado un síndrome en donde existe una desconexión entre las entradas sensoriales y los circuitos córtico-subcorticales (Ramírez, 2018). Los pacientes con esta patología presentan una ligera afectación en la orientación, por lo general en las primeras etapas, manifestándose con la desorientación; la memoria se muestra más deteriorada en las etapas tempranas, también presentan dificultad para aprender y recordar nueva información. En cuanto al lenguaje sólo presentan problemas para nombrar las palabras y la fluidez se ve disminuida, pero la estructura básica del lenguaje permanece intacta (Eratne et al., 2018). Muestran cambios en su comportamiento como apatía, comportamientos inapropiados socialmente, desinhibición, depresión, alucinaciones y problemas del sueño (Zhao et al., 2016).

La EA afecta a 50 millones de personas en el mundo y cada año se aumentan aproximadamente 10 millones más de casos. El 60% de esta población que padece la patología se localiza en países de bajos o medios recursos (Lopez & Kuller, 2019). Se estima que la población con Alzheimer sea de 52 millones en 2030 y de 152 millones de personas en 2050 (WHO, 2020). Aproximadamente hasta el año 2014 existían 800,000 personas afectadas por la demencia en México. Se espera que esta cifra aumente a 3.5 millones de mexicanos afectados para el año 2050 (Bernal, 2017).

Alois Alzheimer en 1907, observó la aparición de placas seniles y marañas neurofibrilares en esta patología. De los dos casos que describió (Armstrong, 2013), en ambos aparecieron gran número de placas, pero sólo en uno había una cantidad excesiva de marañas neurofibrilares, complicando la teoría de qué produce a la EA. Proponiendo varias teorías para la misma. Dando como resultado 8 de ellas: 1) degeneración de partes anatómicas, 2) factores ambientales como la exposición a aluminio, lesión en la cabeza y malnutrición, 3) aceleración de la vejez, 4) factores vasculares que comprometen a la barrera hematoencefálica, 5) factores genéticos; como la mutación de la presenilina 1 y presenilina 2, al igual la proteína precursora amiloidea, 6) desórdenes metabólicos; resultando en disfunciones de la mitocondria, 7) agentes infecciosos y 8) disfunciones en el sistema inmune (Armstrong, 2013).

La histopatología que presenta esta enfermedad es la siguiente, comienza con un deterioro de la corteza cerebral, acompañado de una pérdida de neuronas corticales y subcorticales, posteriormente se forman

las placas seniles, formadas por proteína β -amiloide y ovillos neurofibrilares, compuestos de proteína tau hiperfosforilada (Ramírez, 2018).

Por lo tanto, existen dos casos en los que puede presentarse el Alzheimer, en el primero, aproximadamente menos del 5 % de éstos son hereditarios o genéticos, denominándose EA familiar (Sun et al., 2015). Mientras que en el segundo, el 95 % restante de los pacientes que padecen Alzheimer es de tipo *esporádico* (EAs), presentando una serie de causas epigenéticas, genéticas y por el estilo de vida que llevan. Siendo uno de los factores de riesgo la edad, debido a que, en la etapa de la vejez, aumenta la probabilidad de padecer Alzheimer. Con la presentación de un peso y volumen menor del cerebro, pérdida de sinapsis y dendritas, alargamiento de los ventrículos y sobre todo la aparición de placas β -amiloides y ovillos neurofibrilares (Baglietto-Vargas et al., 2016), también ocurren alteraciones como procesos neurodegenerativos en el hipocampo, la activación de la microglia, el estrés oxidativo, la neuroinflamación, la falta de energía metabólica y como consecuencia se ven reflejados en una apoptosis (Lu et al., 2017).

Al mismo tiempo, la enfermedad de Alzheimer presenta distintos padecimientos previos, como eventos cerebrovasculares, osteoporosis, problemas renales, estrés y diabetes; siendo la diabetes una de las comorbilidades con mayor incidencia en la población (Baglietto-Vargas et al., 2016). La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica que se presenta por una falta de actividad pancreática, ocasionando un déficit en la producción de insulina o una insuficiencia en el aprovechamiento de ésta por parte del organismo, caracterizada por una hiperglucemia (who, 2021). En la actualidad se conoce que existen receptores de insulina y transportadores de esta, llamados GLUT4, en el cerebro; en áreas como el hipocampo, hipotálamo y cerebelo (Mamelak, 2012). Sí este sistema muestra una alteración en la absorción y tolerancia de la glucosa, ésta repercute en la aparición y desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (Sun et al., 2015).

Varios estudios exponen que existe esta resistencia a la insulina cerebral y como consecuencia provoca alteraciones en la señalización de la misma, tanto en EA como en casos de diabetes tipo 2, por lo tanto, se ha propuesto que la EA es una forma de diabetes mellitus específica del cerebro llamada “diabetes tipo 3”. Por otro lado esta alteración, afecta al sistema nervioso al formar mayor estrés oxidativo y neuroinflamación, induciendo una producción elevada de la $A\beta$, generando a su vez una hiperfosforilación de la proteína tau que posteriormente repercute en las sinapsis neuronales y en la cognición. Estas alteraciones tienden a inducir anormalidades moleculares y celulares, afectando gravemente la neurogénesis originada en el SNC (Chen et al., 2012; Qu et al., 2012).

Modelos animales en la enfermedad de Alzheimer

Desde hace varios años se estudia la enfermedad de Alzheimer con modelos animales, permitiendo alcanzar un mayor conocimiento de la patología, utilizando los ratones triple transgénicos para el estudio del Alzheimer familiar, con la variación de tres genes que codifican algunas proteínas como la proteína precursora amiloidea (APP), la presenilina 1 (PS1) y 2 (PS2). Mientras que para el EAs, se utilizan modelos animales como el ratón *mus musculus* de la línea CD1, induciéndolo a través de algunos compuestos tales como la estreptozotocina administrada de forma intracerebroventricular (icv).

Este mamífero *mus musculus* CD1 presenta actitudes y comportamientos adaptables al estudio de la enfermedad, permitiendo un manejo sencillo sobre ellos. Es un animal de línea consanguínea, que resulta de la cruce ininterrumpida entre hermanos y hermanas por más de 20 generaciones. Es un mamífero con hábitos nocturnos, sangre caliente y sus comportamientos se ven influenciados por las feromonas. Presentan un sentido del oído capaz de distinguir sonidos ultrasónicos y un sentido del olfato que le permite reconocer a los miembros de su familia o a intrusos. Poseen un sistema inmune y genoma similar al de los humanos. Su periodo de vida va de 1 a 1.3 años (Benavides & Guénet, 2003; Vargas Miranda et al., 2018).

Modelo esporádico de la Enfermedad de Alzheimer inducido con estreptozotocina

En 1959 se descubrió un compuesto de glucosamina- nitrosourea, derivado de bacterias del suelo *Streptomyces acromogenes* llamado estreptozotocina (STZ). En este mismo año la administración intraperitoneal de estreptozotocina comenzó a utilizarse mediante la administración intraperitoneal para inducir diabetes en modelos animales, viendo que se producían los mismos síntomas que en los humanos (Goyal et al., 2016). La STZ se administra de forma intraperitoneal y su acción radica en la destrucción de células β -pancreáticas que secretan insulina, generando una insuficiencia de la insulina y por consiguiente una hiperglicemia (Knezovic et al., 2013). Por lo tanto el transportador GLUT2, no puede llevar la glucosa dentro de las células β del páncreas, dando como resultado una diabetes tipo1 (Grieb, 2016).

Este transportador GLUT2 se localiza en varias zonas del sistema nervioso central como: el tronco encefálico y el hipotálamo, donde también hay neuronas, astrocitos y células epiteliales que recubren a los ventrículos laterales. Estas células neuronales del hipotálamo que detectan la glucosa se encuentran dentro de la barrera hematoencefálica (BHE), siendo sensibles a la glucosa del flujo sanguíneo o del líquido cefalorraquídeo (Grieb, 2016).

Por otro lado, en el año 1994, el profesor Sigfred Hoyer implementó la administración de la STZ intracerebroventricular (icv). Esta administración se hizo en ratas, en ambos ventrículos laterales, viendo que cuando realizaba la administración ocurría una disminución de la glucosa en el cerebro (Grieb, 2016), deduciendo que al momento de inyectar la STZ icv se induce una neuroinflamación, un déficit

colinérgico, estrés oxidativo y problemas en el metabolismo de la glucosa del cerebro (Bassani et al., 2017); al igual provocando una disminución de la neurogénesis adulta del giro dentado, todo esto resultando en un deterioro cognitivo como la enfermedad de Alzheimer (Mishra et al., 2018), suponiendo que este tipo de demencia pueda conocerse como “Diabetes tipo 3” (Grieb, 2016). Esta resistencia a la insulina, por parte de los receptores que se encuentran en el hipocampo (Grillo et al., 2015), cerebro basal anterior y estriado ventral (Knezovic et al., 2013), provoca un estrés oxidativo, dando origen a un aumento de la A β , facilitando la creación de placa seniles, al igual se lleva a cabo una hiperfosforilación de la proteína tau y a una degeneración neurofibrilar, causando deterioro cognitivo (Correia et al., 2011).

Actualmente, se reconoce que la insulina tiene un papel importante en la plasticidad sináptica, la memoria a largo plazo y el aprendizaje, sobre todo en el hipocampo. Esto se ha comprobado gracias al estudio en pacientes que han padecido o padecen diabetes tipo 2, puesto que reflejan deficiencias en la memoria y la atención, en comparación con los sujetos que jamás padecieron la enfermedad (Huerta et al., 2013).

El hipocampo

El hipocampo es una estructura subcortical que proviene del telencéfalo, se localiza en la parte media del lóbulo temporal, en humanos y primates. En roedores su posición es rostro-caudal, hacia el lóbulo temporal (Hernández & Aguilar, 2015).

El hipocampo consta de: los cuernos de Amón (CA1, CA3) el hilus y el giro dentado (GD), el complejo subicular y la corteza entorrinal (Figura 1) (Olivares Hernández et al., 2015). Las neuronas que se localizan en el hipocampo principalmente en el cuerno de Amón son las células piramidales, en la banda superior e inferior del GD se encuentran las células granulares; las células musgosas y las células de canastas situadas en el área del hilus; por último, las interneuronas se encuentran distribuidas en todas las partes del hipocampo (Bello-Medina, 2011; Bello Medina et al., 2018).

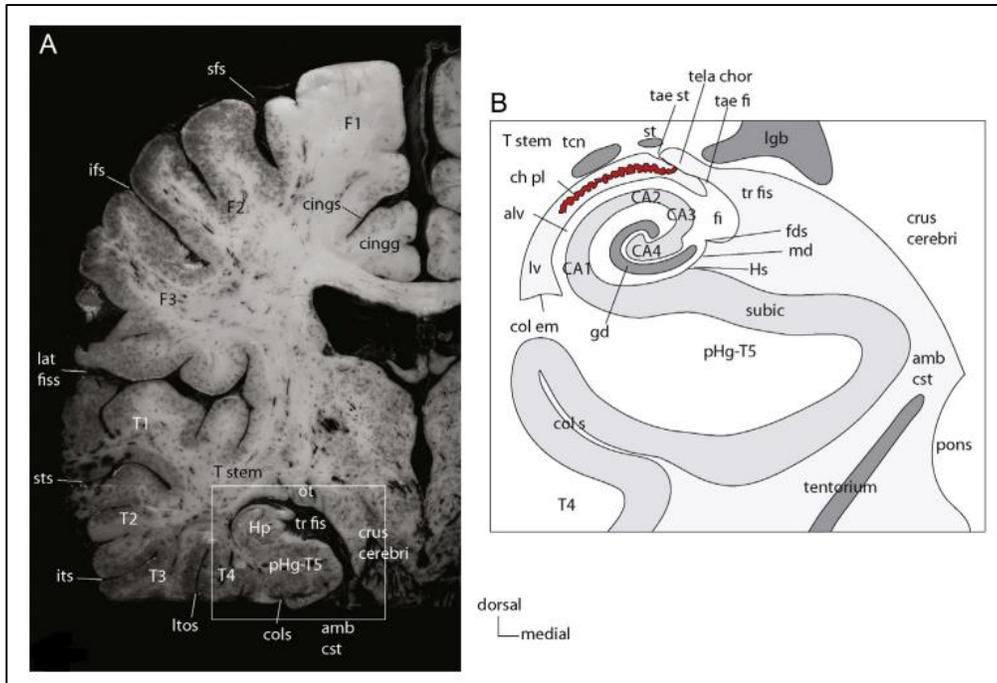


Figura 1. Cuerpo del hipocampo. A) Corte coronal del cerebro, mostrando la región del hipocampo. B) Hipocampo con sus límites respecto otras estructuras cerebrales. C) Hipocampo de rata en el que se muestra el cuerno de Amón (CA1, CA2, CA3) y el giro dentado (GD) (modificado de Amaral et. al., 1989; Destrieux et al., 2013).

El cuerno de Amón 3 (CA3), es la porción más proximal al GD, el CA1, es la porción más distal del GD y más próxima al CA3. El giro dentado se compone por tres regiones: la banda infrapiramidal o banda inferior (neuronas que limitan con el CA3), la banda suprapiramidal o banda superior (neuronas limitadas con CA1) y el ginu, siendo el vértice del GD, en donde se conectan las dos bandas. Estas bandas se dividen en cuatro amplias capas: 1) La capa molecular, con dendritas de las neuronas granulares; 2) la capa de las células granulares, constituida por los somas de las neuronas granulares; y la 3) la capa

polimórfica, formada por células musgosas que están ausentes de mielina en sus axones y la 4) la zona subgranular que se encuentra entre las neuronas granulares y el hilus, esta ZSG se considera un nicho de la neurogénesis (Figura 2) (Adel K. Afifi, 2006; Bello Medina et al., 2018).



Figura 2. Zona subgranular (ZSG) del giro dentado, capa de células granulares (CCG) y el hilus del giro dentado (modificado de Masiulis et al., 2011).

Las conexiones del giro dentado son unidireccionales. Comenzando con aferencias que aparecen en la corteza entorrinal, son enviadas al hipocampo por medio de la vía perforante, que es la primera entrada de información. La capa II de la corteza entorrinal manda sus proyecciones hacia el GD y CA3; y la capa III se proyecta hacia CA1. Por otro lado, las células granulares proyectan sus fibras musgosas hacia las dendritas de las neuronas piramidales de CA3. A su vez las neuronas piramidales del CA3 tienen proyecciones hacia las dendritas de las células piramidales de CA1, por medio de las colaterales de Schaffer. Siendo este el circuito trisináptico del hipocampo (Figura 3) (Amaral, 2007; Bello-Medina, 2011; Olivares Hernández et al., 2015).

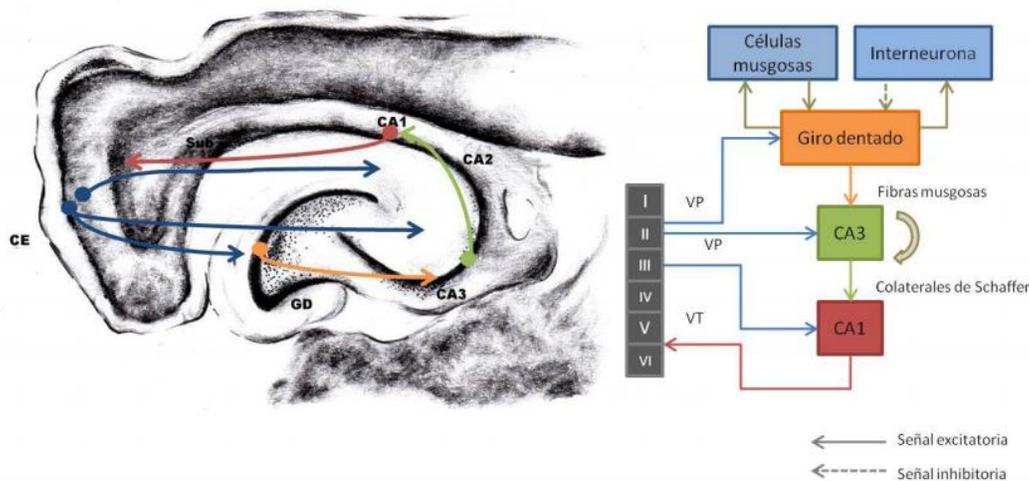


Figura 3. Esquema de los circuitos del hipocampo adulto (Olivares Hernández et al., 2015).

Los principales neurotransmisores del hipocampo son el ácido γ -amino butírico (GABA), el glutamato (GLU), la acetilcolina (ACh), la serotonina (5-HT) y la noradrenalina (NA) (Bello-Medina, 2011; Bello Medina et al., 2018; Castro-Sierra et al., 2007). Las neuronas piramidales y granulares son de tipo glutamatérgicas, representando un 85 o 90 % del total de las neuronas del hipocampo, mientras el otro 15 o 10% lo representan las neuronas GABAérgicas, que ayudan el control y a la regulación de las células glutamatérgicas. La mayoría de las interneuronas del hipocampo son GABAérgicas, producen y liberan este neurotransmisor inhibitorio (Bello Medina et al., 2018; Masiulis et al., 2011).

En la EA macroscópicamente puede observarse una atrofia en el lóbulo temporal medial, con cambios en la corteza entorrinal y después el hipocampo. Afectando el almacenamiento y la recuperación de nuevos recuerdos, al igual que la navegación espacial de los individuos que la padecen. Puesto que, se ha demostrado en estudios anteriores que el hipocampo tiene un papel importante en el aprendizaje y memoria (Lazarov & Hollands, 2016; Moodley & Chan, 2014; Mu & Gage, 2011).

Aprendizaje y Memoria

El aprendizaje se considera un desarrollo mental, resultando de una relación entre la interacción social, el sistema nervioso y la afectividad, considerándose a éste como la función cognitiva. Mientras que la memoria es el proceso por el cuál todo lo que hemos conocido del mundo se codifica, almacena y más tarde se ve recuperado (Aguirre-Siancas, 2014b; Rodríguez Arocho, 1999).

El hipocampo fue llamado el corazón del sistema límbico, por McLean, esta estructura se tiene una mayor interacción con la corteza temporal y el septum. También tiene un papel fundamental en el aprendizaje y la memoria de los seres vivos y se encuentra altamente relacionado con las tareas

espaciales, por lo tanto la actividad de sus células tienen un papel en la representación espacial (Arushanyan & Beier, 2008; Ramírez Amaya et al., 2001).

Se relata que el hipocampo es muy importante para la memoria asociativa. Como se sabe el aprendizaje se considera como un cambio estructural y funcional del sistema nervioso, resultando en un cambio relativamente permanente en la conducta y la memoria es toda aquella información aprendida y almacenada en los circuitos neuronales (Olivares Hernández et al., 2015). El aprendizaje adquirido se ve influenciado por características de estímulos particulares, los estados motivacionales y muchas veces ésta se ve impulsada por la curiosidad, influyendo en la formación de la memoria (Gruber et al., 2014).

Por lo tanto, el tipo de memoria declarativa está relacionada con las estructuras del lóbulo temporal medial, el hipocampo, la corteza entorrinal y parahipocámpal, es aquella que nos permite recordar hechos o eventos sucedidos con anterioridad. De acuerdo con Aguirre-Siancas la memoria declarativa es un proceso de secuencias, que incluye la obtención de conocimientos, el almacenamiento de la información y la recuperación para traerla al presente. Esta memoria se divide en: episódica, refiriéndose al tiempo y lugar, y la semántica; que es más independiente del contexto donde se aprendió (Aguirre-Siancas, 2014a; Gold et al., 2006).

Durante la enfermedad de Alzheimer ocurre una pérdida progresiva de la memoria, alguna evidencia insinúa que los déficits de la memoria se desarrollan antes de llegar a ser un deterioro cognitivo leve (MCI; por sus siglas en inglés: mild cognitive impairment). Un síntoma esencial de la enfermedad de Alzheimer es la pérdida de la memoria episódica, presentando episodios en donde el paciente “se pierde” o se encuentra desorientado en tiempo y espacio. Mientras que en los modelos animales de la enfermedad de Alzheimer esporádica, comienzan con una disfunción cerebral crónica, progresiva y a largo plazo en el aprendizaje y memoria de estos animales, al igual en el comportamiento de su cognición (Bernardo et al., 2020; Lazarov & Hollands, 2016; Moodley & Chan, 2014).

Neurogénesis postnatal en el adulto

Hace varias décadas se consideraba que el sistema nervioso en el adulto tenía una regeneración nula, una vez que se veían afectadas las neuronas éstas no volvían a nacer.

Con el paso de los años y gracias a diferentes investigadores, actualmente se sabe que existe un proceso complejo en el SNC, a partir de células pluripotenciales y progenitoras neurales, para producir neuroglia y nuevas neuronas que se integran en las redes neuronales preexistentes, llamado neurogénesis adulta.

En 1962, Joseph Altman realizó el descubrimiento de la neurogénesis adulta (NA) en el cerebro de ratas utilizando timidina tritiada como marcador para las nuevas neuronas, observando un mayor porcentaje de éstas en el bulbo olfatorio y en el giro dentado del hipocampo (Lois & Kelsch, 2014).

La neurogénesis adulta se genera a partir de la diferenciación de células madre, para migrar e integrarse en los circuitos neuronales, esta formación de nuevas neuronas se lleva a cabo en nichos neurogénicos que cuentan con todo lo necesario como, hormonas, factores de crecimiento y neurotransmisores (de Miranda et al., 2017; Vidal, 2009). Los nichos neurogénicos se encuentran regulados por: hormonas, tales como el estradiol aumentando la proliferación de neuronas en el hipocampo, a su vez la prolactina, junto con las hormonas que secreta la tiroides, también realizan el mismo efecto en la zona subventricular de los roedores (Vidal, 2009). También por neurotransmisores como el glutamato, el GABA, la serotonina y la acetilcolina (Balu & Lucki, 2009). A su vez el aumento en la expresión de algunos factores de crecimiento como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF por sus siglas en inglés), el factor de crecimiento de fibroblastos (bFGF por sus siglas en inglés) y el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF por sus siglas en inglés), ayudan al aumento de la proliferación de células progenitoras de neuronas (Cárdenas et al., 2005)

Las células madre tienen dos características principales: 1) autorrenovarse mediante divisiones simétricas o asimétricas y 2) diferenciarse en células especializadas. La división simétrica resulta en dos hijas idénticas a la célula madre, generando un aumento de células madre; la división asimétrica da origen a una célula idéntica y a otra que tiene un potencial para dividirse limitado, reproduciendo así progenitores que pueden diferenciarse hacia una célula en específico. Las células madre neurales son multipotentes, logrando generar precursores neurales, que a su vez generan neuronas o células gliales (Navarro-Quiroz et al., 2018).

Existen dos regiones del cerebro en donde se han reportado neurogénesis en el adulto, la zona subgranular (ZSG) del giro dentado del hipocampo y zona subventricular (ZSV), donde las nuevas neuronas migran al bulbo olfatorio.

Neurogénesis en el giro dentado

La zona subgranular (ZSG) del hipocampo se encuentra entre la capa granular del giro dentado y el hilus, en este espacio se localizan células madre neurales que producen precursores neurales, generando a su vez neuronas inmaduras; que migrarán una distancia corta y se integran en el circuito neural preexistente para convertirse en neuronas granulares maduras del giro dentado (Figura 4) (Bao et al., 2017; Bello-Medina, 2011).

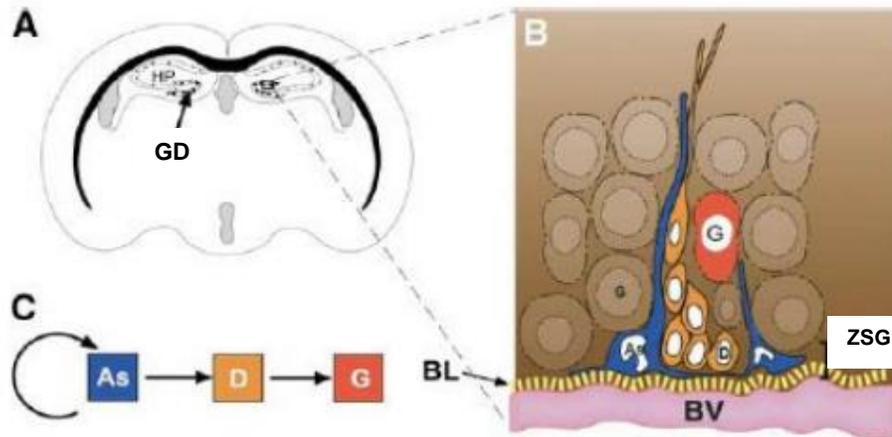


Figura 4. Neurogénesis en zona subgranular (ZSG) del giro dentado. A) Corte coronal de cerebro de ratón, mostrando el hipocampo (HP) y el giro dentado (GD). B) Zona subgranular ampliada, visualizando los astrocitos (As, azul), células nuevas sin diferenciar (células D, naranja), células granulares (célula G). c) Progenie de las células de la ZSG (modificado de Alvarez-Buylla & Lim, 2004).

Las células madre neurales son células tipo I, su cuerpo celular se encuentra en la zona subgranular (ZSG) y su proceso se extiende en la capa molecular, teniendo características de glía radial; las cuales producirán astrocitos, células endimarias, oligodendrocitos y células precursoras de neuronas nuevas; expresando los marcadores GFAP y Nestina. Estas células madre neurales se diferenciarán, entre 3 y 7 días después de su nacimiento, en progenitoras neurales intermedias o células nuevas sin diferenciar; llamadas células tipo 2a, transformándose para mostrar más características neuronales, cambiando a células tipo 2b, siendo equivalentes a las células nuevas sin diferenciar (células D) (Figura 4). Después de diferenciarse en células tipo 2b (células D), éstas expresan el marcador doblecortina en la etapa de diferenciación y migración. Posteriormente se diferencian para dar origen a neuroblastos o células de tipo 3. Después de una diferenciación post mitótica, las células tipo 3 expresan los marcadores doblecortina y NeuN, dando origen a neuronas inmaduras o neuronas maduras. Las nuevas neuronas granulares generan sus proyecciones dendríticas hasta alcanzar la capa molecular, atravesando las células granulares, llegando a las dendritas de las células piramidales de CA3, por medio de las fibras de la corteza entorrinal. La estructura del axón y árbol dendrítico inicial 14 días después de su nacimiento (Figura 5) (Abbott & Nigussie, 2020; Alvarez-Buylla & Lim, 2004; Bello-Medina, 2011; Gatt et al., 2019; Kempermann et al., 2015; Navarro-Quiroz et al., 2018).

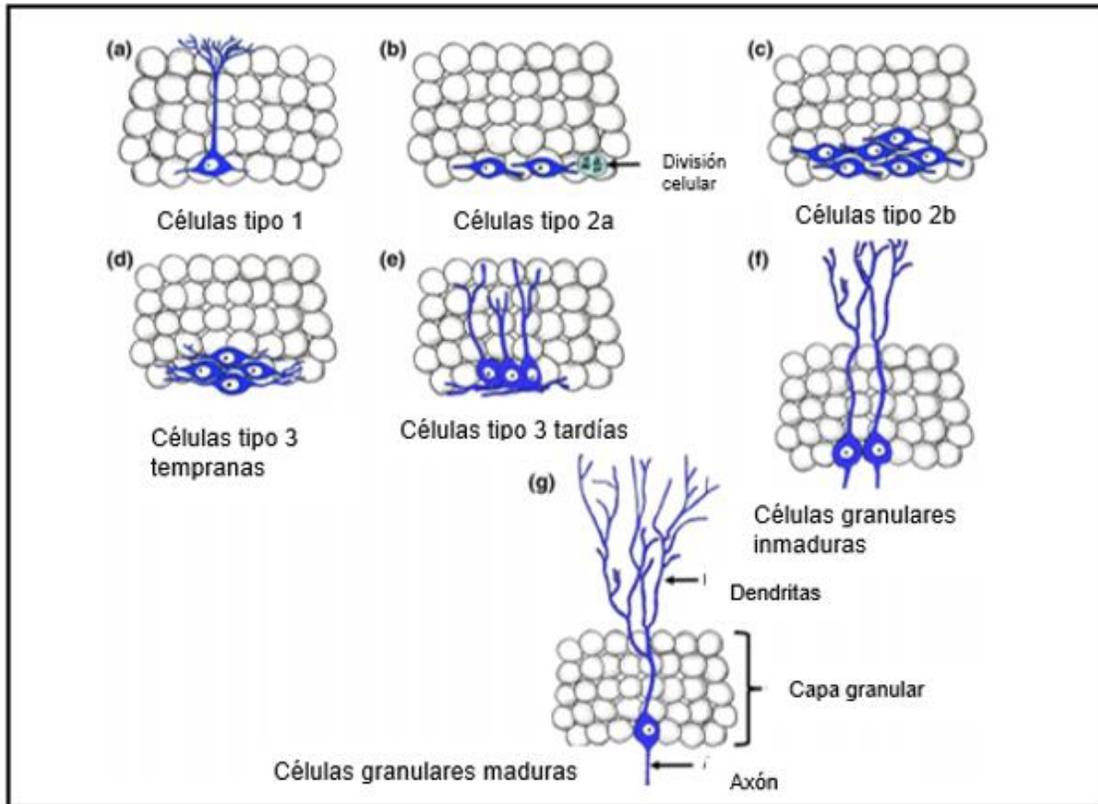


Figura 5. Neurogénesis adulta. A) Células tipo 1, con características de glía radial. 2) Células tipo 2a, con migración tangencial, teniendo división celular. C) Células tipo 2b, migración tangencial y ascenso hacia las células granulares. D) Células precursoras a tipo 3. E) Células tipo 3. F) Neuronas granulares inmaduras. G) Neuronas granulares maduras (modificado de Abbott & Nigussie, 2020).

Existe un subgrupo de las células tipo 2 se le conoce como “silencioso”, puesto que, responde al GABA tónico, mandando respuestas a diferentes distancias fuera de la sinapsis. Mientras que el otro subgrupo es llamado “solo GABA”, porque es despolarizado por el GABA fásico, pero aún no responde a estímulos glutamatérgicos (Bello-Medina, 2011; Masiulis et al., 2011).

A medida que las células maduras se diferencian en neuronas granulares del giro dentado, responden al GABA tónico y reciben aferencias fásicas GABAérgicas. Esta entrada fásica es importante porque despolariza a las neuronas maduras y aumenta los niveles de Ca^{2+} a nivel intracelular, y se sabe que el aumento de Ca^{2+} estimula la expresión de NeuroD (Masiulis et al., 2011).

Además, en la etapa tardía de la neurogénesis adulta, cuando las neuronas inmaduras están generando sinapsis en CA3, éstas reciben las primeras entradas dendríticas glutamatérgicas excitatorias. Posteriormente existe un cambio de despolarizar a hiperpolarizar el GABA y completar la integración de las neuronas al circuito preexistente (Ge et al., 2008; Masiulis et al., 2011).

Por último, una vez que las neuronas se encuentran completamente integradas en las redes del giro dentado, pueden regular glutamatérgicamente la actividad de las interneuronas, con las entradas GABAérgicas perisómicas (Ge et al., 2008; Masiulis et al., 2011).

Marcadores de neurogénesis: Proteína doblecortina (DCX)

En la actualidad existen diferentes marcadores de la neurogénesis adulta (NA), el principal es el análogo a la timidina que utilizó Josep Altman, el 5-bromo-2-deoxiuridina (BrdU), el cual se une a las células en la fase S de síntesis al ADN, que permite saber si ya ha pasado por una división celular (Bello-Medina, 2011).

Durante la proliferación de las células precursoras neurales inactivas se pueden expresar los marcadores de Nestina o GFAP. Durante la etapa de diferenciación, en estas células intermedias aparece únicamente el marcador de Nestina, señalando una división mitótica de estas células (Balu & Lucki, 2009).

Al momento de la diferenciación y la migración la proteína doblecortina se hace presente, esta se une a la polimerización de los microtúbulos, entre el día primero y catorce, permitiendo observar los neuroblastos o neuronas inmaduras, en las proyecciones principales y en los conos de las neuritas, que se diferenciarán en células glutamatérgicas granulares (Jurado, 2007; Mu & Gage, 2011).

La proteína DCX se encuentra en los precursores neuronales mitóticos tardíos y en las neuronas post mitóticas tempranas. Y su expresión comienza cuando la proteína Nestina deja de expresarse, y se apaga cuando comienza la expresión del NeuN, que son las neuronas maduras (Figura 6) (Corrales, 2015; Gatt et al., 2019; Navarro-Quiroz et al., 2018; Von Bohlen Und Halbach, 2007).

Giro dentado (GD)

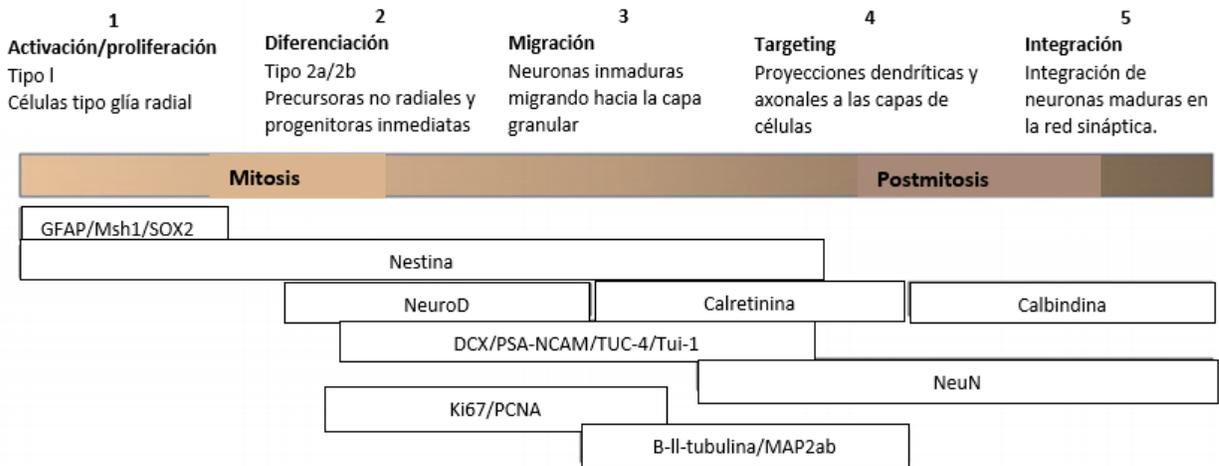


Figura 6. Marcadores neuronales en los diferentes estadios de la neurogénesis adulta (modificado de Gatt et al., 2019).

La generación de nuevas neuronas en el GD se encuentra altamente implicada en el aprendizaje y la memoria, debido a que estas nuevas neuronas se añaden a la capa granular, la cual sufrirá cambios estructurales debido a la plasticidad generada por la potenciación a largo plazo. Además, esta neurogénesis adulta se ve comprometida en la capacidad para adquirir trazos de memoria dependientes del hipocampo dorsal (Lazarov & Hollands, 2016; Mu & Gage, 2011; Shors et al., 2002).

Sun y colaboradores (2015), realizaron un protocolo en el que administraron estreptozotocina intracerebroventricular en ratas, para observar la neurogénesis generada en el hipocampo. Ellos utilizaron dos grupos de ratas, un primer grupo al cual se le administró el compuesto y al tercer mes se le aplicó la eutanasia, y el segundo grupo, al que se le inyectó la STZ-icv y dejaron que pasara un mes para aplicar la eutanasia. Al analizar los cortes en la zona subgranular del GD por medio de un microscopio de luz, se encontró una disminución de la proteína DCX en las ratas que estuvieron bajo los efectos de este compuesto en el periodo de tres meses, en comparación con las ratas que solamente se expusieron un mes a la estreptozotocina intracerebroventricular.

Estudios realizados por Mishra y colaboradores (2020), administraron estreptozotocina intracerebroventricular a ratas y notaron una disminución en la neurogénesis adulta, en comparación con el grupo control al que se les aplicó líquido cefalorraquídeo vía icv. Estos animales recibieron un tratamiento de insulina intranasal, para ver el efecto que podía producir en la neurogénesis de las ratas. En estos animales se midió el aprendizaje discriminativo olfatorio, a través de pruebas para el olfato; con distintos olores como: canela, cúrcuma y café. Como conclusión encontraron que la estreptozotocina causó un decremento de la proteína DCX en la zona subventricular, pero gracias al tratamiento farmacológico con la insulina intranasal se revirtió este efecto en la proteína DCX.

Sasaki y colaboradores (2019), realizaron un protocolo en ratones con el modelo de la EAs, tras la administración de estreptozotocina intracerebroventricular. Después de la inducción estos animales fueron tratados con el péptido-2 similar al glucagón (GLP-2), su tarea conductual consistió en realizar el laberinto acuático de Morris, 3 ensayos durante 5 días. Al concluir mostrando como resultados que los animales tratados con GLP-2 presentaron un mayor número de células positivas para el marcador Ki67 en la zona subgranular, al igual hubo un aumento de la proteína DCX, en comparación con el grupo que fue tratado con el tampón fosfato salino.

Por lo tanto, las alteraciones en la conducta que presentan los modelos preclínicos de la enfermedad de Alzheimer esporádica están altamente relacionadas con la baja retención del aprendizaje y la pérdida de la memoria que se observa en estos animales, produciendo como consecuencia una disminución en la neurogénesis adulta del hipocampo, resultando de los cambios metabólicos y estructurales que se generan a partir de esta patología.

Sobrentrenamiento cognitivo en el laberinto acuático de Morris

Los seres humanos tenemos la capacidad de reconocer estímulos a los cuales hemos estado expuestos anteriormente, asociarlos y muchas veces nos permiten orientarnos gracias a las relaciones que realizamos con ellos mismos. La mayoría de los animales pueden orientarse en el espacio para crear sus conductas de acuerdo al entorno en el que se encuentran en cierto momento (Ramírez, 2018).

El aprendizaje y la memoria espacial tienen una estrecha relación con la capacidad de obtener y retener asociaciones del medio ambiente, para permitir al ser vivo desenvolverse en el entorno. Existen evidencias que sugieren que la sinapsis del hipocampo inducidas por las experiencias del aprendizaje tienen nexos con la formación de la memoria espacial (Gómez -Padilla et al., 2020; Ramírez Amaya et al., 2001; Ramírez, 2018).

El laberinto acuático de Morris se ha implementado para estudiar la memoria espacial en modelos animales, este paradigma fue desarrollado por Richard Morris, hace más de 30 años. Esta tarea se ha utilizado en estos animales debido a que no se utilizan estímulos negativos para que el animal la lleve a cabo (Garthe & Kempermann, 2013; Ramírez, 2018; Santiago et al., 2008).

El aprendizaje y la memoria espacial pueden mejorar a través de la memoria allocéntrica y egocéntrica. La memoria allocéntrica depende del hipocampo y la memoria egocéntrica, es dependiente del núcleo caudado. Esta mejora en el aprendizaje y la memoria puede producirse a través de una exposición repetida de una tarea conductual o un sobrentrenamiento de esta, dando como resultado un cambio estructural o funcional de dicha estructura que se encarga de realizar la tarea. Por lo tanto, el sobrentrenamiento se define como un aumento en el número de experiencias adquiridas por medio de ensayos de una tarea durante varios días, reflejando un mejor rendimiento en los animales (Kealy et al., 2008; Morris et al., 1990).

Esto se vio reflejado en el proyecto que realizó Morris en 1990, con colaboradores, en donde trabajó con ratas, a las cuales dividió en grupos de acuerdo con la lesión que les provocó, tras la administración de ácido iboténico en las áreas de hipocampo y *subiculum*. Estos grupos se dividieron en lesión hipocámpal, lesión en el *subiculum* y lesión en ambas áreas (hipocampo + *subiculum*) y el grupo control al cual no se le practicó una cirugía. Posteriormente realizaron una tarea conductual en el laberinto acuático de Morris, durante 6 días con 8 ensayos diarios, logrando 48 ensayos totales, denominándose sobreentrenamiento. Al cabo de finalizar esta tarea observaron una mejora en las ratas que presentaban lesiones, tanto en el hipocampo como en el *subiculum*, mostrando una mejor latencia de escape, o disminución en el tiempo para llegar a la plataforma, al paso de los días y de los ensayos, esto indicando un aprendizaje, mientras que el grupo que presentó lesión en ambas áreas, no mostró alguna diferencia significativa (Figura 7).

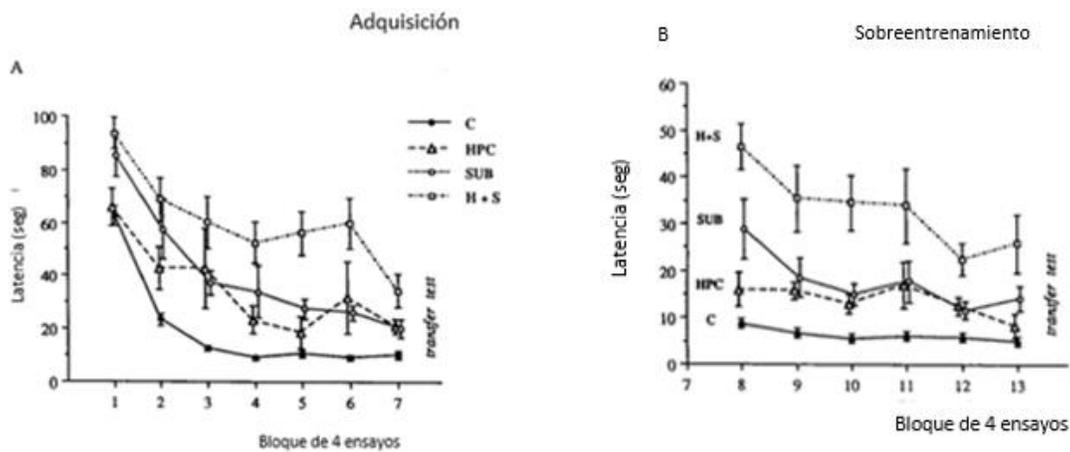


Figura 7. Grupos: C: control; HPC: lesión en hipocampo; SUB: lesión en *subiculum*; H+S: lesión en ambas áreas (hipocampo + *subiculum*). **A)** Adquisición, se observa una rápida adquisición en el grupo control, mostrando una latencia de escape significativamente más rápida en comparación con los grupos que tienen la lesión, pues estos tienen una latencia de escape mayor y un menor cruce en el cuadrante objetivo. **B)** Sobreentrenamiento muestra una disminución en el tiempo de escape y un aumento en el porcentaje de los cruces en el cuadrante objetivo en los grupos de HPC y SUB. El grupo con ambas lesiones (H+S) muestra una mejoría, sin embargo, no es tan significativa puesto que sigue estando afectado (modificado de Morris et al., 1990).

En el año 1999, Ramírez-Amaya y colaboradores realizaron un protocolo en ratas, con la finalidad de evaluar los efectos del sobreentrenamiento en el hipocampo, su objetivo fue comprobar la sinaptogénesis en el CA3 después de un sobreentrenamiento. Estos animales se dividieron en tres grupos de los cuales el grupo LAM1: laberinto acuático de Morris 1, sólo realizó un día de entrenamiento, el siguiente grupo LAM2: realizó la tarea por dos días y por último el grupo LAM3: fue sometido a un sobreentrenamiento de tres días, esto debido a que el número de ensayos fue mayor, en comparación con los otros dos grupos. Al obtener resultados reportaron un aprendizaje significativo entre los grupos LAM2 y LAM3, conforme el aumento de los ensayos y las sesiones, mientras que los animales que realizaron un sobre entrenamiento lograron disminuir significativamente la latencia de escape, para

llegar a la plataforma del laberinto. Por último, estos investigadores realizaron un corte coronal al tejido cerebral y realizaron una tinción Timm que mostró un cambio en las fibras musgosas del estrato *oriens*, indicando una sinaptogénesis, indicando una posible relación entre este cambio morfológico y la memoria a largo plazo (Figura 8).

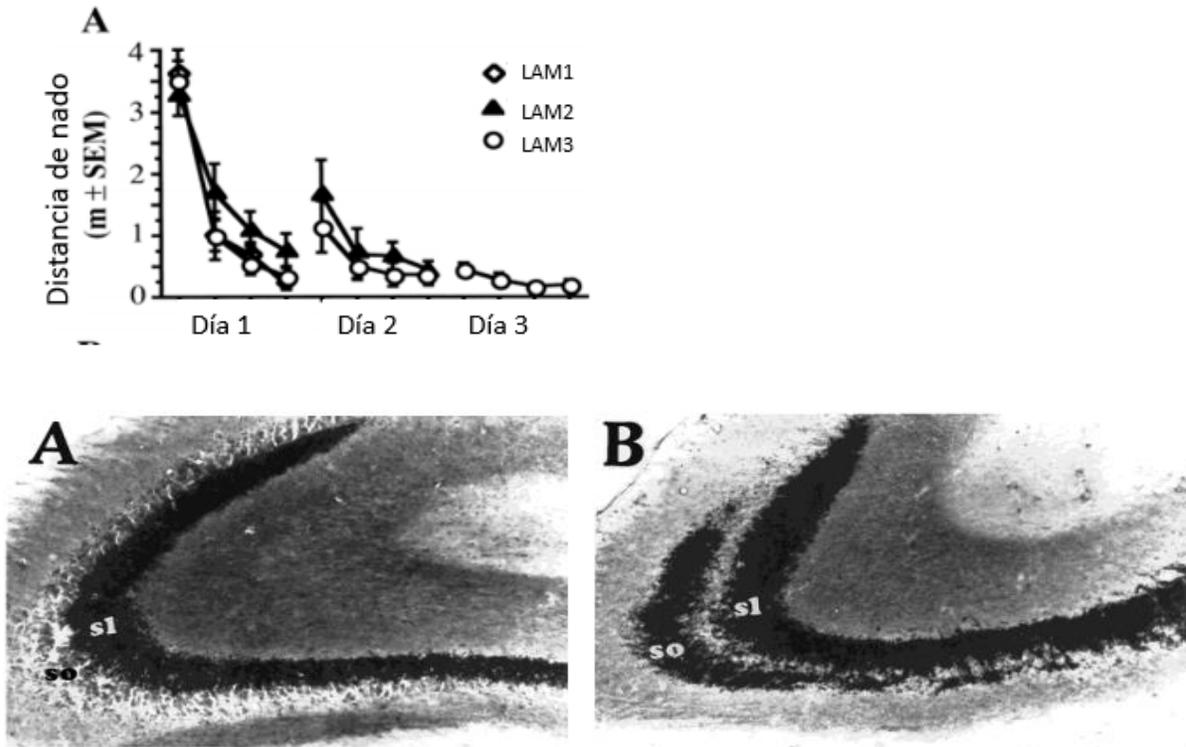


Figura 8. Grupos: CN: control de nado, LAM1: laberinto acuático de Morris un día de entrenamiento, LAM3: laberinto acuático de Morris tres días de entrenamiento. A) Se muestra una disminución en la distancia de nado a partir del segundo ensayo del primer día en todos los grupos, sin embargo, tras tres días consecutivos de 8 ensayos cada uno, el sobreentrenamiento, se ve una notable disminución en el tiempo de este nado en el grupo LAM3. Se realizó una tinción Timm en las fibras musgosas del hipocampo, en un corte coronal, de ambos grupos; el CN y el LAM3. Mostrando un aumento de estas fibras en el estrato *oriens* en las ratas que realizaron el LAM3 o sobreentrenamiento (modificado de Ramírez-Amaya et al., 1999).

Por ende, al ejecutar un sobreentrenamiento conlleva a una mejora en el aprendizaje espacial, mostrando cambios en la sinapsis plástica entre las fibras musgosas y el CA1 del hipocampo, por lo tanto, esta intervención se puede proponer como una terapia cognitiva.

JUSTIFICACIÓN

La enfermedad de Alzheimer representa una de las demencias con mayor prevalencia en México y en el mundo, esto como consecuencia de las diferentes enfermedades metabólicas y degenerativas que presenta la población en nuestro país, siendo uno con la mayor tasa de obesidad adulta y sobre todo infantil. Generando posteriormente enfermedades como la diabetes mellitus, hipertensión, entre otras. Para el año 2014, se reportaron por lo menos 800,000 casos de la EA en México esperándose que esta cifra aumente a 3.5 millones, para el año 2050 (Bernal, 2017).

Una de las principales barreras a las que se enfrenta la rama de la fisioterapia, es el estudio de la causa, las alteraciones histológicas y la interacción de diversos factores en la EA, así como la histología de otros procesos celulares que ocurren en el SNC, debido a que, estas investigaciones no se pueden realizar en los humanos, solamente en cerebros post mortem. Pero a lo largo de la historia, se ha logrado encontrar distintas formas para investigar a la EA. Por lo tanto, se ha implementado el uso de modelos animales, como en el caso de la enfermedad de Alzheimer, donde para el tipo familiar se utilizan los animales transgénicos y para el tipo de Alzheimer esporádica (que pertenece al 95% de todos los casos) se utiliza el modelo inducido por medio de compuestos como la estreptozotocina, cuya inyección es intracerebroventricular. Este compuesto que proviene del compuesto nitrosurea glucosamina y ha sido administrado en roedores, tanto en ratas como ratones, permitiendo obtener un mayor conocimiento sobre el comportamiento de esta patología.

El realizar trabajos en modelos animales permite un mayor control en las variables de los estudios, que se realizan para el estudio del deterioro cognitivo que produce la enfermedad de Alzheimer. Uno de ellos sería la etapa (leve, moderado, avanzado) de esta patología en la que se encuentra el ratón con el que se está trabajando, al igual se pueden controlar las condiciones de estos animales y obtener muestras homogéneas para realizar los estudios. A su vez, también facilitan el trabajar proyectos antes de la patología, durante la aparición de las alteraciones de la EA, proporcionando un mayor monitoreo de los roedores, resultando en una estandarización adecuada para el estudio, por ello es factible trabajar con ciencia básica en la rama de la fisioterapia.

A través de los estudios realizados en los roedores se ha obtenido información sobre las alteraciones que ocurren en el SNC, sobre todo en la región del hipocampo, ya que esta es la que se afecta primero en la EA. Estos animales utilizados en los protocolos han demostrado una neurotoxicidad, neuroinflamación y problemas con la energía metabólica del SNC, produciendo como consecuencia las placas β -amiloides, los ovillos neurofibrilares de la proteína Tau y la resistencia a la insulina en los receptores que se encuentran en el hipocampo, una estructura cerebral relacionada con los procesos

cognitivos como el aprendizaje y la memoria; por ende nos permite obtener una mayor información de esta enfermedad, entendiendo cómo es que se comporta en el SNC y los cambios que conlleva en él.

Por lo que, entre todas las diferentes repercusiones que produce esta enfermedad se encuentra la pérdida de la memoria espacial, debido a que esta es regulada por el hipocampo. Varios estudios muestran que en el GD del hipocampo en el adulto ocurre el nacimiento de nuevas neuronas, lo que se conoce como la neurogénesis adulta, estas nuevas neuronas granulares se encuentran implicadas en el aprendizaje y memoria de largo plazo, por lo tanto, en sujetos que padecen la EA, la tasa de neurogénesis es disminuida.

Estudios anteriores han propuesto distintas estrategias de intervención para el tratamiento de la EA, como las intervenciones farmacológicas donde la mejora en los animales se espera a través de la administración de distintas sustancias, tales como la insulina aplicada por vía intranasal; y las no farmacológicas, en las cuales se utiliza el ejercicio físico o la intervención cognitiva. Un ejemplo de una intervención cognitiva es el sobreentrenamiento de una tarea cognitiva, que consiste en el aumento de ensayos en el aprendizaje de las tareas conductuales, esta intervención ha mostrado efectos positivos en ratas con lesiones hipocampales, encontrando un mayor aprendizaje en estas después de la intervención. Al igual, en el protocolo de Ramírez- Amaya et al. (1999), el sobreentrenamiento produjo un aumento en las fibras musgosas del estrato *oriens*, que se encuentra relacionado con un aumento en las sinapsis. Y con estos hallazgos en los animales, se puede sugerir que estos efectos pueden mitigar las alteraciones sinápticas de la enfermedad de Alzheimer tipo esporádica.

Por lo tanto, en esta investigación se busca implementar la estrategia del sobreentrenamiento en el laberinto acuático de Morris; enfocado al aprendizaje espacial, en modelos de la enfermedad de Alzheimer esporádica, inducidos por la administración de estreptozotocina intracerebroventricular, que presentan deterioro en el aprendizaje y, por lo tanto, una posible afectación en la neurogénesis adulta en el GD del hipocampo; por ende, también se busca estudiar el efecto de una tarea cognitiva a través del sobreentrenamiento como estrategia terapéutica para ralentizar o mejorar el deterioro cognitivo.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La administración de estreptozotocina intracerebroventricular inducirá un deterioro en el aprendizaje espacial y en la neurogénesis del adulto en el giro dentado del hipocampo y estos efectos podrán ser revertidos utilizando el sobreentrenamiento cognitivo en el LAM?

HIPÓTESIS

H1: La administración STZ-icv producirá un deterioro en el aprendizaje espacial en un entrenamiento de una sesión en el LAM.

H2: El sobreentrenamiento cognitivo (tres sesiones) en el LAM producirá un aprendizaje moderado en el grupo STZ-icv.

H3. La administración de la estreptozotocina intracerebroventricular disminuirá la neurogénesis adulta del giro dentado del hipocampo.

H4: El sobreentrenamiento cognitivo (tres sesiones) en el LAM producirá una reversión de la disminución en la neurogénesis del adulto en el GD del hipocampo en el grupo STZ-icv.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar los efectos que provoca la administración de estreptozotocina intracerebroventricular y el sobreentrenamiento en el laberinto acuático de Morris sobre el aprendizaje espacial y en la neurogénesis del adulto en el GD del hipocampo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de la administración STZ-icv sobre el peso corporal, en un modelo animal.
- Evaluar el efecto de la administración STZ-icv sobre el aprendizaje espacial, en un modelo animal.
- Evaluar el efecto de la administración STZ-icv sobre los niveles de la proteína DCX en la banda suprapiramidal, infrapiramidal y el ginu del GD en el hipocampo dorsal de un modelo animal.
- Evaluar el efecto de una o tres sesiones de entrenamiento en el LAM, sobre el aprendizaje espacial, tanto en roedores con EA inducida, como en roedores sanos.
- Evaluar el efecto de una o tres sesiones de entrenamiento en el LAM sobre los niveles de la proteína DCX en la banda suprapiramidal, infrapiramidal y el ginu del GD en el hipocampo de un modelo animal con EA esporádica, así como en un modelo animal sano.

Materiales y método

Los experimentos se llevaron a cabo con los lineamientos bioéticos del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México para el uso de animales experimentales, de acuerdo con las normas estipuladas en la “*Guide for care and use of laboratory animals*” del instituto nacional de salud (Liu et al., 2016).

Animales

Se utilizaron 54 ratones macho de la cepa CD1 (25-45 g) obtenidos del bioterio del Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México. Fueron asignados aleatoriamente 3-4 ratones por caja (19 x 29 x 12 cm), en un cuarto con temperatura de 21°C y con un ciclo de 12 h luz/oscuridad, con acceso libre a comida y agua.

Inducción del modelo esporádico de la EA

Los ratones fueron anestesiados con pentobarbital por vía intraperitoneal (50 mg/kg) antes de la cirugía estereotáxica. La cabeza de los animales fue colocada en el aparato estereotáxico, para posteriormente localizar el área de Bregma y los ventrículos laterales con las coordenadas AP: +0.3, ML: \pm 0.1, DV: - 0.3 mm (Paxinos & Franklin, 2001). Se administró estreptozotocina intracerebroventricular (3 mg/kg) diluida en líquido cefalorraquídeo artificial, en los ventrículos laterales. A los grupos vehículo (VEH) se les administró líquido cefalorraquídeo artificial (LCRa). Este procedimiento se realizó en dos sesiones, el primer día la estreptozotocina (1.5 mg/Kg) se administró en un ventrículo y al tercer día en el ventrículo contralateral (1.5 mg/Kg). Después de la cirugía, durante treinta días los animales se encontraron en observación, a la par de esto los animales pesaban dos días por semana, desde el día uno, hasta el día 29, para monitorear y confirmar que no existiera algún cambio metabólico en éstos (Figura 9).

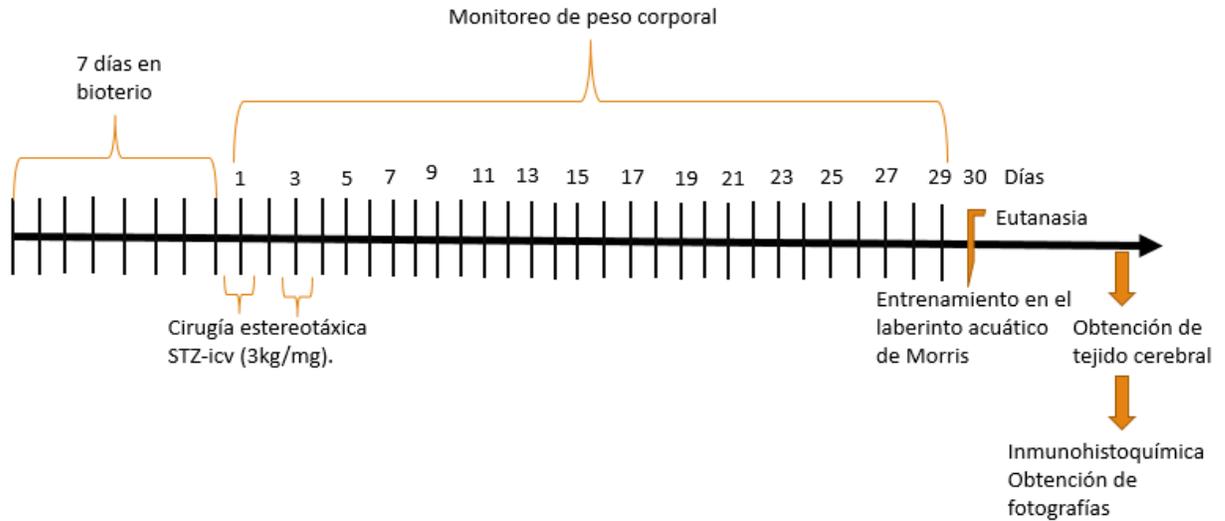


Figura 9. Protocolo de la administración de estreptozotocina intracerebroventricular para inducir la enfermedad de Alzheimer esporádica en los ratones, monitoreo del peso por 29 días, día 30 se realiza la conducta y se aplica la eutanasia en los animales.

Diseño del estudio

Los ratones se asignaron aleatoriamente en cuatro grupos: 1) STZ-bioterio (BIO); los cuales no realizaron ninguna tarea, 2) STZ-control de nado (CN); fueron sometidos a 8 ensayos de entrenamiento con un intervalo de ensayo de 60s durante tres días en el laberinto acuático de Morris (LAM) sin acceso a la plataforma, 3) STZ-LAM1 quienes fueron entrenados en el LAM en 8 ensayos con un intervalo de sesión de 60s durante una sesión o 4) STZ-LAM3 realizaron 8 ensayos durante tres sesiones de entrenamiento, todos los grupos con sus respectivos controles (VEH).

VEH- icv	BIO (4)	CN (4)	LAM1 (8)	LAM3 (8)
STZ- icv	BIO (4)	CN (4)	LAM1 (12)	LAM3 (10)

Tabla 1. Asignación de los animales en los cuatro grupos. VEH-icv: administración de líquido cefalorraquídeo, STZ-icv: administración de estreptozotocina intracerebroventricular. BIO: grupo bioterio, CN: grupo control de nado, LAM1: laberinto acuático de Morris con una sesión de entrenamiento y LAM3: laberinto acuático de Morris con tres sesiones de ensayos. Dentro de los paréntesis se encuentra la cantidad de animales experimentales en cada grupo.

Laberinto acuático de Morris (LAM)

Antes de comenzar con la tarea conductual, los animales fueron manipulados con la técnica albóndiga, por tres minutos diariamente durante tres días consecutivos. Para adaptarse a las condiciones del investigador.

Esta tarea de LAM consiste en un tanque circular negro, con 100 cm de diámetro, 60 cm de altura, con una plataforma negra sumergida 0.5 cm bajo la superficie del agua, colocada en una posición fija, rodeada de varias señales espaciales en un cuarto con poca luz. Este tanque se llena con agua a una temperatura de $21 \pm 1^\circ\text{C}$. Además, se conectó una cámara en medio del cuarto para grabar la conducta del ratón.

La conducta comienza cuando el animal es depositado sobre la plataforma, para que haga conocimiento de esta, permanece sobre ella 20 s y posteriormente, se extrae del tanque. A continuación, el ratón es colocado en el tanque desde un punto de inicio, existen 4 puntos de inicio, todos con la misma distancia hacia la plataforma. Se inicia por el punto 1; que es el primer ensayo; se deja nadando por 60 s, de los cuales tiene que usar para encontrar la plataforma, si el ratón no localiza la plataforma, se le guía con la mano hacia ella y se deja ahí por 20 s. En el segundo ensayo se deja nuevamente nadando libre, pero si esta vez no encuentra la plataforma, se retira y se deja en reposo por 30 s. En los siguientes seis ensayos restantes el ratón es liberado de los puntos de inicio faltantes, para trabajar la misma mecánica del nado de 60 s; para que logre encontrar la plataforma (Figura 10).

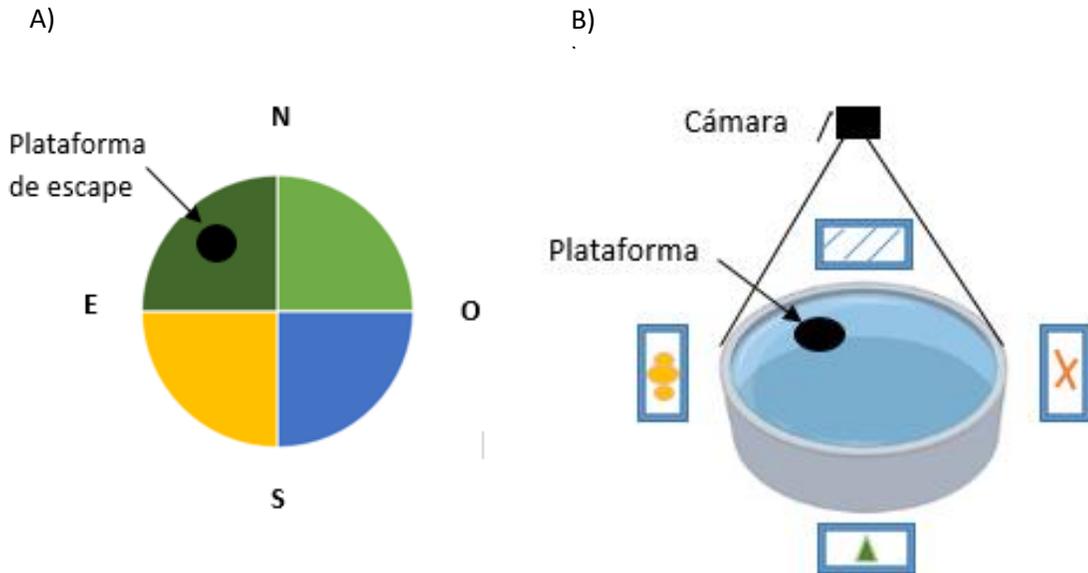


Figura 10. A) Representación del tanque acuático de Morris con su plataforma de escape, mostrando la división imaginaria de los cuadrantes, dividiéndolo en norte (N), sur (S), este (E) y oeste (O). B) Tanque acuático de Morris, mostrando las señales espaciales para los animales, alrededor de este, colocados al norte, sur, este y oeste.

Una vez iniciada la conducta, se comienza a medir la latencia de escape de cada animal durante los ensayos, para comprobar que haya un aprendizaje en estos, al igual se mide la velocidad de nado para poder discernir entre el aprendizaje y el desempeño motor en los animales.

Eutanasia y extracción de cerebros

Una vez concluida la conducta, se realizó la eutanasia a los animales; una hora después de la tarea realizada. Éstos fueron anestesiados con pentobarbital (100 mg/kg) y posteriormente se extrajo el tejido cerebral utilizando la técnica de decapitación. Los cerebros fueron extraídos rápidamente y fueron sumergidos en 2-metil butano, colocado en baño de alcohol etílico al 96% en hielo seco. Los cerebros congelados fueron colocados en papel aluminio, donde se colocaron los grupos de los animales y se guardaron en el congelador.

Criosección

Una semana después de permanecer en congelación, se realizó el montaje de los cerebros en bloques, para proseguir a realizar los cortes y obtener el hipocampo dorsal (-1.82mm a -2.18mm con respecto a Bregma; Paxinos & Franklin, 2001). Estos cortes se realizaron en el criostato, con un grosor de 20 μ m. Se obtuvieron cuatro bloques, tres de estos con 10 cerebros cada uno. Para que el tejido cerebral se congelara en los bloques se les colocó el pegamento especial Tissue tek. Estos bloques se nombran con letras del alfabeto, de la A a la J y el último bloque sólo contó con cuatro cerebros únicamente.

Cada cerebro pertenecía a un ratón de diferente condición. Por último, los tejidos se colocaron en portaobjetos previamente gelatinizados para que el material se adhiriera correctamente. Para el análisis de datos en el microscopio se utilizaron 18 portaobjetos; aproximadamente 4 laminillas por cada bloque.

Inmunohistoquímica de fluorescencia para DCX

Se seleccionaron cortes seriados (equivalentes y equidistantes) que contenían el hipocampo dorsal (-1.82mm a -2.18mm con respecto a Bregma; Paxinos & Franlikn, 2001). Los cortes fueron fijados con paraformaldehído (PFA) al 2%, seguido de lavados en solución salina tamponada con fosfato, más tween (PBST), posteriormente lavados en solución salina tamponada con fosfato (PBS), se aplicó el Quenching (H_2O_2), a continuación, se realizaron lavados en PBS, se colocó la solución de bloqueo (TSA + tritón) y por último, se aplicó el anticuerpo primario hecho en conejo para DCX (1:500) toda la noche a 4°C. El segundo día se comenzó con lavados de PBST, luego de PBS, en seguida se colocó el anticuerpo secundario, anti-conejo (1:300) por dos horas a temperatura ambiente. Seguido de eso se hicieron lavados en PBST y PBS. Después se aplicó la solución de amplificación (A+B), a continuación, se realizaron lavados de PBST y PBS. Inmediatamente, se agregó el fluoroforo Cy3 (1:100) por 30 min. En seguida se realizaron lavados con PBST y PBS. Finalmente se aplicó DAPI disuelto en PBS (1:5000).

Captura y análisis de imágenes

Al obtener las muestras fluorescentes, se acudió a la Unidad de microscopía para capturar las fotografías de los tejidos en el microscopio semiconfocal APOTOME marca ZEISS. Se utilizó el programa AxioVision, se seleccionó el formato Z-stack y se utilizaron 0.7 μm de grosor. Posteriormente, se prosiguió con la toma de fotos del giro dentado en ambos hemisferios, en las zonas del ginu, de la banda superior y de la banda inferior, la captura de las bandas se realizó en una sola fotografía, por lo tanto, se obtuvieron aproximadamente cuatro fotos por cada cerebro, en todas las fotografías se trabajó con el objetivo 40x/1.25.

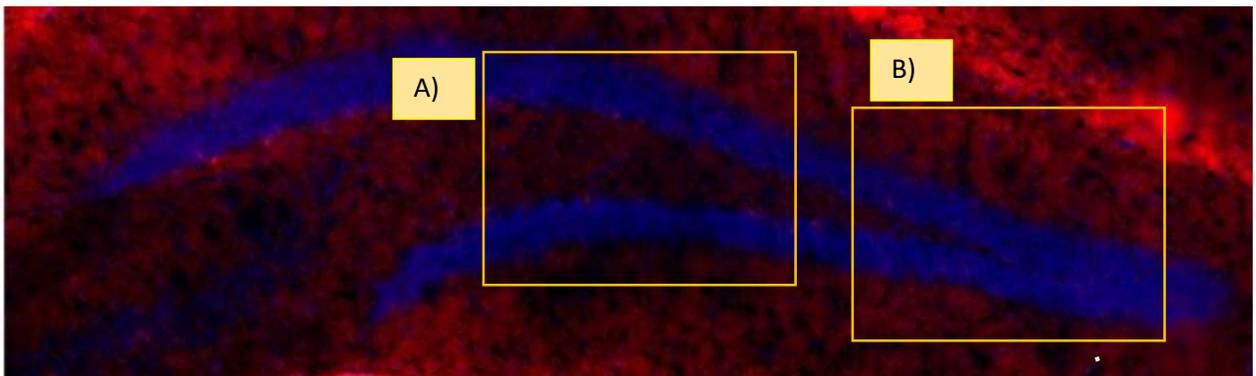


Figura 11. Microfotografía del giro dentado obtenido con el objetivo de 10x. En color rojo se observa la proteína DCX, y en color azul se observan los núcleos marcados con DAPI. Los recuadros amarillos muestran las zonas en las que se tomaron las fotografías. A) Banda suprapiramidal (banda superior, respecto al CA1) y banda infrapiramidal, (banda inferior, respecto a CA1) B) ginu. Barra de escala de 50 μm .

Las fotografías de las diferentes regiones del GD se analizaron con el programa imageJ, primeramente, se realizó un apilamiento de las fotos, desde el primer punto de enfoque, hasta el último, para obtener una sola imagen con la máxima intensidad, todo esto para analizar la proteína doblecortina total en las regiones de interés (ginu, banda suprapiramidal y banda infrapiramidal del giro dentado del hipocampo dorsal) (Figura 11).

Posteriormente, con ayuda del marcador DAPI se delimitaron las regiones de interés: el ginu, las bandas suprapiramidal e infrapiramidal, obteniendo una región de interés (ROI) de cada foto. Posteriormente, se les aplicó un threshold, que permite la detección y cuantificación de la proteína doblecortina de forma automatizada y evitando sesgos, para obtener los datos numéricos del área que ocupa la proteína DCX en las regiones previamente mencionadas (Figura 12).

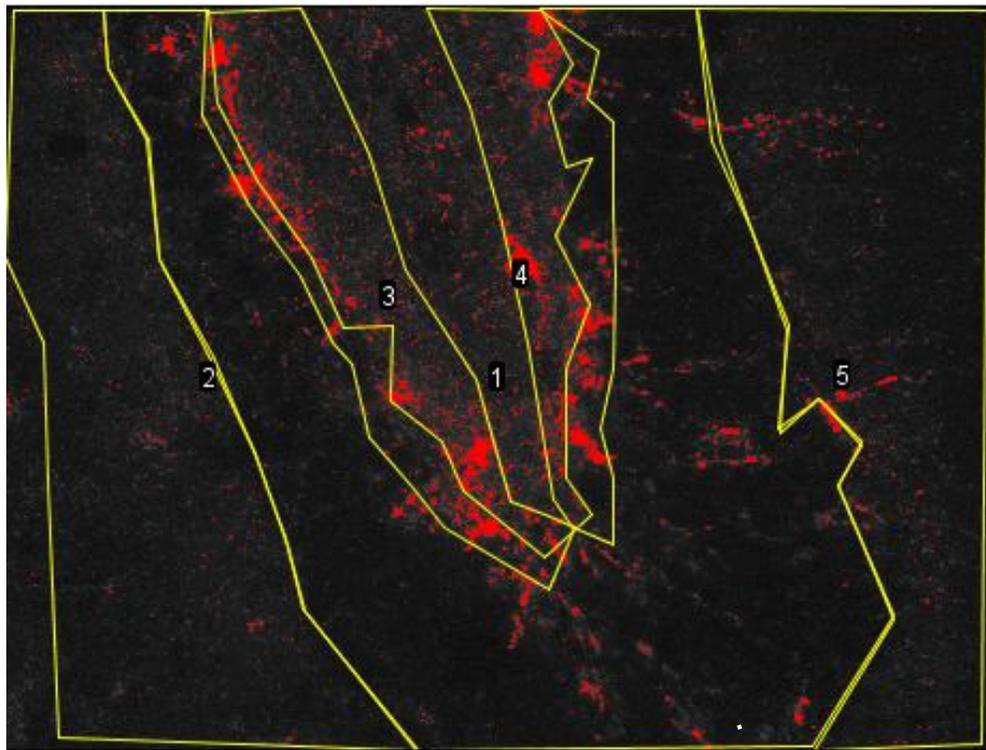


Figura 12. Delimitación del ginu del hipocampo dorsal, el color amarillo indica la delimitación de las capas: 1) ginu, 2) capa molecular (CM), 3) zona subgranular (ZSG), 4) zona subgranular (ZSG) y 5) capa molecular (CM). Color rojo: proteína doblecortina. Barra de escala 50 µm.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de las pruebas conductuales e histológicas fue realizado en el GraphPad Prism software. Los resultados obtenidos del peso corporal, la latencia de escape, la velocidad de nado y la proporción del área de DCX fueron expresados con el promedio (\pm error estándar). Se utilizó la prueba estadística ANOVA de dos vías para el análisis del peso corporal, la velocidad de nado y la proporción del área que ocupa la proteína DCX, mientras que para la latencia de escape se implementó la ANOVA de tres vías, posteriormente se aplicó la prueba post hoc de Bonferroni cuando la ANOVA mostraba un valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Peso corporal

El ANOVA de dos vías de medidas repetidas mostró diferencias significativas en el peso corporal en el factor tiempo ($F_{(8,8)} = 82.990$, $P < 0.001$) y en la interacción tiempo x tratamiento ($F_{(8,360)} = 2.979$, $P = 0.0030$), sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el factor tratamiento ($F_{(1,45)} = 0.126$, $P = 0.7244$). La prueba post hoc de Bonferroni muestra una disminución del peso significativo en el día 3 con respecto al día 1 en los grupos VEH ($P < 0.0001$) y STZ ($P < 0.0001$), indicando que este es un efecto quirúrgico. En el día 8 se puede observar que los grupos STZ van recuperando su peso con respecto al día 3 ($P < 0.01$), mientras que los grupos VEH consiguen esta recuperación el día 11 ($P < 0.01$). Posteriormente, en el día 11 ambos grupos alcanzan su peso asemejándose al día 1 ($P < 0.0001$). El día 22 los grupos VEH aumentan de peso con respecto al día 1 ($P < 0.01$), y los grupos STZ el día 15 ($P < 0.05$), indicando un crecimiento en los animales (Figura 13). La medición del peso corporal de los animales se realizó con la finalidad de observar que los estos no presentaran cambios metabólicos, indicativo de que la estreptozotocina intracerebroventricular no atravesó la barrera hematoencefálica y, se mantuvo en los ventrículos laterales.

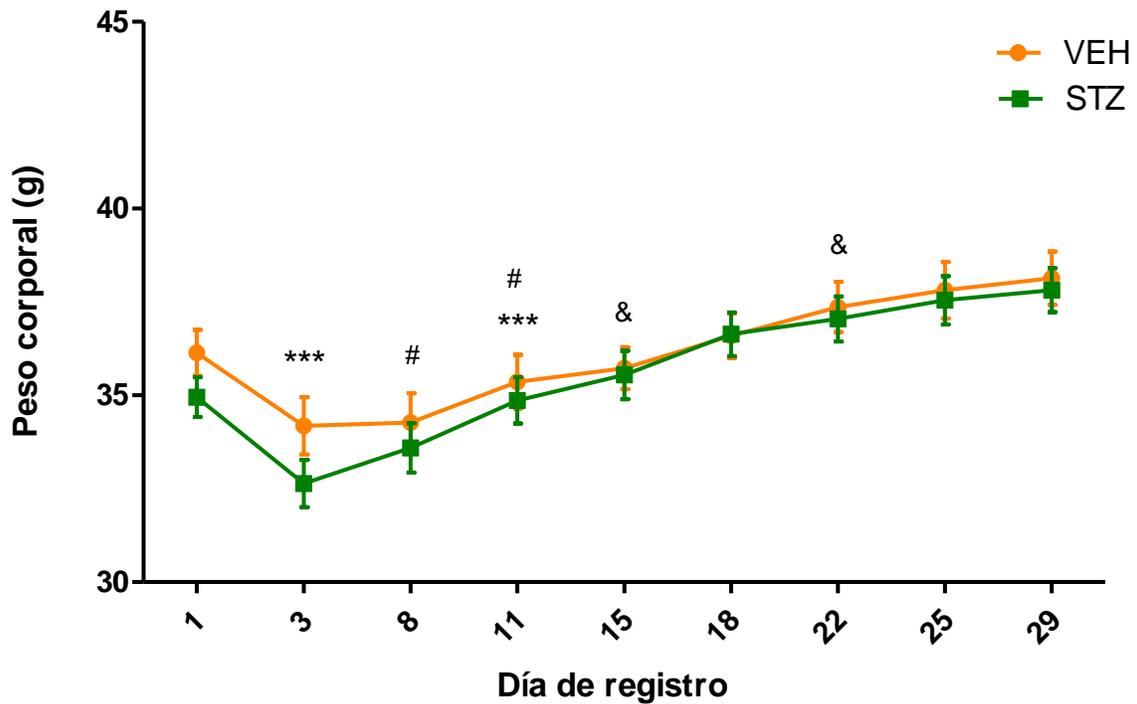


Figura 13. Promedio (\pm error estándar) del peso corporal de los ratones del grupo vehículo (VEH) y estreptozotocina (STZ) registrado desde el día 1 al día 29. *** $P < 0.0001$ con respecto al día 1; # $P < 0.01$ con respecto al día 3; & $P < 0.05$ con respecto al día 15. $n=24-30$ ratones por grupo.

Aprendizaje espacial en el laberinto acuático de Morris

El ANOVA de tres vías de medidas repetidas mostró diferencias significativas en la latencia de escape en el factor pares de ensayos ($F_{(3,3)} = 11.115$, $P < 0.0001$). Mientras que en las interacciones no muestra diferencias significativas; ensayos x tratamiento ($F_{(3,3)} = 2.524$, $P = 0.618$), ensayos x grupos ($F_{(3,3)} = 0.641$, $P = 0.5906$), ensayos x grupo x tratamiento ($F_{(3,102)} = 0.485$, $P = 0.6938$), sin embargo no se mostraron diferencias significativas en el tratamiento ($F_{(1,1)} = 3.380$, $P = 0.747$) y en los grupos ($F_{(3,3)} = 11.115$, $P = 0.7706$). La prueba post hoc de Bonferroni muestra una disminución significativa en la latencia de escape en el par de ensayos tres y cuatro ($P < 0.0171$), ($P < 0.0009$), con respecto al par de ensayos uno, en el grupo VEH LAM 1. Mientras que para el grupo VEH LAM 3, se muestra una diferencia significativa en la latencia de escape en los pares de ensayos tres y cuatro ($P < 0.0158$), ($P < 0.0013$), respecto al par de ensayo uno. En los grupos de STZ LAM 1 y STZ LAM 3, no se muestran diferencias significativas en la latencia de escape entre los pares de ensayos en el día uno, indicando el deterioro cognitivo de los animales. (Figura 14).

El ANOVA de dos vías de medidas repetidas mostró diferencias significativas la latencia de escape en el factor pares de ensayos ($F_{(11,11)} = 1.188$, $P < 0.001$); y tratamiento ($F_{(1,16)} = 4.631$, $P < 0.0470$), mientras que en la interacción tratamiento x ensayo no muestra diferencia significativa ($F_{(11,176)} = 1.188$, $P = 0.2982$). La prueba post hoc de Bonferroni muestra una disminución en la latencia de escape en el grupo VEH LAM 3, en el segundo, tercer y cuarto pares de ensayos del segundo día ($P < 0.0192$), ($P < 0.003$), ($P < 0.0086$), con respecto al primer par de ensayos del día 1. Al igual se ve una diferencia significativa en los cuatro pares de ensayos del tercer día, con respecto al primer día ($P < 0.0001$ para todas las comparaciones). Lo que muestra el aprendizaje de estos animales. Por otra parte, en el grupo de STZ LAM 3, se mostró una diferencia significativa en el cuarto par de ensayos del día dos con respecto al par de ensayos del día 1 ($P < 0.0437$). En los cuatro pares de ensayos del día tres, con respecto al primer par de ensayos del día uno se presentó una diferencia significativa ($P < 0.01779$, ($P < 0.0298$), ($P < 0.0164$), ($P < 0.0431$). Mostrando su aprendizaje a partir del cuarto par de ensayos del día dos. Teniendo como importancia clínica una ralentización del deterioro cognitivo en los pacientes con EA.

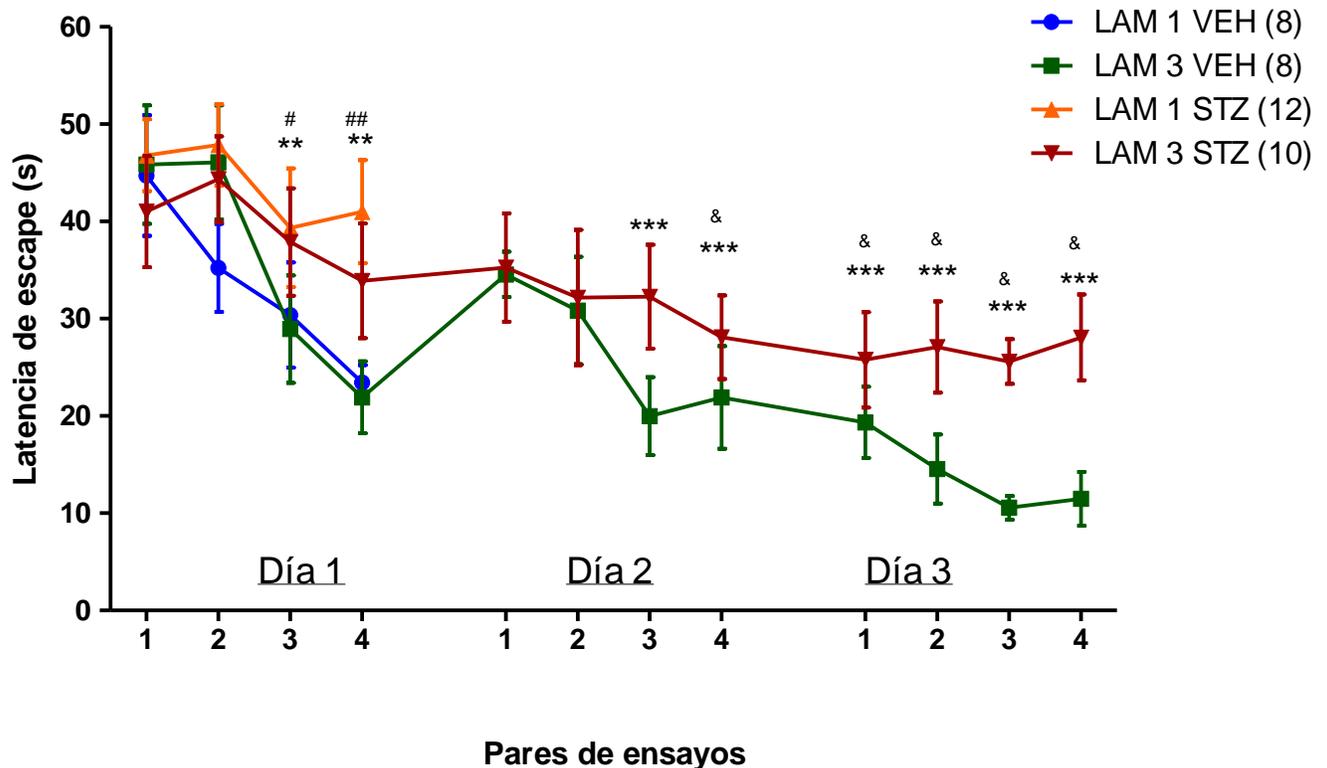


Figura 14. Promedio (\pm error estándar) de aprendizaje espacial en laberinto acuático de Morris de los ratones del grupo vehículo (VEH) y estreptozotocina (STZ) registrados en pares de ensayos desde el día 1 al día 3. LAM1 VEH # $P < 0.01$ a $P < 0.05$ con respecto a E1. LAM3 VEH * $P < 0.0001$ a $P < 0.05$ con respecto al E1. LAM3 STZ & $P < 0.05$ con respecto a E1. n= 8-12 ratones por grupo.

Velocidad de nado

El ANOVA de dos vías no muestra diferencias significativas en la velocidad de nado en el factor tiempo ($F_{(3, 57)} = 1.032$, $P = 0.3853$); el factor tratamiento ($F_{(1, 19)} = 0.002797$, $P = 0.9584$); ni en la interacción tiempo x tratamiento ($F_{(3, 57)} = 0.08812$, $P = 0.9663$), esto indica que los animales a los que se les administró STZ-icv no tuvieron algún problema motor y que las alteraciones observadas previamente en el aprendizaje espacial son cognitivas específicamente. (Figura 15).

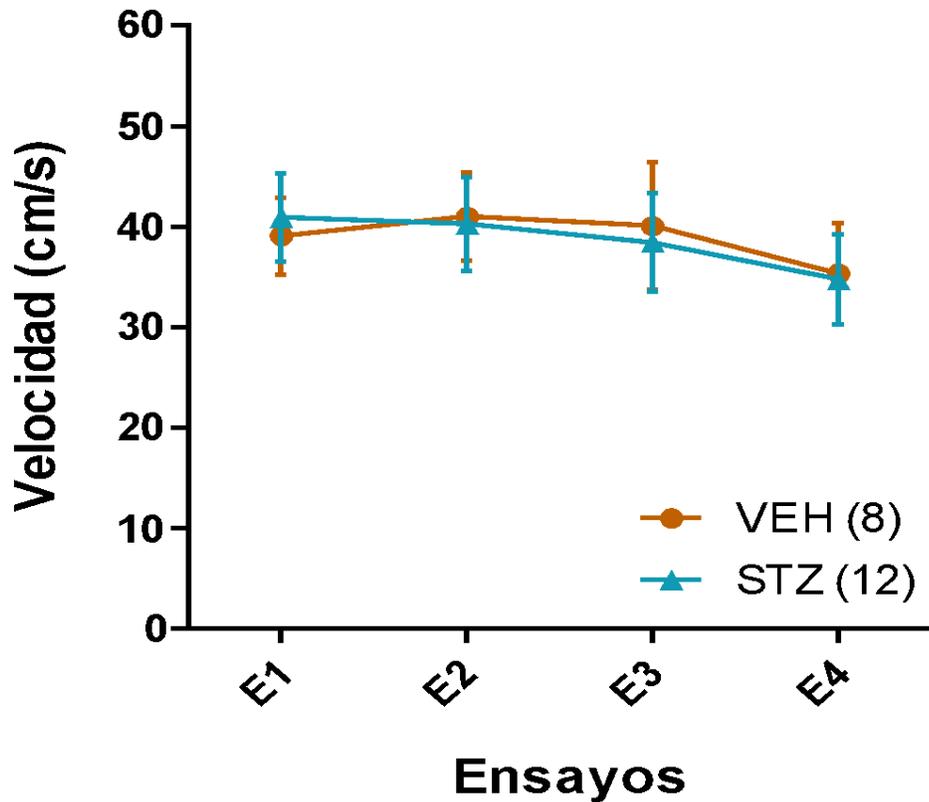


Figura. 15. Promedio (\pm error estándar) de la velocidad de nado de los ratones del grupo vehículo (VEH) y estreptozotocina (STZ). No se muestran diferencias significativas entre ambos grupos. $n = 16-22$ ratones por grupo.

Neurogénesis hipocampal en el adulto

Proporción del área de la proteína DCX en el gine del GD del hipocampo

El ANOVA de dos vías muestra diferencias significativas en la proporción del área que ocupa la proteína DCX en el gine del GD en el factor tratamiento ($F_{(3,1)} = 9.304$, $P = 0.0006$) y el factor grupo ($F_{(1,3)} = 0.1535$, $P = 0.0390$), mientras que en la interacción tratamiento x grupo no se muestra una diferencia significativa ($F_{(1,3)} = 3.437$, $P = 0.6998$). La prueba post hoc Bonferroni muestra una disminución significativa en la proporción del área de la proteína DCX en el grupo STZ BIO con respecto al grupo

VEH BIO ($P < 0.01$), indicando una baja tasa de la neurogénesis en el adulto. Por otra parte, el grupo STZ LAM3, mostró un aumento significativo en la tasa neurogénica, con respecto al grupo VEH LAM3 ($P < 0.05$), tras un sobreentrenamiento cognitivo (Figura 16).

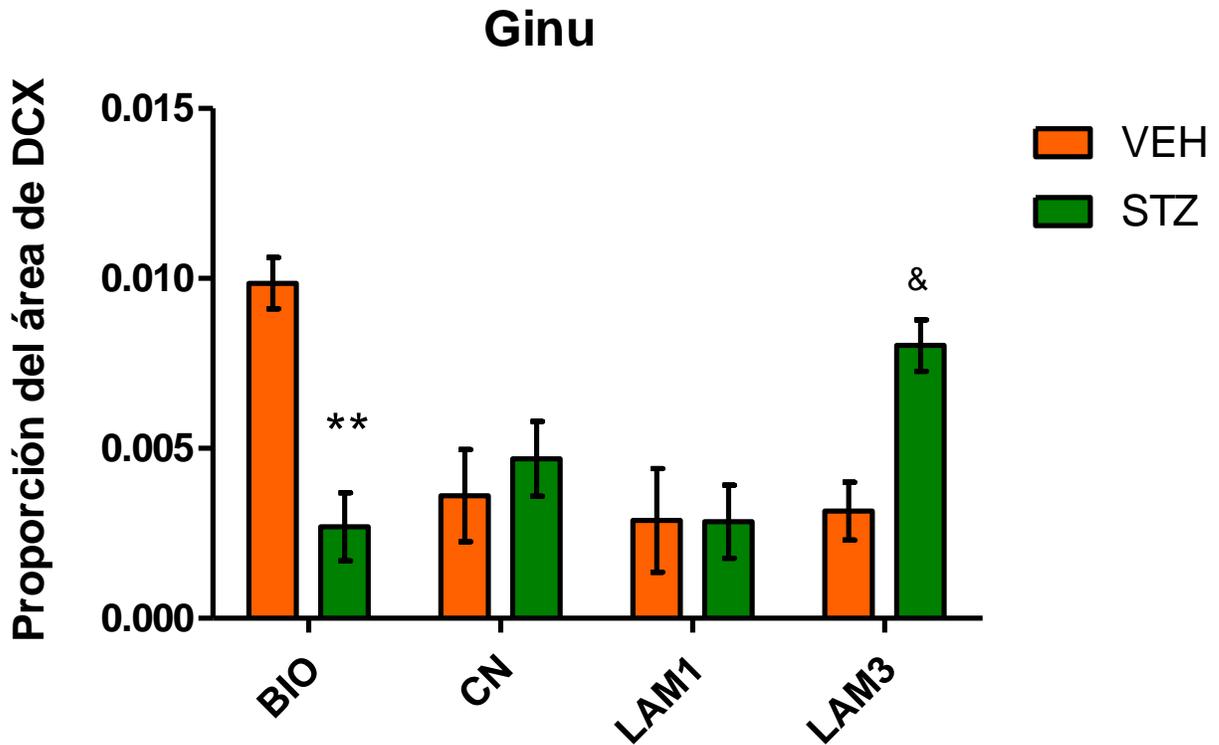


Figura 16. Promedio (\pm error estándar) de la proporción del área que ocupa la proteína DCX en el ginu del GD de los ratones del grupo vehículo (VEH) y estreptozotocina (STZ). * $P < 0.01$ con respecto a BIO VEH. & $P < 0.05$ con respecto a LAM3 VEH. $n = 4$ ratones por grupo.

Proporción del área de la proteína DCX en la banda suprapiramidal del GD del hipocampo

El ANOVA de dos vías no muestra diferencias significativas en la proporción del área que ocupa DCX en la banda suprapiramidal del GD, en el factor tratamiento ($F_{(1,3)} = 0.005178$, $P = 0.9434$), en el factor grupo ($F_{(1,3)} = 0.3885$, $P = 0.7625$), ni en la interacción ($F_{(3,1)} = 1.303$, $P = 0.3011$) (Figura 17).

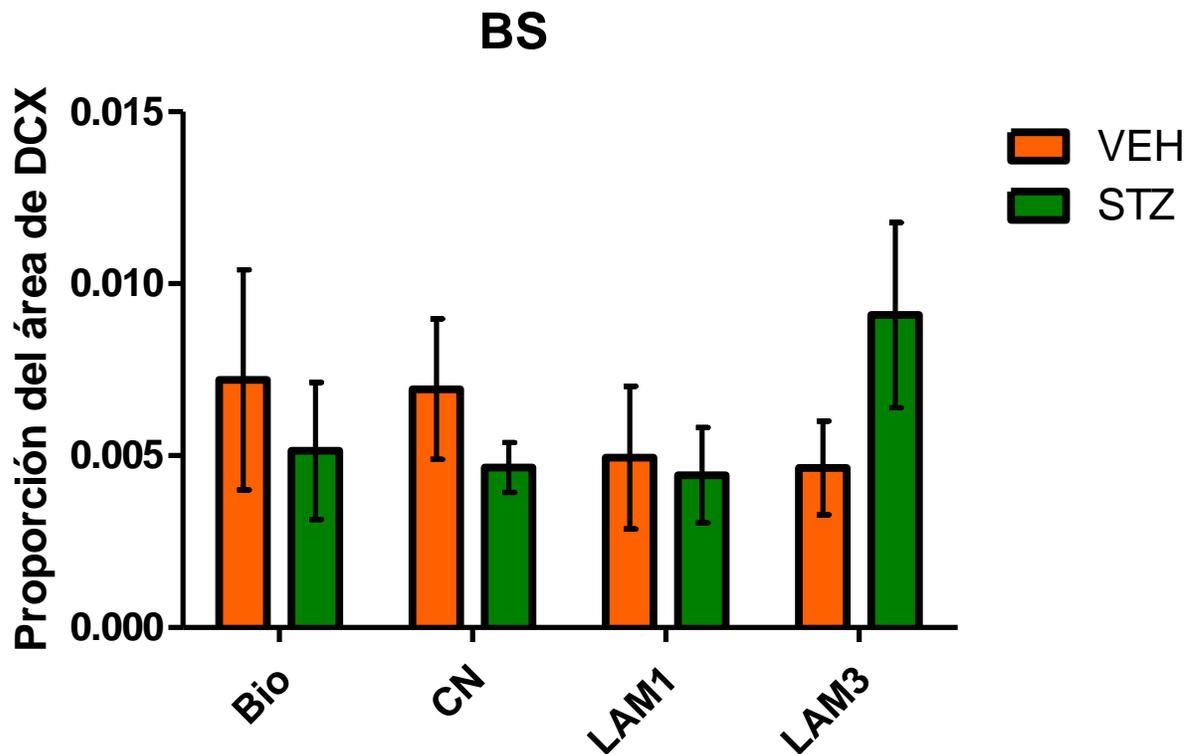


Figura 17. Promedio (\pm error estándar) de la proporción del área que ocupa la proteína DCX en la banda suprapiramidal (BS) del GD de los ratones del grupo vehículo (VEH) y estreptozotocina (STZ). No se encuentra ninguna diferencia significativa entre los grupos. $n=4$ ratones por grupo.

Proporción del área de la proteína DCX en la banda infrapiramidal del GD del hipocampo

El ANOVA de dos vías no muestra una diferencia significativa en la proporción del área que ocupa la proteína DCX en la banda infrapiramidal del GD, el factor tratamiento ($F_{(1,3)} = 0.1857$, $P = 0.6731$), ni en el factor grupo ($F_{(1,3)} = 1.073$, $P = 0.3920$) mientras que en la interacción si se encontró una diferencia significativa ($F_{(3,1)} = 8.697$, $P = 0.0017$). La prueba post hoc Bonferroni muestra una disminución en proporción del área de DCX en el grupo BIO STZ ($P < 0.05$), con respecto al grupo BIO VEH, esto indicando un deterioro cognitivo en estos animales (Figura 18).

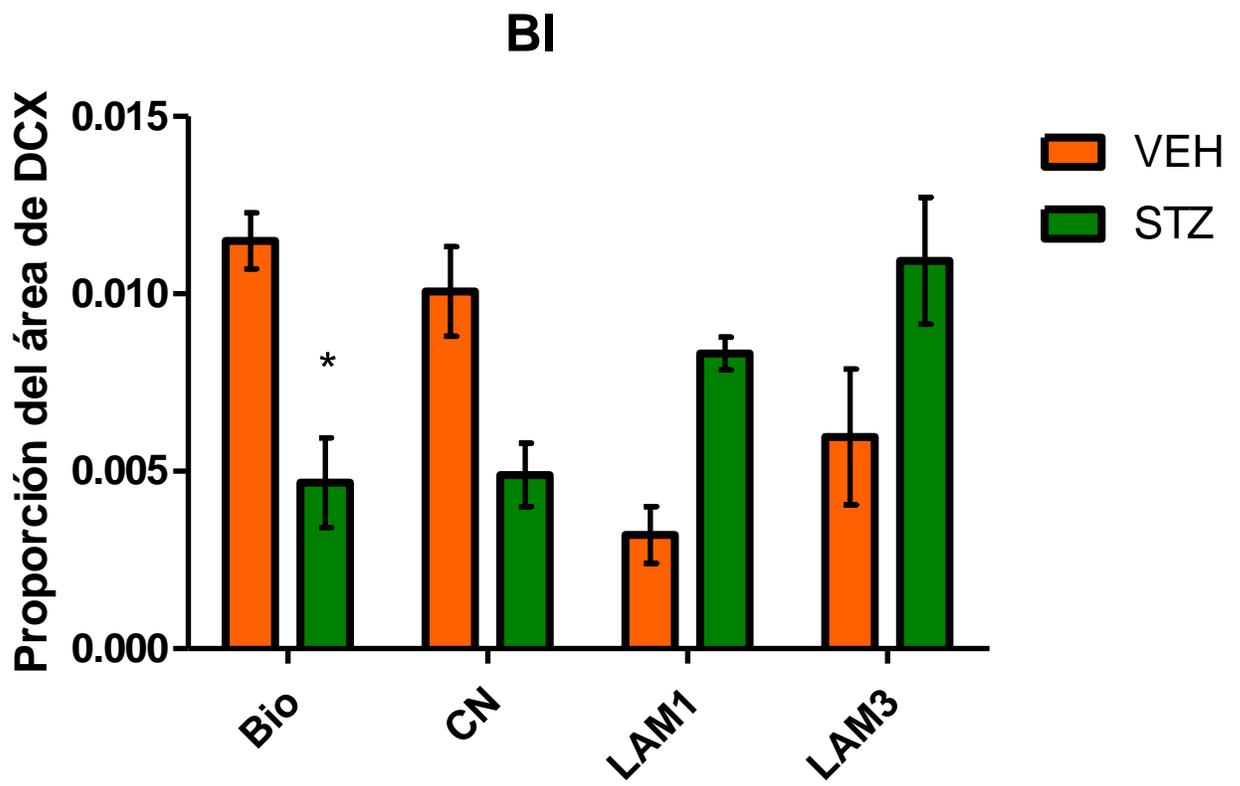


Figura 18. Promedio (\pm error estándar) de la proporción del área que ocupa DCX en la banda infrapiramidal (BI) del GD de los ratones del grupo vehículo (VEH) y estreptozotocina (STZ). *P < 0.01 con respecto a BIO VEH. n= 4 ratones por grupo.

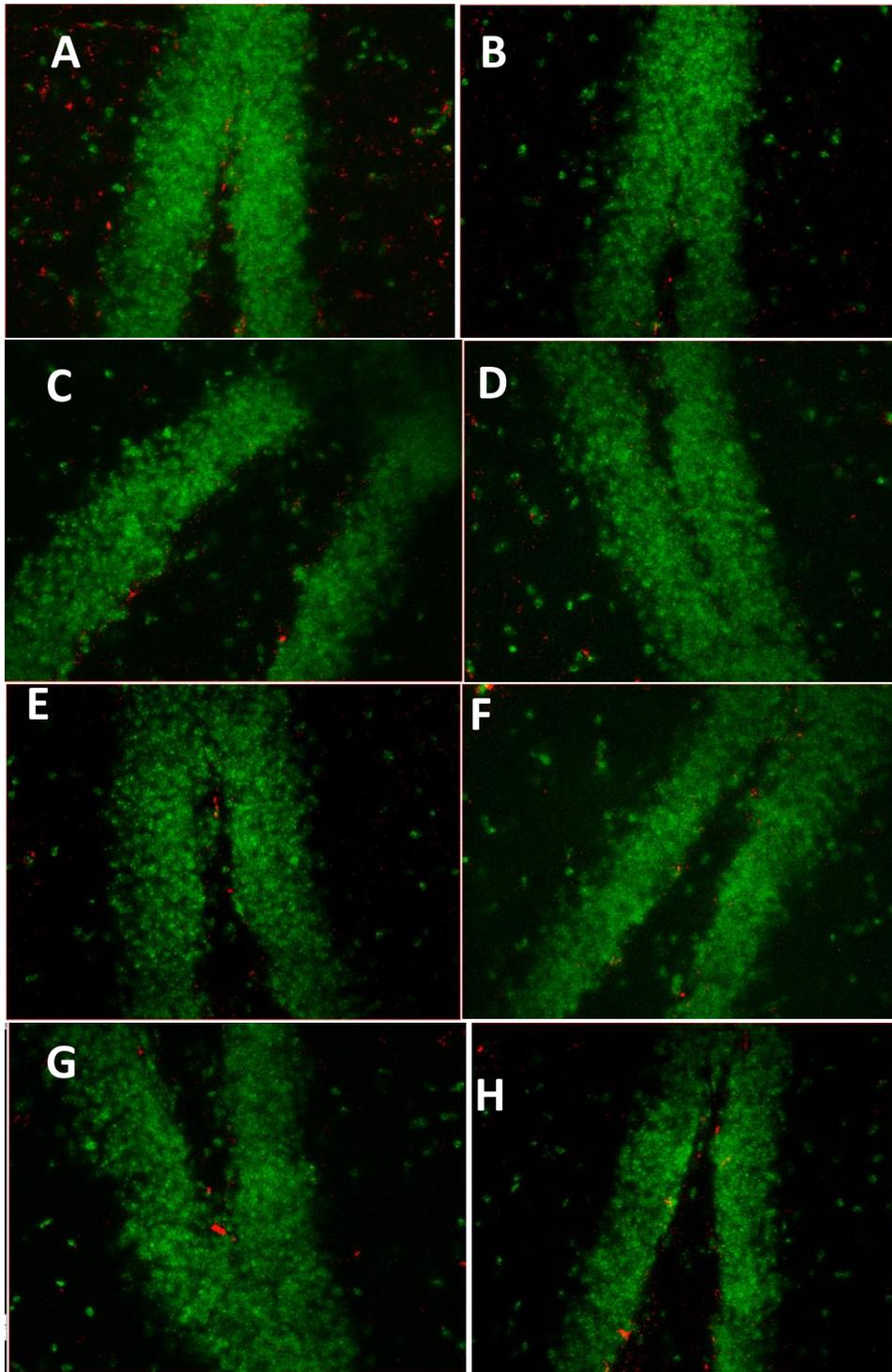


Figura 19. Microfotografía obtenida en el microscopio Apotome, con un objetivo de 40x en donde se observa el Ginu de color verde y neurogénesis postnatal (DCX) de color rojo en los diferentes grupos: A) BIO-VEH, B) BIO-STZ, C) CN-VEH, D) CN-STZ, E) LAM1- VEH, F) LAM1- STZ, G) LAM3- VEH, H) LAM3- STZ.

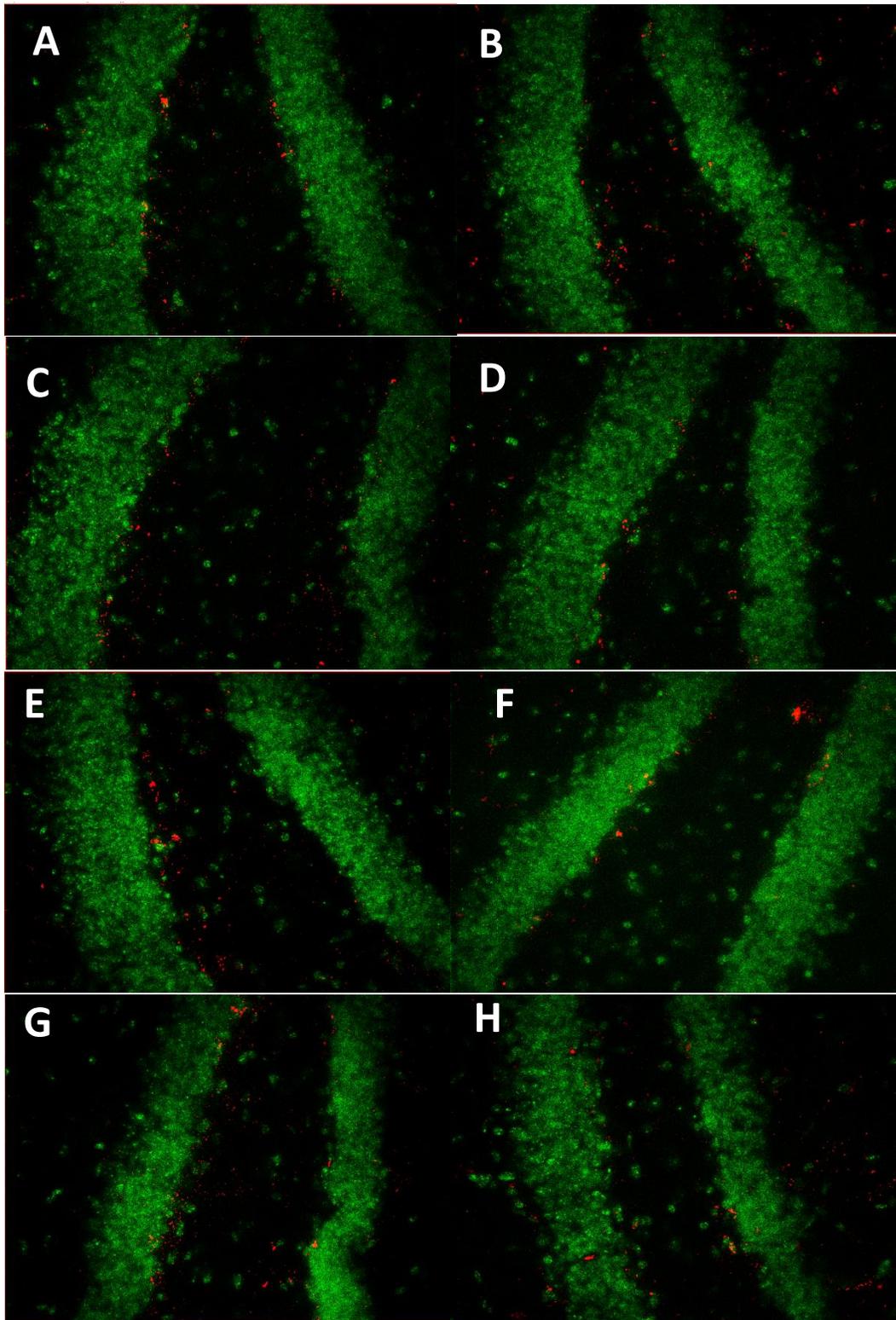


Figura 20. Microfotografía obtenida en el microscopio Apotome, con el objetivo de 40x, en donde se observa la banda suprapiramidal e infrapiramidal de color verde y neurogénesis adulta (DCX) de color rojo en los diferentes grupos: A) BIO-VEH, B) BIO-STZ, C) CN-VEH, D) CN-STZ, E) LAM1- VEH, F) LAM1- STZ, G) LAM3- VEH, H) LAM3- STZ

DISCUSIÓN

En el presente estudio se puede observar una disminución considerable del peso corporal, en ambos grupos de animales, tanto en los VEH, como en el de STZ, tras la administración de los compuestos administrados intracerebroventricular, indicándonos una respuesta del organismo de éstos, post operatoria. Al igual se mostraron cambios en la conducta en el grupo LAM1-VEH, al realizar un solo entrenamiento, obteniendo un aprendizaje espacial normal, el grupo LAM3-VEH, tras realizar un sobreentrenamiento cognitivo mostró un aprendizaje espacial incrementado. Mientras que el grupo de LAM1-STZ presentó un deterioro cognitivo, y en el LAM3-STZ se obtuvo un aprendizaje normal, luego del sobreentrenamiento. También se mostró que la administración de STZ icv no provocó alteraciones en la motricidad de los ratones. Histológicamente, en la proporción del área de la proteína doblecortina en los animales con STZ, tras un sobreentrenamiento se observó esta proteína incrementada en el giro dentado en el ginu y en la banda infrapiramidal del hipocampo dorsal, revirtiendo el efecto de la STZ icv, generando una neurogénesis en estas áreas.

Un efecto que provocó la cirugía estereotáxica fue la disminución del peso corporal en los animales, esto indicando un periodo post-operatorio. Esta baja del peso corporal se observó en los primeros tres días, que fue cuando se realizó dicho procedimiento, al cabo del día 8 ambos animales comenzaron a incrementar su peso, esto indicándonos una buena recuperación tras la cirugía. (Bello-Medina, et. Al, en preparación)

En 2013, Garthe y Kempermann, observaron que el aprendizaje y la memoria son dependientes del hipocampo, sobre todo la memoria espacial. Por ello, propusieron como tarea conductual el laberinto acuático de Morris, debido a que este se enfoca en trabajar la memoria espacial. En 2018, Sandeep y colaboradores, observaron que la STZ-icv produce en los animales los efectos de deterioro cognitivo y pérdida de la memoria. Por lo tanto, a los animales del presente estudio que se les aplicó STZ icv presentaron un deterioro cognitivo, en el aprendizaje y memoria espacial, tras la administración de 3kg/mg de STZ, tal como los menciona Bassani et al., (2017), Mishra et al., (2017), Sasaki-Hamada et al., (2019). Esto dando a conocer los efectos que produce este compuesto, sobre todo en el área del hipocampo, en donde se manifiestan con la alteración del aprendizaje espacial, como lo presentan los animales con STZ icv, comparados con los ratones VEH icv, los cuales tuvieron una curva de aprendizaje normal, tras una sesión de entrenamiento. Mientras que para los animales que llevaron a cabo un sobreentrenamiento se pudo observar en ellos un aprendizaje incrementado, ya antes

mencionado por Ramírez Amaya et al., en el año 2001, al observar una mayor sinaptogénesis en las fibras musgosas del estrato *oriens* en el hipocampo.

Como se mencionó anteriormente, luego de la administración intracerebroventricular de la STZ, los animales que realizaron un solo entrenamiento presentaron deficiencias en el aprendizaje espacial, pero aquellos roedores que practicaron un sobreentrenamiento en el LAM, mostraron una curva de aprendizaje normal. Tal como Morris en 1990, implementó esta tarea en el laberinto acuático, donde los animales realizaron sobreentrenamiento. Al realizar esta tarea cognitiva en ratas con lesiones cerebrales encontró resultados satisfactorios como un aprendizaje en estas, a pesar de su condición.

Por ello, en este trabajo también se implementó la tarea conductual del sobreentrenamiento en el laberinto acuático de Morris para poder analizar los efectos que causa en los animales a los que se les inyectó la STZ-icv. Dentro de los hallazgos que se obtuvieron fue que estos ratones en la segunda sesión, luego de 8 ensayos cada uno, comenzaban a tener un mayor aprendizaje, en comparación con los animales que sólo realizaron una sesión. Y al cabo de realizar las 3 sesiones en el laberinto acuático de Morris, presentaron un aprendizaje normal. Se llegó a esto luego de observar que se comportan idéntico a los animales que se les inyectó la solución vehículo y realizaron únicamente una sesión de entrenamiento.

Al igual Gómez -Padilla et al., (2020), tras realizar un sobreentrenamiento en ratas, al finalizarlo observó un aumento significativo en la densidad de las excrescencias espinosas, en las dendritas basales de las neuronas piramidales en el CA3 del hipocampo, generando plasticidad cerebral en estos animales, la cual es la encargada de mejorar el aprendizaje.

Por otro lado, en los resultados obtenidos en la histología se puede ver cómo hay diferencias significativas únicamente en los grupos BIO-VEH, mostrando un aumento en la proporción del área de la DCX, demostrando una mayor neurogénesis. Pudiendo indicar, que aquellos animales que realizaron un ejercicio físico, encontrándose en condiciones basales, sin padecer la enfermedad del Alzheimer, no aumentaron la proporción del área de la proteína DCX. En el grupo LAM1-STZ, se observa como la proporción del área de la DCX, se comporta como el grupo LAM1-VEH, sin mostrar cambios significativos en la neurogénesis (proporción de DCX) de estos grupos.

Mientras que en el grupo LAM3-STZ, se observa histológicamente como la proporción del área de la DXC aumentó, después de realizar el sobreentrenamiento indicando un aumento en la neurogénesis, lo que se relaciona con la mejoría en el aprendizaje espacial observado en este mismo grupo. Así mismo, el aumento en la tasa neurogénica podría estar relacionada con el aumento en las fibras musgosas observadas por Ramírez-Amaya et al., 1999, debido a que el aumento de estas fibras está ligado a una mayor producción en los axones de las células granulares provenientes del giro dentado del hipocampo y dicha neurogénesis adulta ocurre en el mismo sitio.

Por ende, en este trabajo se encontró una mejora en el aprendizaje espacial de aquellos animales a los que se les aplicó STZ icv, al revertir los efectos que provoca este compuesto, tras el sobreentrenamiento en el LAM, también se encontró el aumento de la proporción de la DCX, dado a la neurogénesis que se produjo, gracias al aprendizaje que se obtuvo durante las tres sesiones de entrenamiento, ayudando a la memoria espacial, esto ligándose a Ramírez-Amaya 1999, en donde se produjo una mayor cantidad de sinapsis en el área del CA3, en el estrato *oriens*, indicando también una mayor cantidad de células granulares, provenientes consecuentemente de la neurogénesis que se llevó a cabo.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio pueden concluir:

El modelo de la estreptozotocina intracerebroventricular produjo alteraciones en el aprendizaje espacial, evaluado en el laberinto acuático de Morris, causando un deterioro cognitivo, en aquel grupo que realizó una sesión de entrenamiento. Por ende, también se presentaron alteraciones histológicas, como una disminución significativa en la neurogénesis hipocampal (proporción del área de la DCX).

En cuanto al aprendizaje espacial, en los roedores con STZ icv, luego de un sobreentrenamiento, se manifestó una curva de aprendizaje normal, parecido a aquellos animales sanos que realizaron una sola sesión de entrenamiento. Mientras que histológicamente mostraron un aumento significativo en la tasa neurogénica (proporción del área de DCX), relacionada con la mejora en el aprendizaje.

Por lo tanto, la estrategia del sobreentrenamiento cognitivo, en el LAM, involucra tanto el ámbito cognitivo, como el de la actividad física, para traducirse en una intervención eficaz para la EA esporádica.

Se sugiere realizar un protocolo en donde se analicen ambas actividades, en pacientes con EA, para observar el efecto producido en las habilidades cognitivas en ellos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, L. C., & Nigussie, F. (2020). Adult neurogenesis in the mammalian dentate gyrus. *Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia*, 49(1), 3–16.
<https://doi.org/10.1111/ahe.12496>
- Aguirre-Siancas, E. E. (2014a). La memoria y el aprendizaje y su relación con la masticación. *Rev. Mex. Neuroci*, 351–354. <https://doi.org/10.1037/13416-011>
- Aguirre-Siancas, E. E. (2014b). La memoria y el aprendizaje y su relación con la masticación Memory and learning and its relation to chewing. *Rev Mex Neuroci*, 15(6), 351–354.
- Alvarez-Buylla, A., & Lim, D. A. (2004). For the long run: Maintaining germinal niches in the adult brain. *Neuron*, 41(5), 683–686. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(04\)00111-4](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(04)00111-4)
- Amaral, David G, Schrfman Helen E., Lavenex, P. (2007). The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *National Institutes Of Healt*.
<https://doi.org/10.4155/bio-2018-0173>
- Amaral, D.G., & Witter, M. P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data. *Neuroscience*, 31(3), 571–591.
[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90424-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90424-7)
- Armstrong, R. A. (2013). What causes Alzheimer's disease? *Folia Neuropathologica*, 51(3), 169–188.
<https://doi.org/10.5114/fn.2013.37702>
- Arushanyan, É. B., & Beier, É. V. (2008). The hippocampus and cognitive impairments. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 38(8), 751–758. <https://doi.org/10.1007/s11055-008-9043-0>
- Baglietto-Vargas, D., Shi, J., Yaeger, D. M., Ager, R., & LaFerla, F. M. (2016). Diabetes and Alzheimer's disease crosstalk. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 64, 272–287.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.03.005>
- Balu, D. T., & Lucki, I. (2009). Adult hippocampal neurogenesis: Regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 33(3), 232–252.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.08.007>
- Bao, H., Asrican, B., Li, W., Gu, B., Wen, Z., Lim, S. A., Haniff, I., Ramakrishnan, C., Deisseroth, K., Philpot, B., & Song, J. (2017). Long-Range GABAergic Inputs Regulate Neural Stem Cell Quiescence and Control Adult Hippocampal Neurogenesis. *Cell Stem Cell*, 21(5), 604-617.e5.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.10.003>
- Bassani, T. B., Bonato, J. M., Machado, M. M. F., Oliveira, R. M. M. W., & Vital, M. A. B. F. (2017). *Decrease in Adult Neurogenesis and Neuroinflammation Are Involved in Spatial Memory*

Impairment in the Streptozotocin-Induced Model of Sporadic Alzheimer ' s Disease in Rats.

<https://doi.org/10.1007/s12035-017-0645-9>

Bello-Medina, P. C. (2011). *Las nuevas neuronas granulares del hipocampo en el procesamiento de información en la evocación de una memoria remota o reciente de reconocimiento de objetos.*

Bello Medina, P. C., González Franco, D., & Medina Andrea, C. (2018). *El hipocampo: historia, estructura y función.*

Benavides, F., & Guénet, J. (2003). Las líneas genéticamente estandarizadas y los controles de la pureza genética. *Manual de Genética de Roedores de Laboratorio. Pricipios Básicos y Aplicaciones, 1984*, 105–136. http://www.transtechsociety.org/benavides_guenet_2003.php

Bernal, G. M. P. (2017). *DEPENDENCIA EN ADULTOS MAYORES CON ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.* <http://dspace.uan.mx:8080/jspui/handle/123456789/1265>

Bernardo, T. C., Beleza, J., Rizo-Roca, D., Santos-Alves, E., Leal, C., Martins, M. J., Ascensão, A., & Magalhães, J. (2020). Physical exercise mitigates behavioral impairments in a rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research, 379*.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112358>

Cárdenas, A., Moro, M. A., Hurtado, O., Leza, J. C., & Lizasoain, I. (2005). Dual role of nitric oxide in adult neurogenesis. *Brain Research Reviews, 50*(1), 1–6.

<https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2005.03.006>

Castro-Sierra, E., Chico Ponce de León, F., Gordillo Domínguez, L. F., & Portugal Rivera, A. (2007). *NEUROTRANSMISORES DEL SISTEMA LÍMBICO. HIPOCAMPO, GABA Y MEMORIA. PRIMERA PARTE. 30*(4), 7–15.

Chen, Y., Tian, Z., Liang, Z., Sun, S., Dai, C. ling, Lee, M. H., LaFerla, F. M., Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Liu, F., & Gong, C. X. (2012). Brain Gene Expression of a Sporadic (icv-STZ Mouse) and a Familial Mouse Model (3xTg-AD Mouse) of Alzheimer's Disease. *PLoS ONE, 7*(12), 1–12.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051432>

Congcong, Q., , Xingxing Chen, X. G., Xu, J., And, S. L., & Ge, J. (2020). *Impaired learning and memory ability induced by a bilaterally hippocampal injection of streptozotocin in mice: involved with the adaptive changes of synaptic plasticity. 1–47.*

Corrales, P. A. (2015). *Estudio de los efectos protectores del tratamiento crónico con melatonina sobre los déficits cognitivos del ratón Ts65Dn : un modelo de síndrome de Down.* Universidad de Cantabria.

Correia, S. C., Santos, R. X., Perry, G., Zhu, X., Moreira, P. I., & Smith, M. A. (2011). *Insulin-resistant*

brain state : The culprit in sporadic Alzheimer ' s disease ? 10, 264–273.

<https://doi.org/10.1016/j.arr.2011.01.001>

- de Miranda, A. S., Zhang, C. J., Katsumoto, A., & Teixeira, A. L. (2017). Hippocampal adult neurogenesis: Does the immune system matter? *Journal of the Neurological Sciences*, 372, 482–495. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2016.10.052>
- Destrieux, C., Bourry, D., & Velut, S. (2013). Surgical anatomy of the hippocampus. *Neurochirurgie*, 59(4–5), 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.neuchi.2013.08.003>
- Eratne, D., Loi, S. M., Farrand, S., Kelso, W., Velakoulis, D., & Looi, J. C. L. (2018). Alzheimer's disease: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis. *Australasian Psychiatry*, 26(4), 347–357. <https://doi.org/10.1177/1039856218762308>
- Fiest, K. M., Roberts, J. I., Maxwell, C. J., Hogan, D. B., Smith, E. E., Frolkis, A., Cohen, A., Kirk, A., Pearson, D., Pringsheim, T., Venegas-Torres, A., & Jetté, N. (2016). The prevalence and incidence of dementia due to Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 43(S1), S51–S82. <https://doi.org/10.1017/cjn.2016.36>
- Garthe, A., & Kempermann, G. (2013). An old test for new neurons: Refining the morris water maze to study the functional relevance of adult hippocampal neurogenesis. *Frontiers in Neuroscience*, 7(7 MAY), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00063>
- Gatt, A., Lee, H., Williams, G., Thuret, S., & Ballard, C. (2019). Expression of neurogenic markers in Alzheimer's disease: a systematic review and metatranscriptional analysis. *Neurobiology of Aging*, 76, 166–180. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.12.016>
- Ge, S., Sailor, K. A., Ming, G. L., & Song, H. (2008). Synaptic integration and plasticity of new neurons in the adult hippocampus. *Journal of Physiology*, 586(16), 3759–3765. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.155655>
- Gold, J. J., Hopkins, R. O., & Squire, L. R. (2006). Single-item memory, associative memory, and the human hippocampus. *Learning and Memory*, 13(5), 644–649. <https://doi.org/10.1101/lm.258406>
- Gómez -Padilla, E., Bello-Medina, P. C., León-Jacinto, U., Orta-Salazar, E., Quirarte, G. L., Ramírez-Amaya, V., Prado-Alcalá, R. A., & Díaz-Cintra, S. (2020). Morris water maze overtraining increases the density of thorny excrescences in the basal dendrites of CA3 pyramidal neurons. *Behavioural Brain Research*, 379. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112373>
- Goyal, S. N., Reddy, N. M., Patil, K. R., Nakhate, K. T., Ojha, S., Patil, C. R., & Agrawal, Y. O. (2016). Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes - A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chemico-Biological*

Interactions, 244, 49–63. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.032>

- Grieb, P. (2016). *Intracerebroventricular Streptozotocin Injections as a Model of Alzheimer ' s Disease : in Search of a Relevant Mechanism*. 1741–1752. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9132-3>
- Grillo, C. A., Piroli, G. G., & Lawrence, R. C. (2015). *Hippocampal Insulin Resistance Impairs Spatial Learning and*. 1–35.
- Gruber, M. J., Gelman, B. D., & Ranganath, C. (2014). States of Curiosity Modulate Hippocampus-Dependent Learning via the Dopaminergic Circuit. *Neuron*, 84(2), 486–496. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.08.060>
- Huerta, K. C., Téllez, G. Y., Alberto, C., Salinas, A., Manuel, J., & Díaz, M. (2013). *Funcionamiento cognoscitivo en la diabetes tipo 2 : una revisión*. 36(2), 167–175.
- Jurado, A. J. (2007). *ESTUDIO DE LA NEUROGÉNESIS ADULTA EN UN MODELO MURINO DE SOBREENPRESIÓN DE LA GLUCÓGENO SINTASA QUINASA β EN PRECURSORES NEURALES*.
- Kealy, J., Diviney, M., Kehoe, E., McGonagle, V., O'Shea, A., Harvey, D., & Commins, S. (2008). The effects of overtraining in the Morris water maze on allocentric and egocentric learning strategies in rats. *Behavioural Brain Research*, 192(2), 259–263. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.04.009>
- Kempermann, G., Song, H., & Gage, F. H. (2015). Neurogenesis in the adult hippocampus. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(9). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018812>
- Knezovic, M. S. A., Hoyer, S., & Riederer, P. (2013). *What have we learned from the streptozotocin-induced animal model of sporadic Alzheimer ' s disease , about the therapeutic strategies in Alzheimer ' s research*. 233–252. <https://doi.org/10.1007/s00702-012-0877-9>
- Lazarov, O., & Hollands, C. (2016). Hippocampal neurogenesis: Learning to remember. *Progress in Neurobiology*, 138–140, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.12.006>
- Liu, Y., Huang, Y., Xiao, Z., Ren, X., & Yang, C. (2016). Effect of Ar/CCl₄ combined purification on microstructure and mechanical properties of 2219 aluminum alloy ingot. In *Fenmo Yejin Cailiao Kexue yu Gongcheng/Materials Science and Engineering of Powder Metallurgy* (Vol. 21, Issue 3).
- Llibre Rodríguez, J., & Gutiérrez Herrera, R. F. (2014). Dementias and Alzheimer's disease in Latin America and the Caribbean. *Revista Cubana de Salud Publica*, 40(3), 378–387.
- Lois, C., & Kelsch, W. (2014). Adult neurogenesis and its promise as a hope for brain repair. *Frontiers in Neuroscience*, 8(8 JUN), 8–10. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00165>
- Lopez, O. L., & Kuller, L. H. (2019). Epidemiology of aging and associated cognitive disorders:

- Prevalence and incidence of Alzheimer's disease and other dementias. In *Handbook of Clinical Neurology* (1st ed., Vol. 167). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804766-8.00009-1>
- Lu, Y., Dong, Y., Tucker, D., Wang, R., Ahmed, M. E., Brann, D., & Zhang, Q. (2017). Treadmill Exercise Exerts Neuroprotection and Regulates Microglial Polarization and Oxidative Stress in a Streptozotocin-Induced Rat Model of Sporadic Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, *56*(4), 1469–1484. <https://doi.org/10.3233/JAD-160869>
- Mamelak, M. (2012). *Sporadic Alzheimer 's Disease : The Starving Brain*. *31*, 459–474. <https://doi.org/10.3233/JAD-2012-120370>
- Masiulis, I., Yun, S., & Eisch, A. J. (2011). The interesting interplay between interneurons and adult hippocampal neurogenesis. *Molecular Neurobiology*, *44*(3), 287–302. <https://doi.org/10.1007/s12035-011-8207-z>
- Mishra, S. K., Shukla, R., & Shukla, S. (2017). [P2-084]: INVESTIGATING THE NEUROGENIC PROCESS ASSOCIATED WITH ALZHEIMER'S DISEASE IN ICV STREPTOZOTOCIN-INDUCED DEMENTIA. *Alzheimer's & Dementia*, *13*(7S_Part_13), P638–P638. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2017.06.733>
- Mishra, S. K., Singh, S., Shukla, S., & Shukla, R. (2018). Intracerebroventricular streptozotocin impairs adult neurogenesis and cognitive functions via regulating neuroinflammation and insulin signaling in adult rats. In *Neurochemistry International* (Vol. 113). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2017.11.012>
- Mongiat, L. A., & Schinder, A. F. (2011). Adult neurogenesis and the plasticity of the dentate gyrus network. *European Journal of Neuroscience*, *33*(6), 1055–1061. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07603.x>
- Moodley, K. K., & Chan, D. (2014). The hippocampus in neurodegenerative disease. *The Hippocampus in Clinical Neuroscience*, *34*, 95–108. <https://doi.org/10.1159/000356430>
- Morris, R. G. M., Schenk, F., Tweedie, F., & Jarrard, L. E. (1990). Ibotenate Lesions of Hippocampus and/or Subiculum: Dissociating Components of Allocentric Spatial Learning. *European Journal of Neuroscience*, *2*(12), 1016–1028. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1990.tb00014.x>
- Mu, Y., & Gage, F. H. (2011). Adult hippocampal neurogenesis and its role in Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, *6*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-85>
- Mullane, K., & Williams, M. (2019). Preclinical Models of Alzheimer's Disease: Relevance and Translational Validity. *Current Protocols in Pharmacology*, *84*(1), 1–28. <https://doi.org/10.1002/cpph.57>

- Navarro-Quiroz, E., Navarro-Quiroz, R., España-Puccini, P., Ahmad, M., Díaz-Pérez, A., Villarreal, J. L., Vásquez, L., & Torres, A. (2018). Neurogenesis in adult brain. *Salud Uninorte*, *34*(1), 144–159. <https://doi.org/10.14482/sun.34.1.9992>
- Olivares Hernández, J. D., Juárez Aguilar, E., & García García, F. (2015). El hipocampo: neurogénesis y aprendizaje. *Rev Med UV*, *15*(1), 20–25. www.uv.mx/rm%0Ahttp://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2015/muv151c.pdf
- Qu, Z. qiang, Zhou, Y., Zeng, Y. shan, Lin, Y. kun, Li, Y., Zhong, Z. qiang, & Chan, W. Y. (2012). Protective effects of a rhodiola crenulata extract and salidroside on hippocampal neurogenesis against streptozotocin-induced neural injury in the rat. *PLoS ONE*, *7*(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029641>
- Ramírez-Amaya, V., Escobar, M. L., Chao, V., & Bermúdez-Rattoni, F. (1999). Synaptogenesis of messy fibers induced by spatial water maze overtraining. *Hippocampus*, *9*(6), 631–636. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1999\)9:6<631::AID-HIPO3>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1999)9:6<631::AID-HIPO3>3.0.CO;2-3)
- Ramírez Amaya, V., Balderas, I., Sandoval, J., Escobar, M. L., & Bermúdez-Rattoni, F. (2001). Spatial long-term memory is related to mossy fiber synaptogenesis. *Journal of Neuroscience*, *21*(18), 7340–7348. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.21-18-07340.2001>
- Ramírez, M. J. (2018). *Estudios funcionales en aprendizaje y memoria*. 55–65.
- Rodríguez Arocho, W. C. (1999). El legado de Vygotski y de Piaget a la educación. *Revista Latinoamericana de Psicología*, *31*(3), 477–489.
- Rowland, H. A., Hooper, N. M., & Kellett, K. A. B. (2018). Modeling Sporadic Alzheimer’s Disease Using Induced Pluripotent Stem Cells. *Neurochemical Research*, *43*(12), 2179–2198. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2663-z>
- Santiago, I., Roldan Pérez, E., & Aguilar, Juárez, E. (2008). Implementación del Laberinto Acuático de Morris en la evaluación del aprendizaje espacial. *Rev Med UV*, 22–23.
- Sasaki-Hamada, S., Ikeda, M., & Oka, J. I. (2019). Glucagon-like peptide-2 rescues memory impairments and neuropathological changes in a mouse model of dementia induced by the intracerebroventricular administration of streptozotocin. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50167-3>
- Shors, T. J., Townsend, D. A., Zhao, M., Kozorovitskiy, Y., & Gould, E. (2002). Neurogenesis may relate to some but not all types of hippocampal-dependent learning. *Hippocampus*, *12*(5), 578–584. <https://doi.org/10.1002/hipo.10103>
- Sun, P., Knezovic, A., Parlak, M., Cuber, J., Karabeg, M., Deckert, J., Riederer, P., Hua, Q., Salkovic-

- Petrisic, M., & Schmitt, A. (2015). Long-Term Effects of Intracerebroventricular Streptozotocin Treatment on Adult Neurogenesis in the Rat Hippocampus. *Current Alzheimer Research*, 12(8), 772–784. <https://doi.org/10.2174/1567205012666150710112147>
- Tello-Rodríguez, T., Alarcón, R. D., & Vizcarra-Escobar, D. (2016). Mental health in older adults: Major neurocognitive, affective, and sleep disorders. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 33(2), 342–350. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2016.332.2211>
- Toda, T., & Gage, F. H. (2018). Review: adult neurogenesis contributes to hippocampal plasticity. *Cell and Tissue Research*, 373(3), 693–709. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2735-4>
- Vargas Miranda, B., Ambriz García, D., Navarro Maldonado, M. del C., Trejo Córdova, A. Rodríguez Esquivel, G. González Vieira, M. del R. (2018). Manejo de animales del Bioterio de la UAM-I. *Manejo de Animales Del Bioterio de La UAM-I*, 24–27. <http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/BIOTERIO.pdf>
- Vatanabe, I. P., Manzine, P. R., & Cominetti, M. R. (2020). Historic concepts of dementia and Alzheimer's disease: From ancient times to the present. *Revue Neurologique*, 176(3), 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2019.03.004>
- Vidal, M. (2009). PAPEL DE LA PROTEÍNA DOBLECORTINA EN LOS PROCESOS DE NEUROGÉNESIS Y MIGRACIÓN NEURONAL EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL ADULTO.
- Von Bohlen Und Halbach, O. (2007). Immunohistological markers for staging neurogenesis in the adult hippocampus. *Cell and Tissue Research*, 329(3), 409–420. <https://doi.org/10.1007/s00441-007-0432-4>
- who. (2021). *Diabetes*.
- WHO. (2020). *Demencia*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
- Zhao, Q. F., Tan, L., Wang, H. F., Jiang, T., Tan, M. S., Tan, L., Xu, W., Li, J. Q., Wang, J., Lai, T. J., & Yu, J. T. (2016). The prevalence of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, 190, 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.09.069>