



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

“EVALUACIÓN MORFOESTRUCTURAL DE LA VASCULATURA CEREBRAL EN UN MODELO  
PARA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER POSTERIOR A LA INTERVENCIÓN CON EJERCICIO  
FÍSICO”

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

PRESENTA:  
**JOSÉ DE JESÚS ANDRADE GUERRERO**

TUTOR PRINCIPAL:  
**Dr. Luis Oskar Soto Rojas**  
Facultad de Estudios Superiores, Iztacala UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:  
**Dra. Hilda Martínez Coria**  
Facultad de Medicina, UNAM

**Dra. Gohar Gevorgyan**  
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México (FES IZTACALA), Agosto 2023



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.

# Índice General

Agradecimientos institucionales	3
Agradecimientos Personales	4
Resumen	5
Abstract	6
Glosario	7
1.Introducción	8
2.Antecedentes	10
2.1 Enfermedad de Alzheimer	10
2.1.1 Definición y antecedentes históricos	10
2.1.2 Epidemiología de la enfermedad de Alzheimer	11
2.1.3 Características neuropatológicas de la enfermedad de Alzheimer	11
2.2 Alteraciones neurovasculares en la enfermedad de Alzheimer	16
2.2.1Alteraciones en los componentes vasculares en la enfermedad de Alzheimer	17
2.3 Tratamientos para la enfermedad de Alzheimer	19
2.4 Modelos de ejercicio usados en experimentación con roedores	21
2.6 Modelos experimentales para la enfermedad del Alzheimer	26
2.6.1 Modelos animales no transgénicos para enfermedad de Alzheimer	26
2.6.2 Modelos animales transgénicos para la enfermedad de Alzheimer	27
2.6.3 Modelo triple transgénico para la enfermedad de Alzheimer	27
3. Justificación	29
4. Hipótesis	30
5. Objetivo General	30
6. Metodología	31
6.1 Tipo de estudio	31
6.2 Tamaño y características de la muestra	31
6.3 Dosificación del ejercicio	31
6.4 Estrategia experimental	32
6.5 Técnicas de evaluación	33
6.5.1 Evaluación conductual	33
6.5.2 Técnica de perfusión	35

6.5.4	Peso corporal y peso de gastrocnemio	36
6.5.5	Técnicas histológicas	37
6.5.6	Captura de imágenes	39
6.5.7	Análisis de imágenes	39
6.5.8	Análisis estadístico	40
7.	Resultados	41
7.1	Genotipificación	41
7.2	Rendimiento Físico en ruedas	41
7.2.2	El rendimiento del ratón 3xTg-AD es menor al No-tg	41
7.3.2	El ejercicio no provocó cambios en el peso del gastrocnemio	42
7.4	Efectos del ejercicio físico en la memoria y aprendizaje	43
7.3.1	El ejercicio físico no provocó mejoría en el aprendizaje y memoria	43
7.4.2	El ejercicio disminuyó los depósitos de beta amiloide, y provocó cambios en la morfoestructura en los vasos sanguíneos del hipocampo.	46
7.6	Efectos del ejercicio sobre los componentes de la UNV	47
7.5.1	El ejercicio tuvo efectos en la recuperación de la membrana basal y los pericitos en hipocampo	47
7.4.2	El ejercicio tuvo efectos significativos sobre los pies astrocíticos en el hipocampo	
7.4.3	Los depósitos de amiloide se correlacionan con la alteración de la unidad neurovascular y los déficits cognitivos en 3xTgAD y con la intervención del ejercicio	48
8.	Discusión	49
9.	Conclusiones	55
10.	Perspectivas de estudio	55
	Bibliografía	56

## **Agradecimientos institucionales**

A mi máxima casa de estudios la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme por segunda ocasión todas las herramientas para lograr mis metas académicas.

Investigación realizada gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con la beca número 1145816, Ciencia Básica y/o Ciencia de Frontera Modalidad: Paradigmas y Controversias de la Ciencia 2022 (319433) y al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) No. IN322514, IA202021 y IA205423.

Al programa de maestría en Ciencias (Neurobiología), al Instituto de Neurobiología y a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por brindarme las mejores oportunidades para realizar una maestría.

Al coordinador del programa el Dr. Gerardo Rojas Piloni por su entusiasmo y compromiso al programa de maestría.

A la dirección general de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) por el apoyo de los proyectos de investigación PAPIIT.

Al programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) por el apoyo económico para asistir a un congreso internacional, fortaleciendo mi formación académica.

Al programa de beca de Estancia de larga duración para estudios de posgrado por brindarme la oportunidad de complementar mi formación en el extranjero.

A las unidades de apoyo del INB:

- Bioterio M.V.Z. José Martín García Servín y Dra. Alejandra Castilla León.
- Microscopía Elsa. Nydia Hernández Ríos.
- Análisis conductual. Dra. Deisy Gasca Martínez.
- Por la asistencia en técnicas de histología por parte de M. en C. Azucena Aguilar Vázquez.

## **Agradecimientos Personales**

A mi tutor, el Dr. Luis Oskar Soto Rojas por apoyarme en dar mi primer paso en el mundo de la ciencia, por transmitirme esa pasión por la investigación y por siempre estar en la mejor disposición de ayudarme en la realización de este proyecto.

A la Dra. Sofía Diaz Miranda, por recibirme en su laboratorio, por transmitirme siempre esa alegría que la caracteriza. “El camino de la ciencia no es un dulce y tierno vals sino un recio zapateado” por esta y por muchas otras frases que alentaban a seguir trabajando y por siempre responderme todas mis dudas.

A mis asesoras la Dra. Hilda Martínez Coria y la Dra. Gohar Gevorkyan por los comentarios, sugerencias y puntos de vista que ayudaron a la realización de este trabajo.

A la Dra. Erika Orta y el Dr. Isaac Vargas por siempre resolverme todas mis dudas con toda la disposición, paciencia y gusto por la ciencia y por los buenos momentos vividos en el laboratorio.

A mis profesores de maestría por su esfuerzo y enseñanza en la impartición de las diferentes asignaturas que tome durante el programa.

A mis compañeros de laboratorio Paola, Zyan, Nayeli, Laura, Humberto, y Sergio por las pláticas y apoyo en los diferentes técnicas y experimentos.

A todos los animales de experimentación utilizados en la realización de este proyecto.

A mis amigos de la maestría July, Sara, Cesar, Ricardo, Waldo, Maya, Vale, por todos los buenos y divertidos momentos que pasamos juntos a lo largo de estos dos años.

A Vivi por su amor , comprensión y apoyo durante los momentos buenos y malos en la mayor parte de mi vida académica, de igual forma a toda su familia.

A Leyma por todos los momentos de alegría y cariño que me regaló en especial en momentos difíciles.

A mi mamá y hermanos Moni, Clau, Paco y Alex por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas y por todas las buenas palabras de alegría y empuje a realizar mis metas, sin ustedes nada de esto hubiera sido posible.

## **Dedicatoria**

A la memoria de mi papá

Quien siempre fue mi ejemplo a seguir, gracias por todo lo que hiciste y sacrificaste por mí, y porque a pesar de no estar aquí conmigo me sigues enseñando tantas cosas de la vida.

## Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la enfermedad neurodegenerativa más común en el mundo. Se caracteriza por el deterioro de la memoria, el pensamiento, la orientación y el aprendizaje, afectando así la calidad de vida de las personas que la padecen. Los dos sellos patognomónicos son las placas neuríticas y las marañas neurofibrilares. Sin embargo, se ha propuesto que el sistema vascular cerebral también se ve afectado e incluso agrava los síntomas de la enfermedad. Uno de los modelos animales más utilizados para estudiar los mecanismos de la enfermedad, es el ratón triple transgénico 3xTg-AD que contiene tres mutaciones asociadas con la EA familiar (*PS1M146V*, *APP<sup>SWE</sup>* y *tauP301L*). Cabe enfatizar que hasta el momento no existe un tratamiento eficaz para la EA. Un enfoque terapéutico no farmacológico adyuvante para la EA es el ejercicio físico, que es una variedad de actividad física planificada, repetitiva y dosificada, sin embargo, se desconoce su efecto sobre el sistema vascular cerebral. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto del ejercicio físico sobre la morfoestructura de los vasos sanguíneos cerebrales en el modelo 3xTg-AD. Se utilizaron un total de 40 ratones hembra de diez meses de edad, 3xTg-AD (n= 20) y No-Tg (n= 20), divididos por igual en grupos de ejercicio y sedentarios. Se realizó una intervención de ejercicio físico voluntario durante 3 meses con una frecuencia de 5 veces por semana. Posteriormente, se evaluó la memoria y el aprendizaje mediante la prueba del laberinto de Barnes. La morfoestructura vascular se analizó mediante ensayos histológicos utilizando marcadores de membrana basal vascular (anti-Colágeno IV), pericitos (anti-PDGFR- $\beta$ ) y pies astrocíticos (Acuaporina 4), además de depósitos de péptido  $\beta$ A (BAM-10) y tinción mediante hematoxilina y eosina para evaluación estructural. El ejercicio físico voluntario no ocasionó mejoría en la capacidad cognitiva, sin embargo, promovió la recuperación del sistema vascular, cambios anatómicos, así como la reducción de los depósitos de amiloide tanto en forma de placas como vasculares. La intervención con ejercicio físico voluntario favorece la estabilidad del sistema vascular, así como la reducción de los depósitos de péptido  $\beta$ A en los estadios sintomáticos de la enfermedad.

Palabras clave: Alzheimer, ejercicio, vasculatura cerebral, unidad neurovascular, 3xTgAD, cognición.

## **Abstract**

Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disease in the world. It is characterized by the deterioration of memory, thinking, orientation and learning, as well as the quality of life of the people who suffer from it. The two pathognomonic hallmarks are neuritic plaques and neurofibrillary tangles. However, it has been proposed that the cerebral vascular system is also affected and even aggravates the symptoms of the disease. One of the most widely used animal models to study disease mechanisms is the 3xTg-AD triple transgenic mouse that contains three associated with familial AD (PS1M146V, APPSWE and tauP301L). It should be emphasized that up to now there is no effective treatment for AD. An adjuvant non-pharmacological therapeutic approach for AD is physical exercise, which is a variety of planned, repetitive, and dosed physical activity, however its effect on the cerebral vascular system is unknown. The objective of this work was to analyze the effect of physical exercise on the morphostructure of cerebral blood vessels in the 3xTg-AD model. A total of 40 ten-month-old female mice, 3xTg-AD (n=20) and Non-Tg (n=20), divided equally into exercise and sedentary groups, were used. A voluntary physical exercise intervention was carried out for 3 months with a frequency of 5 times a week. Subsequently, memory and learning were assessed using the Barnes maze test. Vascular morphostructure was analyzed by histological assays using vascular basement membrane markers (anti-Collagen IV), pericytes (anti-PDGFR- $\beta$ ) and astrocytic feet (Aquaporin 4), other amyloid beta deposits (BAM-10) and hematoxylin staining. and eosin for structural evaluation. Voluntary physical exercise did not cause improvement in cognitive ability; however, it promoted the recovery of the vascular system, anatomical changes, as well as the reduction of amyloid beta deposits, both in the form of plaques and vascular. The intervention with voluntary physical exercise favors the stability of the vascular system, as well as the reduction of amyloid deposits in the symptomatic stages of the disease.

Keywords: Alzheimer's, exercise, cerebral vasculature, neurovascular unit, 3xTgAD, cognition.

## Glosario

<b>ATP</b>	Adenosiltrifosfato
<b>AAC</b>	Angiopatía Amiloidea Cerebral
<b>APOE</b>	Apolipoproteína E
<b>βA</b>	Beta amiloide
<b>BHE</b>	Barrera Hematoencefálica
<b>EA</b>	Enfermedad de Alzheimer
<b>FSC</b>	Flujo sanguíneo cerebral
<b>FDA</b>	The Food and drug administration
<b>IGF1</b>	Factor de crecimiento similar a la insulina
<b>GDNF</b>	Factor neurotrófico derivado de la línea celular glial
<b>VEGF</b>	Factor de crecimiento endotelial vascular
<b>MNFs</b>	Marañas neurofibrilares
<b>3xTgAD</b>	Modelo triple transgénico para la enfermedad de Alzheimer
<b>NMDA</b>	N-metil D- aspartato
<b>OMS</b>	Organización mundial de la salud
<b>eNOS</b>	Óxido nítrico sintetasa endotelial
<b>PNs</b>	Placas neuríticas
<b>PS</b>	Presinilina
<b>PPA</b>	Proteína precursora amiloide
<b>PDGFR β</b>	Receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas de conformación beta
<b>UNV</b>	Unidad neurovascular
<b>MET</b>	Unidad metabólica basal

## **1.Introducción**

La enfermedad neurodegenerativa de Alzheimer (EA) es actualmente la de mayor incidencia a nivel mundial (OMS, 2019) y el tipo de demencia más común, caracterizada por el deterioro de funciones cognitivas, en la cual los signos y síntomas se desarrollan de manera lenta y progresiva, lo cual repercute en la calidad de vida de los pacientes (Alzheimer association, 2021). La EA presenta dos sellos neuropatológicos característicos: Las marañas neurofibrilares (MNFs), constituidas de la proteína tau hiperfosforilada, relacionadas con la degeneración neuronal (Patel et al., 2019); y los agregados extracelulares del péptido beta amiloide ( $\beta$ A), que se localizan en el parénquima cerebral formando placas neuríticas (PNs) y en los vasos sanguíneos constituyendo la angiopatía amiloidea cerebral (ACC) (Soto et al., 2021). Según la hipótesis vascular de la EA existen factores de riesgo vascular que pueden provocar alteraciones en los componentes vasculares e hipoxia relacionados con un aumento en la producción y disminución del aclaramiento de  $\beta$ A, generando su acumulación parenquimatosa y vascular (MICHA, 2017). Los diferentes componentes de la unidad neurovascular (UNV), tienen como principal objetivo el mantenimiento del flujo sanguíneo cerebral (FSC) y la integridad de la barrera hematoencefálica (BHE), los cuales permiten el aporte correcto de nutrimentos y eliminación de sustancias de desecho del cerebro (Huang et al., 2020). La desregulación de estos elementos vasculares son eventos fisiopatológicos críticos relacionados con la EA promoviendo una disfunción neuronal y acelerando la neurodegeneración (Soto et al., 2021). Aunque no hay cura para la EA, existen diversos tratamientos farmacológicos y no farmacológicos, que retrasan o mejoran los síntomas favoreciendo la calidad de vida de los pacientes (Zucchella et al., 2018). Dentro de los tratamientos no farmacológicos se encuentra el ejercicio físico, el cual es una variedad de actividad física planificada, repetitiva y dosificada, realizada con el objetivo de mejorar o mantener uno o más componentes de la aptitud física como la fuerza, resistencia, flexibilidad, coordinación, velocidad, entre otros (OMS, 2018). El ejercicio físico ha demostrado tener efectos beneficiosos a nivel cerebral, desde mantener el FSC, disminuyendo el estrés oxidativo favoreciendo la plasticidad neuronal y la neurogénesis, convirtiéndolo en una herramienta importante en el tratamiento de la EA (Domingos et al.,

2021). Sin embargo, los mecanismos moleculares o bioquímicos, mediante los cuales estos eventos ocurren no están claros (De Sousa Fernandes et al., 2020). Para conocer los mecanismos mediante los cuales el ejercicio es beneficioso en la EA, se han utilizado distintos modelos de la EA (Brown et al., 2019). Entre estos el ratón triple transgénico (3xTg-AD), el cual está generado a partir de la inserción de genes mutados “*knock-in*” para tres proteínas: la presenilina 1 (PS1M146v), la proteína precursora amiloide (APP<sup>Swe</sup>) y la tau (tauP301L), que desarrolla los dos sellos patognomónicos de la EA (Oddo et al., 2003). A pesar del extenso estudio en este modelo para la EA, no se han asociado los efectos del ejercicio físico sobre la morfoestructura cerebral. Por lo tanto, en el presente trabajo se evaluarán los efectos del ejercicio sobre la morfoestructura cerebral, así mismo, sobre el aprendizaje y memoria espacial.

## **2. Antecedentes**

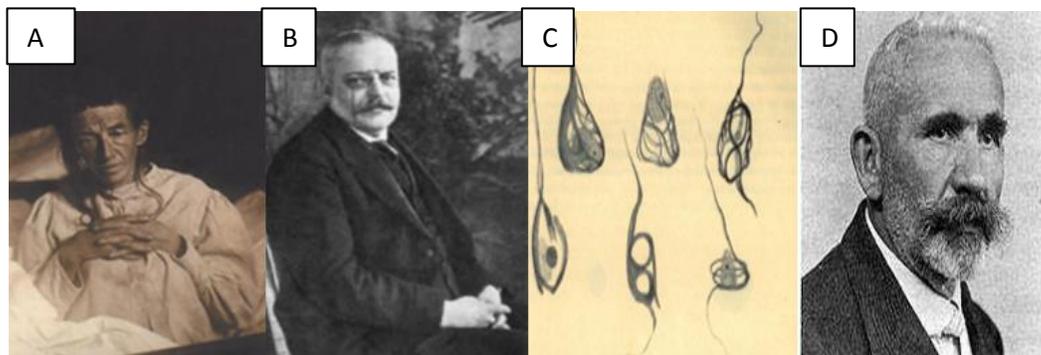
### **2.1 Enfermedad de Alzheimer**

#### **2.1.1 Definición y antecedentes históricos**

La Organización mundial de la salud (OMS), define a la demencia como un síndrome generalmente de naturaleza crónica o progresiva, caracterizado por el deterioro en las funciones cognitivas, afectando a la memoria, el pensamiento, la orientación, la comprensión, el cálculo, la capacidad de aprendizaje, el lenguaje y el juicio (OMS, 2019). La EA es el tipo de demencia más común y que representa entre un 60 a 80 % del total de los casos. Está caracterizada por disfunción cognitiva, la cual se desarrolla de manera lenta y que empeora con el paso del tiempo, interfiriendo así en las actividades cotidianas de la persona (Alzheimer association, 2021).

El 25 de noviembre de 1901 una mujer de 51 años llamada Auguste Deter (Figura 1), fue admitida en el asilo municipal de lunáticos y epilépticos de Frankfurt. El psiquiatra quien ingresó a la paciente fue el Dr. Alois Alzheimer. La paciente presentaba un cuadro clínico de 5 años de evolución, caracterizado por delirios, pérdida de memoria rápidamente progresiva, alucinaciones, trastornos de conducta, desorientación y alteraciones en el lenguaje, falleciendo el 8 de abril de 1906. El Dr. Alzheimer realizó un estudio

histopatológico *post mortem*, encontrando atrofia cerebral, sedimentos metabólicos en corteza cerebral, alteraciones en la forma de células gliales y una patología neurofibrilar mucho más pronunciada que en personas de edad más avanzada (Small & Cappai, 2006). El Dr. Emil Kraepelin director de la clínica identificó los síntomas de la enfermedad como una entidad nosológica definida. El Dr. Kraepelin decidió nombrar la enfermedad en honor a su colega Alzheimer, debido a la importancia de encontrar la base neuropatológica de los desórdenes psiquiátricos acuñando el término “enfermedad de Alzheimer” por primera vez en 1910 en su libro “*Handbook of sychiatrie*” (Ryan et al., 2015).



**Figura 1. Personajes y hallazgos importantes en el descubrimiento de la EA. A)** Paciente Auguste Deter. **B)** Dr. Alois Alzheimer. **C)** Patología neurofibrilar dibujada por el Dr. Alzheimer. **D)** Dr. Emil Kraepelin. Modificado de (Ryan et al., 2015 y Small & Cappai, 2006).

### 2.1.2 Epidemiología de la enfermedad de Alzheimer

La demencia afecta a más de 50 millones de personas en el mundo y se estima que esta cifra aumente a 80 millones en el año 2030 y 152 millones en el 2050 (OMS, 2019). Sin embargo, uno de cada 3 adultos mayores muere con algún signo de EA o demencia (Alzheimer association, 2021). Entre el año 2000 y 2019 la tasa de muertes por EA aumentó en un 145 % y se estima que en el mundo cada 3 segundos una persona desarrolla demencia (Alzheimer associaton, 2021; Koontz y Odonell, 2021). En México hay cerca de 1.5 millones de personas con demencia, se estima una incidencia promedio de 25.55 por 1000 persona/año en adultos mayores (Prince et al., 2012), se prevé que este número aumente a cerca de 3.5 millones para el año 2050 debido al cambio en la pirámide poblacional (Álvarez-cisneros et al., 2017). La demencia tiene grandes repercusiones económicas, a nivel mundial el costo directo fue de 818 000 millones de dólares en 2015, en 2020 en Estados

Unidos fue de 335 000 millones de dólares y se estima que llegará a 1.1 billones en 2050 (Alzheimer association, 2021), todo esto convierte a la demencia en un problema prioritario de salud pública a nivel mundial (OMS, 2019).

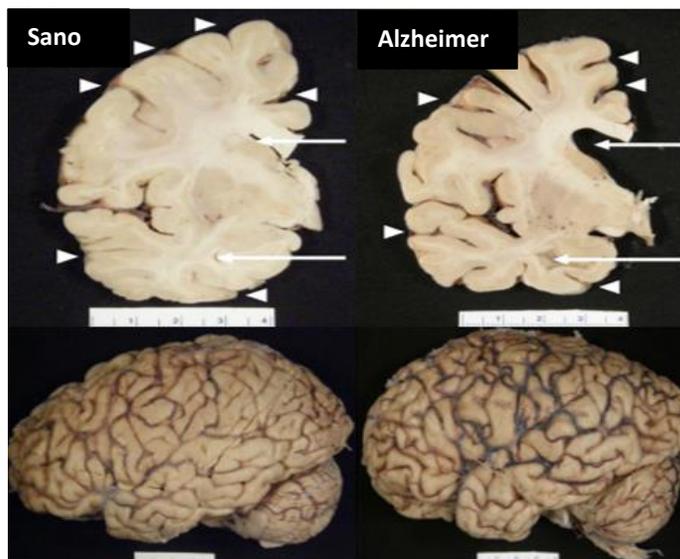
### **2.1.3 Características neuropatológicas de la enfermedad de Alzheimer**

La EA puede ser de origen tardío o esporádico (después de los 65 años de edad), y de origen temprano o precoz (antes de los 65 años), este último es poco común representando cerca del 5 % de los casos (Deture & Dickson, 2019). A más de 100 años de la descripción de la enfermedad por el Dr. Alzheimer, los sellos cardinales de la EA siguen siendo las PNs conformadas por el péptido  $\beta$ A y las MNFs formadas por la proteína tau hiperfosforilada (Patel et al., 2019). Los distintos cambios neuropatológicos de la enfermedad se pueden clasificar en lesiones positivas (por acumulación) que incluyen: las PNs, MNFs, neuritis distróficas e hilos de neuropilos; y los cambios negativos (por pérdida) como atrofia cerebral por la pérdida de neuronas, y sinapsis. Además, existen otros factores relacionados a la neurodegeneración como el estrés oxidativo, la neuroinflamación, y lesión de las células colinérgicas (Breijyeh & Karaman, 2020).

#### **2.1.3.1 Alteraciones macroscópicas en la enfermedad de Alzheimer**

En el cerebro de pacientes con EA a menudo se puede observar una atrofia cortical moderada (Figura 2), siendo pronunciada en las cortezas de asociación multimodal y en el lóbulo límbico. Además, se presentan surcos más prominentes, y se observa también atrofia de las circunvoluciones en las cortezas frontal y parietal (mientras que la corteza motora primaria y somatosensorial no parecen afectadas) (Traini et al., 2020). En cuanto al área cortical posterior, se presenta atrofia en precuneos y circunvolución del giro posterior, como resultado de esto se puede observar un agrandamiento de los ventrículos laterales (Deture & Dickson, 2019). Uno de los signos comunes en la EA es la atrofia temporal medial que afecta a la amígdala y al hipocampo (Deture & Dickson, 2019), la atrofia del hipocampo se da en etapas tempranas y avanza de forma progresiva, estos signos se han evaluado en pacientes con la EA, a través de estudios de neuroimagen en donde el volumen del hipocampo disminuye entre un 15% y 40% (Moira & Giovanni, 2016). Ninguna de estas características macroscópicas es específica para el diagnóstico de la EA debido a que las

atrofias corticales también se presentan en personas de edad avanzada (Marino et al., 2019) (Araujo et al., 2005).



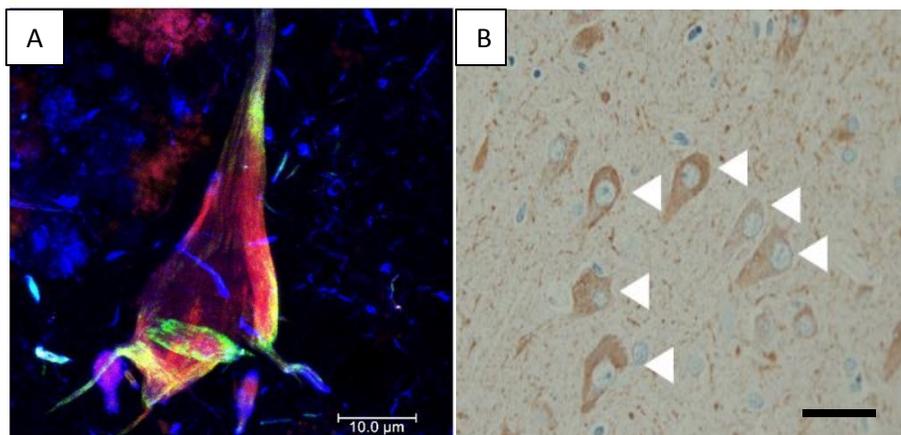
**Figura 2. Atrofia cerebral observada en encéfalos con la enfermedad de Alzheimer.** Ensanchamiento de circunvoluciones y estrechamiento de espacios súrcales marcados con puntas blancas, las flechas blancas señalan la hipotrofia del hipocampo. Modificada de (Deture & Dickson, 2019).

### **2.1.3.2 Alteraciones microscópicas en la enfermedad de Alzheimer**

#### **2.1.3.2.1 Marañas neurofibrilares**

Las MNFs son filamentos anormales formados de la proteína tau hiperfosforilada. El gen humano para proteína tau se encuentra en el cromosoma 17. En condiciones fisiológicas la proteína tau estabiliza los microtúbulos en el citoesqueleto de las neuronas, promueve el crecimiento de neuritas, interacciones de membrana, facilita el anclaje de las enzimas y el transporte de los orgánulos a las terminales nerviosas (Gao et al., 2018). La fosforilación de la proteína tau regula la unión y el ensamblaje de los microtúbulos, la fosforilación de esta proteína en un cerebro con EA es de 3 a 4 veces mayor de lo normal. Esta hiperfosforilación produce la disgregación de los microtúbulos y el aumento de la proteína tau soluble que conllevará a la formación de las MNFs. La proteína tau también puede sufrir otras modificaciones postraduccionales que se asocian con su agregación como la glicosilación, glicación, ubiquitinación, nitración y truncación (Chong et al., 2018). Mediante la evolución de la agregación de la proteína tau se pueden distinguir tres etapas progresivas de las MNFs (Figura 3): 1) fase previa a la formación de la MNFs, en esta etapa, la proteína tau fosforilada

se acumula en el compartimiento somatodendrítico sin la formación de filamentos helicoidales emparejados. 2) MNFs maduras caracterizados por la agregación de filamentos de proteína tau con el desplazamiento del núcleo a la parte periférica del soma. 3) MNF extracelulares o en etapa fantasma (Breijyeh & Karaman, 2020).

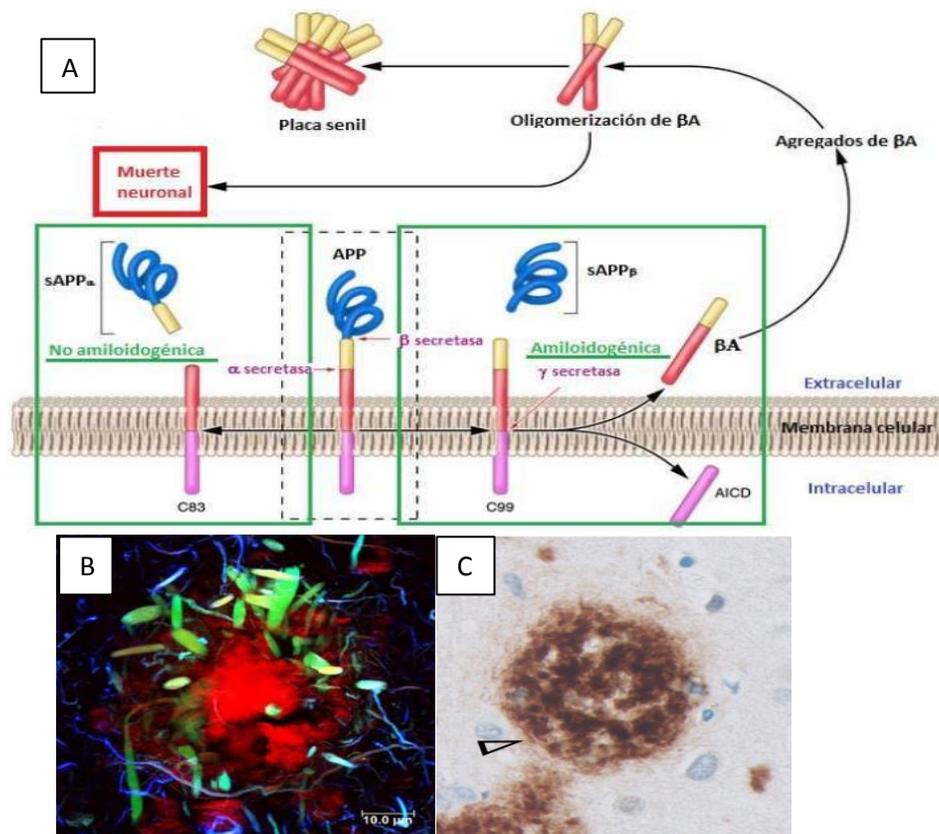


**Figura 3. Imágenes microscópicas de las MNFs A).** Triple inmunofluorescencia que muestra un ovillo neurofibrilar (TG3, canal verde; T46, canal rojo; M19 canal azul). **B)** Inmunohistoquímica usando que marcador de las MNF marcadas con flechas blancas. Barras de escala de 10 (A) y 40  $\mu\text{m}$  (B). Tomado de Dickson Dennis (Deture & Dickson, 2019) (Andrade-Guerrero, J. et al., 2023).

#### 2.1.3.2.2 Placas neuríticas

Las PNs son acumulaciones extracelulares formadas por el péptido  $\beta\text{A}$ , el cual tiene un peso molecular de 4 a 6 kDa, este péptido se forma a partir de la proteína precursora de amiloide (PPA), la cual es una proteína transmembranal de 110 a 130 kDa que se codifica en los humanos en el cromosoma 21 (Republic et al., 2013). La PPA tiene varias isoformas siendo las más comunes las de 695, 770 y 751 aminoácidos, de éstas la primera es la que se expresa de manera predominante en las neuronas (Liu et al., 2019). La PPA es procesada de manera proteolítica por dos vías competitivas, la amiloidogénica y la no amiloidogénica (figura 4). Este proceso se regula mediante la intervención de varias enzimas como son la  $\alpha$ ,  $\beta$ , y la  $\gamma$  secretasas. En la vía no amiloidogénica, la PPA es proteolizada primero por la  $\alpha$  secretasa, lo que resulta en una segregación soluble de PPA ( $\text{PPA}\alpha$ ) y un fragmento de 83 aminoácidos unidos a la membrana, este último es cortado por la  $\gamma$  secretasa y produce un péptido no patogénico llamado P3, que abandona el dominio intracelular APP unido a la membrana (AICD). Por otro lado, la vía amiloidogénica, es la vía mediante la cual se va a formar el

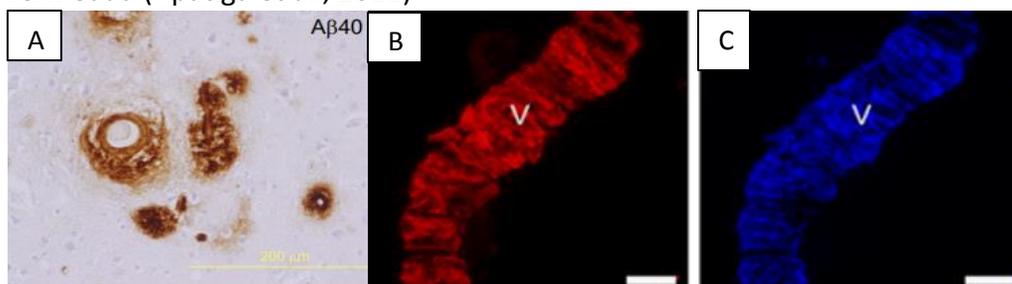
péptido  $\beta$ A, en esta vía la APP es cortada primero por la  $\beta$  secretasa, generando un fragmento de 99 aminoácidos anclados a la membrana, y un fragmento soluble  $\beta$  de APP (APPs $\beta$ ). Posteriormente, es proteolizado por la  $\gamma$  secretasa para formar el péptido  $\beta$ A y un fragmento intracelular de APP (AICD) (Liu et al., 2019). La longitud del péptido  $\beta$ A puede variar dependiendo del nivel de escisión en el fragmento de los 99 aminoácidos, pudiendo formar fragmentos de 37 a 42 aminoácidos, siendo las más largas de 40 y 42 aminoácidos y las que más probabilidad tienen de autoagregarse y formar las fibrillas de las PNs (Jolla et al., 2019). Este exceso de péptido  $\beta$ A está relacionado con una cascada de eventos como la disfunción mitocondrial, estrés oxidativo y neuroinflamación que conllevan a disfunciones y muerte neuronal (Picca et al., 2020).



**Figura 4. Procesamiento proteolítico de PPA y PNs, A)** Conformación del péptido  $\beta$ A. Tomado de (López, 2012). **B)** PNs observada con microscopía confocal. Barra de escala de 10  $\mu$ m. Tomada de (Apátiga et al, 2021) **C)** Técnica de inmunoquímica con tinción de plata, la PNs marcada con flecha negra. Tomada de (Boon et al., 2020). **AICD:** Dominio intracelular APP unido a la membrana,  **$\beta$ A:** beta amiloide, **APP:** Proteína precursora amiloide, **APPs $\beta$ :** fragmento soluble  $\beta$  de PPA.

### 2.1.3.2.3 Angiopatía amiloide cerebral

El péptido  $\beta$ A no solo se deposita en forma de PNs en el parénquima cerebral, sino que también se deposita en los vasos sanguíneos cerebrales (Figura 5), se estima que del 85-95% de los casos de EA tienen al menos un grado de AAC (Deture & Dickson, 2019). La AAC es un trastorno cerebrovascular que se caracteriza por los depósitos de  $\beta$ A en pequeñas arterias, arteriolas, capilares de la sustancia gris de las cortezas cerebrales y en vasos leptomeníngeos, así como deterioro cognitivo y demencia, una de las áreas afectadas es el lóbulo occipital, seguido de los lóbulos parietal, frontal y temporal (Steven et al., 2014). Los depósitos amiloideos en AAC están conformados de  $\beta$ A 40, mientras que los depósitos en parénquima se conforman de  $\beta$ A 42 (Deture & Dickson, 2019). El depósito de  $\beta$ A en la pared de los vasos sanguíneos se asocia con una afectación en el grosor y el diámetro interno del vaso en que se producen (Apátiga et al., 2021). La AAC está asociada a trastornos cerebrovasculares como son las hemorragias lobulares cerebrales y cerebelosas (macrohemorragias), leucoencefalopatía y pequeños infartos y hemorragias corticales (microhemorragias) (Yamada & Naiki, 2012). La AAC puede clasificarse en esporádica, que se asocia más a procesos de envejecimiento, así como a EA y hereditaria relacionada con mutaciones en la PPA (Gatti et al., 2020). Los cambios histopatológicos observados en la AAC están estrechamente relacionados a la disfunción de la unidad neurovascular (UNV) y de la barrera hematoencefálica (BHE), pudiendo exacerbar la EA (Soto et al., 2021), incluso hay evidencias que sugiere que el daño vascular generado por la acumulación de  $\beta$ A precede a la EA, sin embargo, no son del todo claras por la complejidad de la progresión de la enfermedad (Apátiga et al., 2021).



**Figura 5. Angiopatía amiloide cerebral (AAC) en cerebros de pacientes con la EA. A)** Inmunohistoquímica para AAC empleando el anticuerpo A $\beta$  40. Barra de escala 200 $\mu$ m. **B) Y C)** Inmunofluorescencia para detección de especies de A $\beta$  (A $\beta$ 3 y A $\beta$ 11) (Yamada & Naiki, 2012) (Soto Rojas et al., 2021).

## **2.2 Alteraciones neurovasculares en la enfermedad de Alzheimer**

El encéfalo necesita aproximadamente el 20 % del gasto cardiaco y del oxígeno del cuerpo, tanto el oxígeno como la glucosa se suministran a las neuronas por medio del FSC transportados a través de la BHE. Por lo tanto, el correcto funcionamiento cerebral depende de un suministro adecuado del FSC (Rutering et al., 2017), conocido como acoplamiento neurovascular, en el cual los diferentes componentes como; neuronas e interneuronas, células gliales (astrocitos y microglía), células vasculares (pericitos, células endoteliales y células del músculo liso) conforman la UNV que tiene como principal objetivo mantener la integridad de la BHE y el FSC (Soto et al., 2021). La integridad y correcto funcionamiento de los elementos de la UNV y la BHE permiten un sistema eficiente del FSC, el mantenimiento de la actividad metabólica neural, e impiden la entrada de patógenos y agentes tóxicos hacia el parénquima cerebral que conduce a un buen funcionamiento sináptico y al procesamiento correcto de la información (Huang et al., 2020).

### **2.2.1 Alteraciones en los componentes celulares vasculares de la Unidad Neurovascular en la enfermedad de Alzheimer**

En la EA la integridad tanto de la BHE como del FSC se ven comprometidos, debido a distintas alteraciones en los componentes de la UNV (Figura 6), lo que contribuye a la exacerbación de la enfermedad. Entre los principales observados se encuentran:

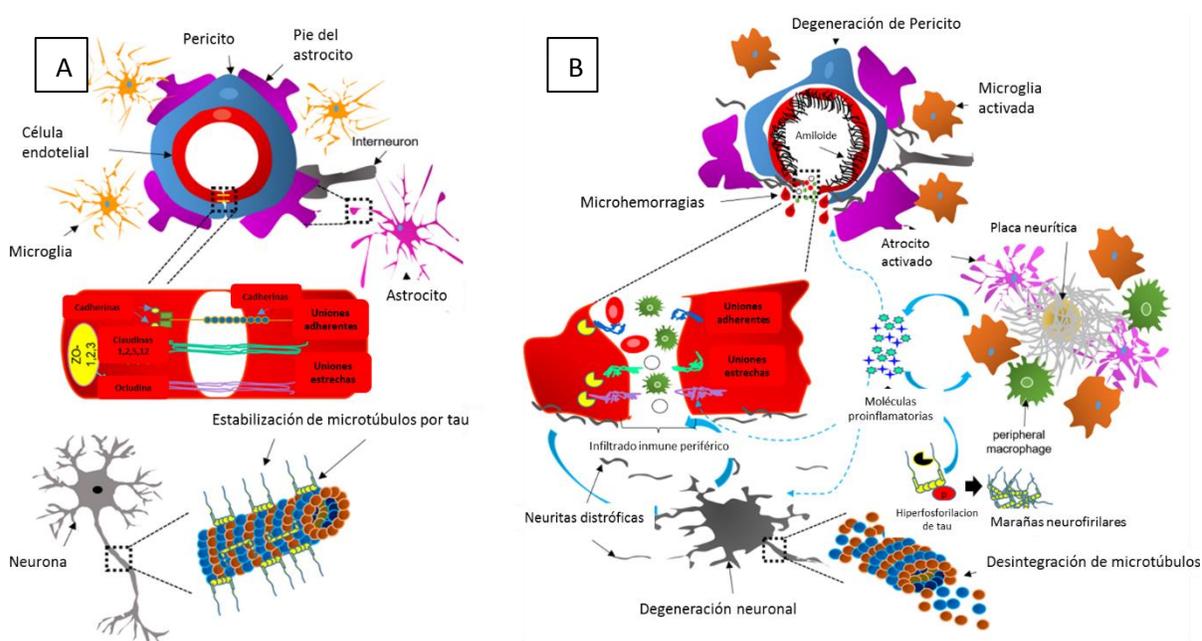
**2.2.1.1 Degeneración del pericito:** Los pericitos son células murales que se colocan en el centro de la unidad neurovascular entre las células endoteliales, los astrocitos y las neuronas lo cual le permite desarrollar un papel importante en la regulación de las funciones neurovasculares en el cerebro (Kisler et al., 2017). Se encuentran incrustados en la membrana basal, y extienden sus procesos a lo largo de los capilares, rodeando a las células endoteliales en la microvasculatura, participando en la estabilización de los vasos sanguíneos, regulación de la permeabilidad de la BHE, angiogénesis, eliminación de metabolitos y la homeostasis vascular (Sagare et al., 2013b). Son importantes en el mantenimiento de las propiedades físicas y funcionales de la BHE, mediante la señalización con las células endoteliales (Cercy, 2021). Se ha mostrado que la exposición prolongada a altas concentraciones de

péptido  $\beta$ A conduce a la muerte y degeneración de los pericitos, asociado con hipoperfusión crónica, ruptura y aumento de la permeabilidad de la BHE que provoca la acumulación de sustancias tóxicas derivadas de la sangre y un aumento de la acumulación de péptido  $\beta$ A (Apátiga et al., 2021). La subunidad B del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-B), así como el receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas  $\beta$  (PDGFR  $\beta$ ) están estrechamente involucrados en la señalización, diferenciación, proliferación y supervivencia de estas células; una señalización defectuosa podría estar relacionada con los eventos mencionados contribuyendo a la neurodegeneración (Soto et al., 2021).

**2.2.1.2 Alternancia de células endoteliales y degradación de la BHE:** En cerebros *post-mortem* las proteínas de uniones estrechas, ocludina, claudina-5 y proteína de unión estrecha (ZO-1) se redujeron de manera significativa en los capilares, además de vasos fragmentados, cambios en el diámetro de los vasos, vacuolización, engrosamiento y ruptura local de la membrana basal capilar asociada con la acumulación vascular del péptido  $\beta$ A (Zenaro et al., 2017). La pérdida de la integridad de la BHE está asociada con la entrada de diferentes moléculas y células tóxicas derivadas de la sangre, produciendo una respuesta inmunitaria asociada con la neuroinflamación, y generando así disfunción en los componentes de la UNV (Yamazaki & Kanekiyo, 2017).

**2.2.1.3 Disfunción de pies astrocíticos terminales:** Los astrocitos rodean la mayoría de las porciones de los microvasos y capilares e interactúan con las células endoteliales a través de los pies astrocíticos terminales (Rosenecker et al., 2015). Estos últimos favorecen el flujo de líquido cefalorraquídeo (LCR) hacia el parénquima, así como la eliminación de solutos a través del drenaje de líquido intersticial (Marie et al., 2020). Por otro lado, en la progresión de la EA la morfología de los astrocitos se ve alterada. En la corteza temporal de pacientes con EA se localizan expresiones reducidas de Aquaporina 4 (AQP4) y del canal de agua de los pies astrocíticos (Marie et al., 2020). Así mismo, se ha observado una inflamación y retracción del pie astrocítico, relacionados con la exacerbación de la enfermedad.

**2.2.1.4 Alteración de la membrana basal:** La membrana basal funciona como una barrera física que se encuentra rodeando la parte abluminal de las células endoteliales (Morris et al., 2014), además media el anclaje y señalización de los pericitos, células endoteliales y localización de la proteína ocludina de las uniones estrechas (Yamazaki & Kanekiyo, 2017). Estudios histopatológicos en pacientes con EA han evidenciado el adelgazamiento y discontinuidades en la membrana basal que podrían contribuir al daño en la estabilidad y permeabilidad de la BHE (Yamazaki & Kanekiyo, 2017).



**Figura 6. Representación de los elementos de la UNV. A)** Componentes neurovasculares en condiciones fisiológicas. **B)** Alteraciones en componentes Neurovasculares en condiciones patológicas. Modificado de (Soto et al., 2021).

### 2.3 Tratamientos para la enfermedad de Alzheimer

Actualmente no existe ninguna cura para la EA, y debido al incremento de su prevalencia que la convierten en un problema de salud pública mundial, la búsqueda de tratamientos constituye una prioridad para los profesionales sociosanitarios. Actualmente, los tratamientos se enfocan solo en los síntomas de la enfermedad con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los pacientes (De la Rosa et al., 2020). De este modo los diversos tratamientos se pueden dividir en farmacológicos y no farmacológicos (Matilla-Mora et al., 2016).

### **2.3.1 Tratamientos farmacológicos**

En la EA se produce la muerte de las neuronas productoras de acetilcolina (Naumenko et al., 2016). Por ello, existen dos clases de fármacos aprobados por la *Food and Drug Administration* (FDA) para tratamiento de la enfermedad, incluidos los inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa y los antagonistas de los receptores N-metil D-aspartato (NMDA). Los inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa actúan bloqueando las enzimas colinesterasas y butirilcolinesterasa para que no descompongan la acetilcolina (relacionada a la función cognitiva), lo que provocará su aumento en la hendidura sináptica (Breijyeh & Karaman, 2020). Por otra parte, la sobreactivación de los receptores NMDA conduce a niveles crecientes de flujo de calcio, lo que conlleva a una disfunción sináptica y muerte neuronal, por lo tanto, estos medicamentos actúan restableciendo el flujo normal del calcio (Breijyeh & Karaman, 2020). A pesar de los efectos terapéuticos de estas dos clases de medicamentos, solo son efectivos para el tratamiento de los síntomas de la enfermedad, por lo que no tienen la cualidad de ser preventivos o curativos (Naumenko et al., 2016).

### **2.3.2 Tratamientos no farmacológicos**

Debido a la limitada eficacia del tratamiento farmacológico y a las repercusiones que generan los signos y síntomas de la enfermedad, es necesario la integración multidisciplinaria en pacientes con la EA. El abordaje no farmacológico debe de integrar a múltiples profesionales de la salud tales como terapeutas físicos, ocupacionales, y de lenguaje, así como los psicólogos y otros profesionales de la salud. Se ha sugerido una mejoraría en la función, independencia y calidad de vida de los pacientes con la EA, a través de diferentes tratamientos no farmacológicos, como terapia ocupacional, de lenguaje, cognitiva y el ejercicio físico (Zucchella et al., 2018).

#### **2.3.2.1 Ejercicio físico**

Se le conoce como actividad física a todo movimiento corporal producido por los músculos que genere un gasto de energía (OMS, 2018). El ejercicio físico a su vez se define como una variedad de activación física planificada, dosificada, repetitiva, y realizada con objetivo de mejorar o mantener uno o más componentes de la aptitud física como la fuerza, resistencia,

flexibilidad, coordinación, velocidad, etc. (OMS, 2018). Todos los cambios o adaptaciones en el organismo causadas por el ejercicio físico ocurren en las estructuras y funciones de los órganos y sistemas que integran el organismo, ya sea a nivel molecular, celular, tisular, orgánico y sistémico (De Sousa Fernandes et al., 2020). Estos cambios están relacionados con múltiples beneficios como: el mantenimiento y mejora del sistema osteomuscular, mejoras en el sistema inmune, reducción de un evento cardiovascular y una muerte prematura, beneficios a nivel cerebral entre otros (Chicharro, 2008). Sin embargo, la inactividad física a nivel mundial representa el cuarto factor de riesgo de mortalidad (OMS, 2009). En México el 57.9% de la población mayor de 18 años es inactiva, por lo que es de suma importancia el desarrollo de políticas públicas orientadas al fomento del deporte y la activación física (INEGI, 2020).

#### **2.3.2.1.1 Clasificación del ejercicio físico**

El ejercicio se puede clasificar de varias formas según la demanda del incremento de adenosiltrifosfato (ATP) y el aumento en el metabolismo aeróbico y anaeróbico. La resistencia aeróbica, es aquella que requiere de utilización de oxígeno para la producción de ATP mitocondrial, relacionada con el ejercicio de tipo continuo y larga duración de una intensidad de leve a moderada (Chicharro, 2008). La resistencia anaeróbica, es aquella que realiza su función sin requerimiento inmediato de oxígeno, relacionada con el ejercicio de tipo intermitente de corta duración y alta intensidad (Galdames-maliqueo & Cancino, 2018). La intensidad de la actividad física se puede medir a través de la unidad de metabolismo basal (METs), en donde 1 MET, equivale a 3.5 ml de oxígeno por kilogramo de peso por minuto, que corresponde al consumo de oxígeno mientras una persona se encuentra en reposo, el ejercicio se puede clasificar en intensidad leve aquel que se encuentra por debajo de 3 METs, intensidad moderada aquel que se encuentra entre 3-6 METs y por último intensidad vigorosa aquella que se encuentra por arriba de 6 METs; la intensidad también se puede medir mediante la frecuencia cardiaca (Riebe, 2013).

## 2.4 Modelos de ejercicio usados en experimentación con roedores

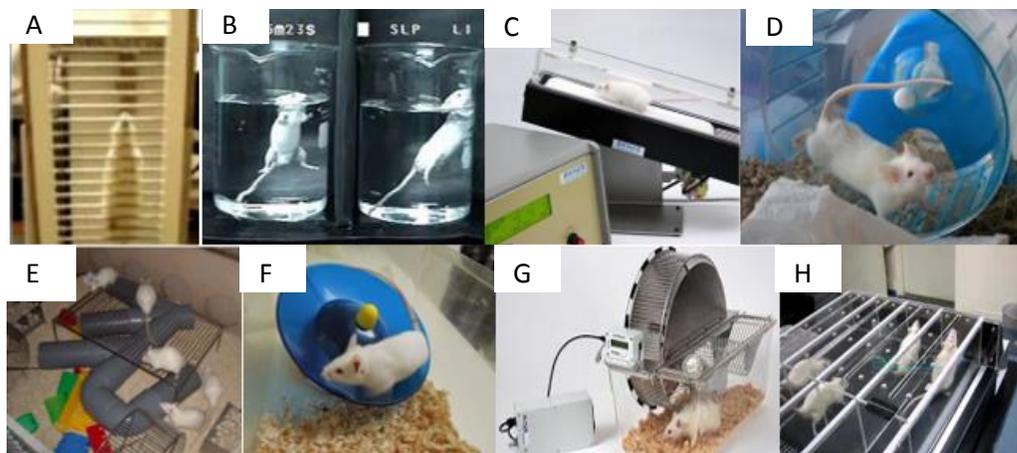
Los modelos de ejercicio utilizados en roedores se pueden clasificar en ejercicio físico voluntario y ejercicio físico inducido o forzado. Aunque ambos han demostrado tener efectos beneficiosos, se han observado diferencias al utilizar estos tipos de modelos. En la tabla 1 se sintetizan y comparan las principales diferencias entre estos dos modelos de ejercicio.

**Tabla1. Diferencias y ventajas de los diferentes modelos de ejercicio usados en experimentación** (Manzanares & Gandra, 2019; Ang et al., 2006; Leasure & Jones, 2008):

<b>Parámetro</b>	<b>Ejercicio físico voluntario</b>	<b>Ejercicio físico forzado</b>
Patrón de actividad	El Patrón de actividad similar al comportamiento normal del ratón.	El patrón de actividad está alejado del comportamiento normal del ratón
Factores relacionados a estrés	Se realiza en condiciones sin estrés, ni manipulación directa del investigador.	Algunos estudios utilizan estímulos aversivos como choque eléctrico y se manipula al animal.
Duración de estudio	Se pueden utilizar en estudios a largo plazo o incluso de por vida.	Más utilizado en estudios a corto plazo.
Cantidad de ejercicio	El investigador no tiene control sobre la cantidad de ejercicio realizado.	El investigador tiene control sobre la cantidad de ejercicio realizado.
Intensidad del ejercicio	El investigador no tiene control sobre la intensidad del ejercicio.	El investigador puede tener control de la intensidad dependiendo la herramienta que se utilice.
Extrapolabilidad del estudio a humanos	Debido a su ejecución es más parecido a una actividad física modera-alta, pero más extrapolable al humano.	Por su dosificación, es más similar a un entrenamiento físico humano, pero menos extrapolable

Existen varias herramientas utilizadas en la realización del ejercicio voluntario y forzado (Figura 8), como son el nado forzado, el plato de ejercicio, la escalera ponderada, las bandas y rueda motorizada (Manzanares & Gandra, 2019). No obstante, las más utilizadas son aquellas que involucran el uso de la rueda voluntaria, esta puede satisfacer los impulsos relacionados al juego, escape o el metabolismo que consiste en un comportamiento gratificante (Leasure & Jones, 2008). se ha observado que los ratones de laboratorio corren de forma espontánea cuando se les da acceso a estas, además de observarse este mismo comportamiento en ratones salvajes cuando se colocan ruedas en la naturaleza, así como un patrón de carrera más similar comparado con otras herramientas (Manzanares & Gandra, 2019). También hay estudios en los cuales se hace uso del ambiente enriquecido, en estos, además de colocar un modelo de ejercicio, el animal se encuentra

con estímulos visuales, auditivos y mecánicos, los cuales a lo largo del protocolo pueden ir variando para hacer uso de la innovación del ambiente y evitar a su vez la adecuación a este.

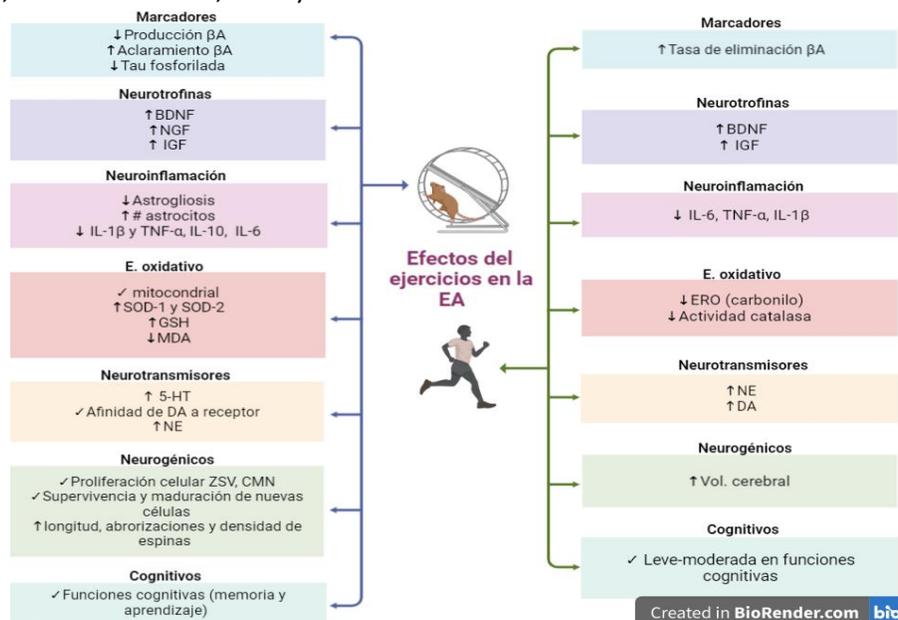


**Figura 7. Diferentes herramientas utilizadas en la aplicación de ejercicio físico en modelos murinos. A)** Escalera ponderada, **B)** Nado forzado, **C)** Cinta de correr hermética, **D)** Rueda de carrera voluntaria, **E)** Ambiente enriquecido, **F)** Platillo de carrera voluntaria, **G)** Rueda de ejercicio motorizada, **H)** Cinta de correr hermética de 5 carriles. Modificadas de (Google, s.f).

## 2.5 Efectos del ejercicio en la enfermedad de Alzheimer

Estudios realizados en humanos y en modelos animales han demostrado los efectos beneficiosos del ejercicio en la salud y en la función cerebral a través de múltiples mecanismos celulares y moleculares que inducen cascadas de señalización que promueven diferentes fenómenos fisiológicos relacionados a la mejora de los signos y síntomas de la EA (Figura 8) (De Sousa Fernandes et al., 2020; Liu et al., 2017; Mahalakshmi et al., 2020). Entre estos se encuentran la estimulación de liberación de factores neurotróficos, principalmente el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (Campos, 2016), disminución de la neuroinflamación atenuando la liberación de citocinas proinflamatorias como interleucina 1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), Interleucina 10 (IL-10), Interleucina 6 (IL-6), y el Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ). También participa en la regulación de procesos como astrogliosis (Gomes et al., 2013; Tapia et al., 2016), reducción de estrés oxidativo a través de la activación de una serie de mecanismos que mejoran la función mitocondrial y disminuyen la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) por medio del incremento de enzimas como superóxido dismutasa 1 y 2 (SOD1 Y SOD2) y catalasa entre otros factores, lo que permite incrementar la capacidad antioxidante del cerebro (Özbeyli

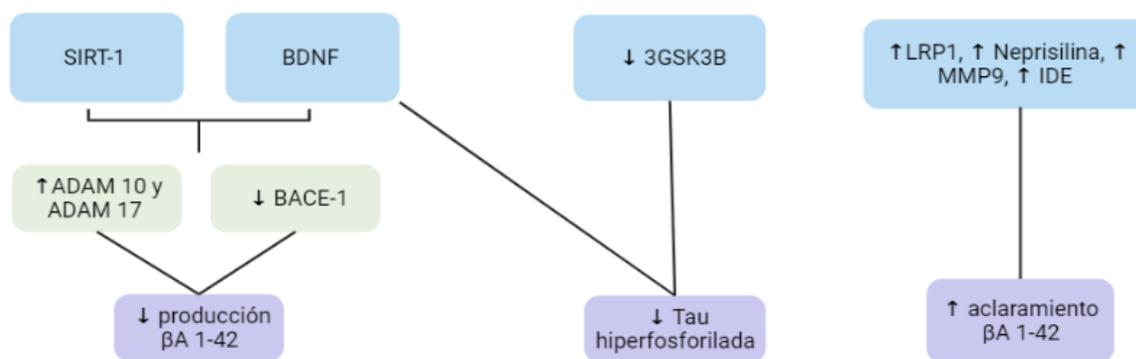
et al., 2017; Garcia et al., 2015). El ejercicio también aumenta la producción de neurotransmisores como dopamina, serotonina, noradrenalina, entre otros, disminuyendo así los síntomas neuropsiquiátricos presentes en la EA (Veronese et al., 2019; Ji et al., 2017). Así mismo promueve la maduración, proliferación, diferenciación y supervivencia de nuevas células, además de mitigar la atrofia cerebral, lo que está altamente relacionado con la plasticidad y cambios funcionales en el cerebro (Voss et al., 2013; Nicolis et al., 2019). Por último, existe evidencia del efecto positivo del ejercicio sobre la cognición en parámetros como atención, aprendizaje, memoria espacial y de trabajo (Voss et al., 2020). Sin embargo, esta evidencia se ha obtenido mayormente en utilizando modelos animales, ya que en humanos hasta el momento se han obtenido hallazgos contradictorios al respecto, debido probablemente a la gran variabilidad de tipos de ejercicio y programas utilizados en los protocolos (Demurtas et al., 2020). De manera que se necesitan evidencias más sólidas para demostrar estos beneficios sobre las funciones cognitivas (Voss et al., 2020; Shepherd et al., 2018; Demurtas et al., 2020).



**Figura 8. Efectos benéficos del ejercicio físico regular en modelos de roedores con la enfermedad tipo Alzheimer y pacientes con la patología. Estudios comparativos a niveles: celular, molecular y fisiológico. Abreviaciones: βA:** beta amiloide; **BDNF\*:** factor neurotrófico derivado del cerebro; **CMN:** células madre neurales; **DA:** dopamina; **ERO:** especies reactivas de oxígeno; **GSH\*:** glutatión; **HT:** hidroxitriptamina; **IGF\*:** factor de crecimiento similar a insulina; **IL:** Interleucina; **MDA:** malondialdehido; **NE:** noradrenalina; **NGF\*:** factor de crecimiento nervioso; **SOD:** superóxido dismutasa; **TNF-α\*:** factor de necrosis tumoral alfa; **ZSV:** zona subventricular (**\*siglas en inglés**). Fuente directa.

En la EA, la mayoría de los estudios se han centrado en analizar los efectos del ejercicio sobre el péptido  $\beta$ A y la proteína tau al ser los dos principales signos de la enfermedad. En modelos animales existe una mayor evidencia de la atenuación de estos signos posterior a la intervención de programas de ejercicio voluntario o forzado, esto a través de tres mecanismos principales: la menor producción y mayor aclaramiento de péptido  $\beta$ A, así como la disminución de las MNF de la proteína tau, por medio de la producción de diferentes componentes (figura 9) (Vasconcelos-Filho et al., 2021). La regulación de dichos mecanismos conlleva a la mejora de los signos de la enfermedad (Vasconcelos-Filho et al., 2021; Belarbi et al., 2011).

En estudios con pacientes la evidencia es mucho menor, esto debido a las limitaciones de las herramientas utilizadas para la evaluación de los signos patológicos. Sin embargo, existen estudios con radiotrazadores como la tomografía por emisión de positrones que han demostrado los efectos positivos del ejercicio para aumentar la tasa de eliminación de péptido  $\beta$ A (Liang et al., 2010). En el caso de los efectos del ejercicio sobre la proteína tau en pacientes la información es muy escasa (Liang et al., 2010).



**Figura 9. Mecanismos del ejercicio físico en los efectos neuropatológicos de la enfermedad de Alzheimer.**

**Abreviaciones:** ADAM\* desintegrina y metaloproteínasa; BACE\*: enzima crítica beta secretasa;  $\beta$ A: beta amiloide; BDNF\*: factor neurotrófico derivado del cerebro; GSK3B\*: enzima glucógeno sintetasa 3; IDE\*: enzima degradadora de insulina; LRP1\*: proteína 1 relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad; MMP9\*: metaloproteínasa de matriz-9; SIRT: sirtuina. (\*Siglas en inglés). Fuente directa.

La evidencia creciente, muestra que el ejercicio es una herramienta útil de tratamiento como estrategia no farmacológica para la EA (De la Rosa et al., 2020). Lo anterior debido a que su aplicación ha demostrado ser segura, así como beneficiosa para los pacientes con EA. Si bien existe evidencia de la eficacia del ejercicio como parte del

tratamiento para los pacientes con EA, actualmente no se cuentan con guías o pautas específicas para la dosificación del ejercicio en estos pacientes (Li et al., 2020; Nascimento et al., 2016), por lo tanto, es necesario implementar más estudios para la aplicación en etapas específicas y con protocolos diferentes que establezcan los tipos de ejercicio y la dosificación del entrenamiento que sean eficientes y que puedan contribuir en la generación de guías específicas para su tratamiento. Adicionalmente, se considera un verdadero desafío la interpretación y comparación entre los estudios del modelo animal y los de humanos debido a las discrepancias en los protocolos del ejercicio como tratamiento, y la gran variabilidad en parámetros, muestreo y resultados, lo que al mismo tiempo se presenta como una excelente oportunidad para futuras investigaciones en el estudio de vías subyacentes de los efectos del ejercicio en la EA.

## **2.6 Modelos experimentales para la enfermedad del Alzheimer**

A lo largo de los años los modelos animales han sido utilizados para el estudio y comprensión de procesos fisiológicos y fisiopatológicos, tratando de reproducir una condición observada en el humano, sin embargo, no en todos los casos es posible extrapolar estos resultados (Salas-castillo et al., 2013). Distintos modelos se han utilizado para simular algunas de las semejanzas de la EA, tales como los depósitos del péptido  $\beta$ A y de la proteína tau, déficits de memoria y aprendizaje. Estos modelos se pueden clasificar en transgénicos y no transgénicos (Jürgen Götz & Ittner, 2008; Wong-Guerra et al., 2015).

### **2.6.1 Modelos animales no transgénicos para enfermedad de Alzheimer**

Los modelos no transgénicos para la EA son aquellos que no han sido manipulados genéticamente, en los cuales se realiza una lesión previa en regiones específicas como hipocampo y corteza prefrontal, inducción de la reducción de un neurotransmisor o la inyección directa de un agente neurotóxico. Entre los principales modelos no transgénicos para la EA utilizados para el estudio de características patológicas y cambios conductuales se encuentran los siguientes (Wong-Guerra et al., 2015): 1) modelo colinérgico inducido por escopolamina; 2) modelo de resistencia cerebral a la insulina inducido por administración de estreptozotocina intracerebroventricular; 3) modelo de déficit cognitivo inducido por aluminio; 4) modelo de administración intracerebroventricular de péptido  $\beta$ A. Por otra

parte, existen modelos no transgénicos que expresan síntomas de manera espontánea, sin ninguna intervención (Wong-Guerra et al., 2015). Estos modelos se encuentran relacionados principalmente con procesos seniles, tales como los modelos caninos y primates. La ventaja de estos modelos son el desarrollo de forma natural y similar al humano de características neuropatológicas tales como las placas de péptido  $\beta$ A (Wong-Guerra et al., 2015). Sin embargo, son modelos poco utilizados debido al largo tiempo requerido para la formación de los procesos neuropatológicos en comparación con los modelos inducidos en la rata y el ratón (Briones S et al., 2010; Fainman et al., 2007).

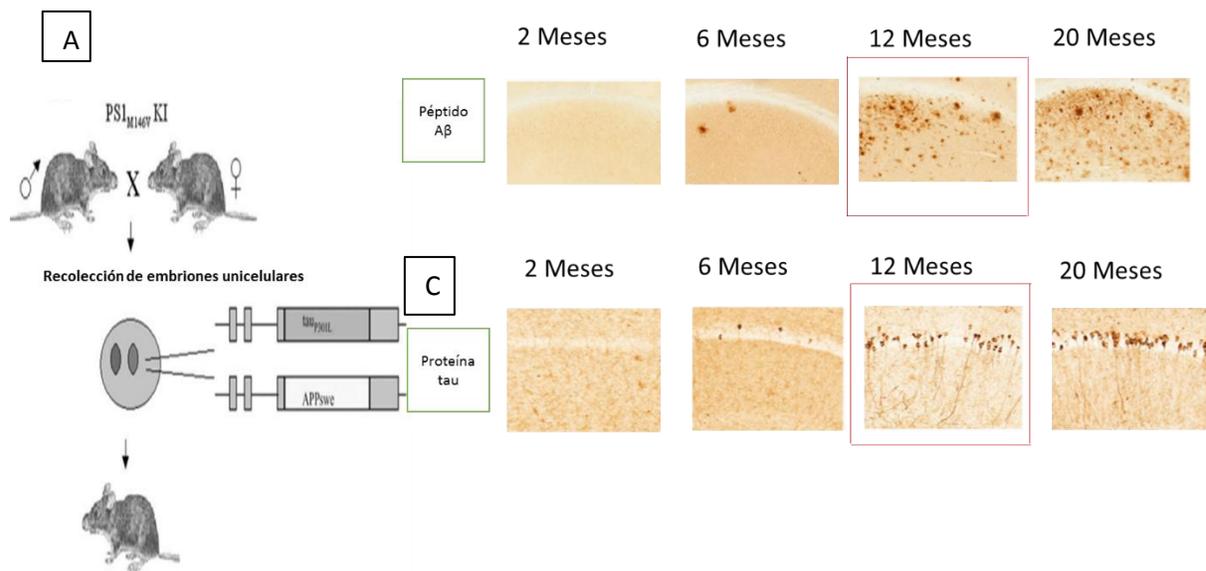
### **2.6.2 Modelos animales transgénicos para la enfermedad de Alzheimer**

Los modelos animales transgénicos son aquellos que han sido manipulados genéticamente mediante la inserción (*knock-in*) o silenciamiento de genes (*knock-out*), que se han asociado con el desarrollo de la enfermedad con el objetivo de analizar sus efectos. Estos modelos son los más utilizados para el estudio de la EA, siendo el más empleado el ratón (J. Götz et al., 2004; Jürgen Götz & Ittner, 2008). La principal ventaja de estos modelos es que se pueden aislar variables específicas de la enfermedad e investigar cómo estas inciden sobre la progresión de la enfermedad y su respuesta a distintos tratamientos. Los modelos desarrollados se basan en modificar la expresión de genes afectados en la EA y que están involucrados en el metabolismo de las proteínas APP, presinilina (PS), tau y apolipoproteína (APOE), así como en la generación de dos, tres o cinco mutaciones específicas que conducen al desarrollo de la enfermedad (Manzano et al., 2009).

### **2.6.3 Modelo triple transgénico para la enfermedad de Alzheimer**

La generación del modelo de ratón triple transgénico para la EA (3xTgAD) fue publicada en el año 2003 en la Universidad de California por el Dr. Oddo y colaboradores (Oddo et al., 2003), en el se observa el desarrollo tanto de PNs como de MNF (Figura 9). Este modelo fue desarrollado con el objetivo de investigar de forma progresiva, la interacción entre el péptido  $\beta$ A y tau y su efecto sobre la función sináptica, así como la pérdida de disfunción sináptica dependiente de la edad. Para la creación de este modelo en lugar de cruzar líneas independientes se microinyectaron los transgenes APPSwe y tauP301L en embriones unicelulares de homocigotos para la variante PS1M146V (Oddo et al., 2003). Este modelo

desarrolla los primeros depósitos extracelulares de péptido  $\beta$ A en el subículo de CA1 del hipocampo a los 6 meses de edad, los cuales se pueden ver con mayor predominio a los 12 meses de edad tanto en corteza como en hipocampo (Oddo et al., 2003). En cuanto al aumento de tau hiperfosforilada se puede observar por primera vez a los 6 meses de edad, en las regiones caudal y medial del hipocampo, pero no en hipocampo rostral, mostrando un aumento significativo en hipocampo y en corteza a los 12 meses, y que progresa con la edad (Belfiore et al., 2019). Así mismo, presenta procesos de microgliosis a los 6 meses de edad y astrogliosis a los 12 meses de edad, ambos procesos relacionados a su vez con el desarrollo de neuroinflamación (Belfiore et al., 2019). Por último, las deficiencias en el aprendizaje y memoria son significativas por primera vez a los 6 meses de edad y aumentan a medida que los ratones envejecen (Puzzo et al., 2015). Todas estas similitudes con la progresión de EA, hacen a este modelo uno de los más utilizados y adecuados para el estudio de esta enfermedad (Belfiore et al., 2019).



**Figura 10. Modelo triple transgénico para la enfermedad de Alzheimer (3xTg-AD).** A) Desarrollo del modelo 3xTg-AD. B) Agregados extracelulares del péptido  $\beta$ A. C) Agregados intracelulares de la proteína tau. Modificada de (Oddo et al., 2003; Belfiore et al., 2019)

### **3. Justificación**

La demencia de tipo Alzheimer, es la enfermedad neurodegenerativa con mayor prevalencia en el mundo, caracterizándose por presentar dos sellos histopatológicos patognomónicos: 1) las MNFs, constituidas principalmente de tau hiperfosforilada, y 2) agregados extracelulares del péptido  $\beta$ A, tanto en el parénquima cerebral formando las PNs, como en los vasos sanguíneos constituyendo la ACC. Esta última, asociándose con una disfunción de los componentes estructurales y celulares de la UNV y por tanto con una alteración de la dinámica neuronal. Los signos y síntomas característicos conllevan a una repercusión en las actividades de la vida diaria, afectando la calidad de vida de los pacientes que la padecen. Se sabe que la incidencia de la enfermedad seguirá aumentando con el paso de los años, debido a esto y a las grandes repercusiones económicas que se tendrán, se necesita la implementación de tratamientos de fácil aplicación y de bajo costo, los cuales contribuyan a preservar en mayor medida la funcionalidad, independencia y la calidad de vida de los pacientes. El ejercicio físico ha demostrado ser beneficioso y seguro como parte del tratamiento para la EA, sin embargo, en la actualidad algunos de los mecanismos por los cuales lo hace aún no se conocen bien. Por lo tanto, es de suma importancia analizar y comprender sus alcances por medio del uso de modelos animales. El modelo 3xTg-AD desarrolla alteraciones cognitivas, placas de péptido  $\beta$ A y acumulación intracelular de la proteína tau, por tanto, representa un modelo adecuado para comprender los mecanismos neuropatológicos implicados, así como para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. Se ha demostrado la importante relación entre la disfunción de los elementos neurovasculares con la EA, sin embargo, no están claros los efectos del ejercicio físico sobre estos elementos. Por ello, en el presente estudio, se evaluarán los efectos del ejercicio sobre la morfoestructura de la vasculatura cerebral, así mismo, sobre el aprendizaje y memoria espacial en el ratón triple transgénico para la EA.

#### **Pregunta de Investigación**

¿Cuáles son los efectos del ejercicio físico sobre el aprendizaje, memoria espacial y la morfoestructura de la vasculatura cerebral en un modelo animal para la enfermedad de Alzheimer?

#### **4. Hipótesis**

La intervención con ejercicio físico tendrá un efecto benéfico sobre el aprendizaje y la memoria espacial, las células de la unidad neurovascular, morfoestructura vascular y depósitos de  $\beta A$  en la vasculatura cerebral en un modelo murino para la enfermedad de Alzheimer

#### **Hipótesis nula**

La intervención con ejercicio físico no tendrá efecto sobre el aprendizaje y la memoria espacial, las células de la unidad neurovascular, morfoestructura vascular y depósitos de  $\beta A$  en la vasculatura cerebral en un modelo murino para la enfermedad de Alzheimer

#### **5. Objetivo General**

Analizar los efectos del ejercicio físico en el aprendizaje, memoria espacial y la morfoestructura vascular cerebral posterior a la intervención de ejercicio físico, en un modelo para la enfermedad de Alzheimer.

#### **Objetivos específicos:**

- Analizar el rendimiento físico de ratones 3xTg-AD sometidos a un protocolo de ejercicio físico voluntario.
- Evaluar el impacto del ejercicio físico voluntario en el aprendizaje y la memoria espacial.
- Evaluar el efecto del ejercicio físico voluntario en valores de peso corporal y peso del músculo gastrocnemio.
- Analizar los depósitos de péptido  $\beta A$  y vasos sanguíneos en hipocampo posterior a la intervención de ejercicio físico voluntario.
- Evaluar el efecto del ejercicio sobre la morfoestructura de los vasos sanguíneos y componentes celulares de una UNV.
- Correlacionar los hallazgos en las células vasculares, con la cognición y depósitos amiloide.

## 6. Material y métodos

### 6.1 Tipo de estudio

Estudio experimental, prospectivo y longitudinal.

### 6.2 Tamaño y características de la muestra

Para la realización del protocolo se usaron un total de 40 ratones hembras, 3xTg-AD comparado con las no transgénicas (No-Tg) en una edad de 10 meses, distribuidos en 4 grupos (Tabla 2). Se utilizaron hembras debido a que en ensayos previos realizados en nuestro grupo encontramos mayor evidencia de AAC en estas. Todos los ratones fueron criados en condiciones óptimas en el bioterio, almacenados en cajas de policarbonato de 12\*12\*25 centímetros, con una temperatura de 20 ±2° C con ciclos de luz/oscuridad invertidos de 12 horas (7:00 am a 7:00 pm), con alimento y agua *ad libitum*. Con la finalidad de promover un trato humanitario a los animales de experimentación y fomentar la reducción del uso de animales, los experimentos se apegaron a las normas internacionales para el cuidado y uso de animales de laboratorio establecidas por el Consejo de Investigación Nacional de las Academias Nacionales de los Estados Unidos de América y del Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología (INB) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) con número de protocolo 117.

Tabla 2. Distribución de grupos y tratamiento para el experimento.

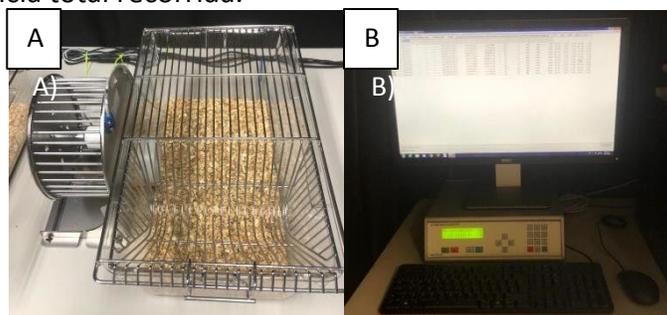
Grupo	Número de individuos	Edad	Condición	Intervención	Duración del tratamiento
1	10	10 meses	3xTg-AD	Ejercicio físico voluntario.	3 meses
2	10	10 meses	No-Tg	Ejercicio físico voluntario.	3 meses
3	10	10 meses	3xTg-AD	Sedentario	na
4	10	10 meses	No-Tg	Sedentario	na

Abreviaturas: No aplica (na)

### 6.3 Dosificación del ejercicio

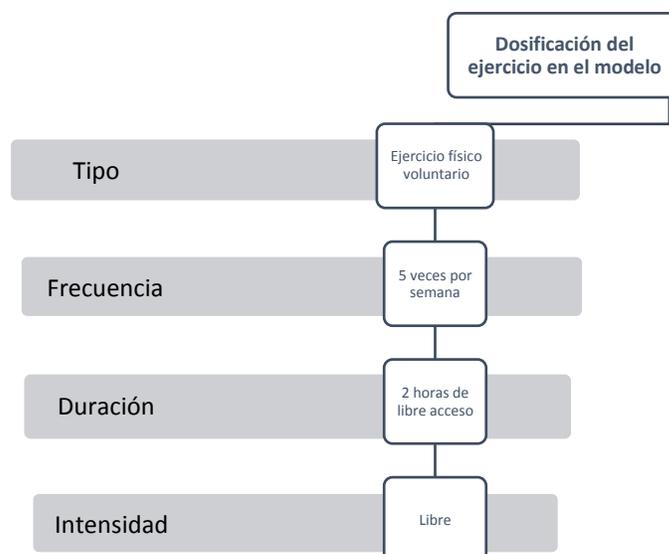
Se utilizó el modelo de rueda de carrera voluntaria (Panlab LE905, Barcelona, España), para ratón de la marca Panlab con un total de cinco ruedas alojando un animal por rueda. Los componentes de este equipo están fabricados de acero inoxidable y se utilizaron con cajas

de policarbonato, estas estaban conectadas al multicontador LE3806 marca Panlab el cual permite contabilizar la cantidad de vueltas realizadas por el animal en intervalos de 10 minutos y la distancia total recorrida.



**Figura 11. Elementos utilizados en la aplicación de ejercicio voluntario A) Modelo de rueda de carrera voluntaria utilizada. B) Multicontador utilizado para el protocolo. Fuente directa.**

La dosificación del ejercicio físico voluntario en los ratones 3xTgAD, se realizó como se explica en la Figura 12.



**Figura 12. Dosificación del ejercicio a emplearse en el desarrollo del experimento.**

#### **6.4 Estrategia experimental**

La ejecución del diseño experimental se ilustra en la figura 12. Primero se inició con el protocolo de ejercicio voluntario en hembras de 10 meses de edad durante 3 meses, simultáneamente se realizó una medición de peso corporal semanalmente. Posterior a los tres meses de ejercicio, se llevó a cabo la evaluación conductual en todos los grupos en una

edad de 13 meses. Una vez realizada la prueba conductual, se realizó el sacrificio de los animales mediante la técnica de perfusión, se realizó el pesaje del gastrocnemio, y se llevaron a cabo las distintas técnicas histológicas para el posterior análisis de imágenes.

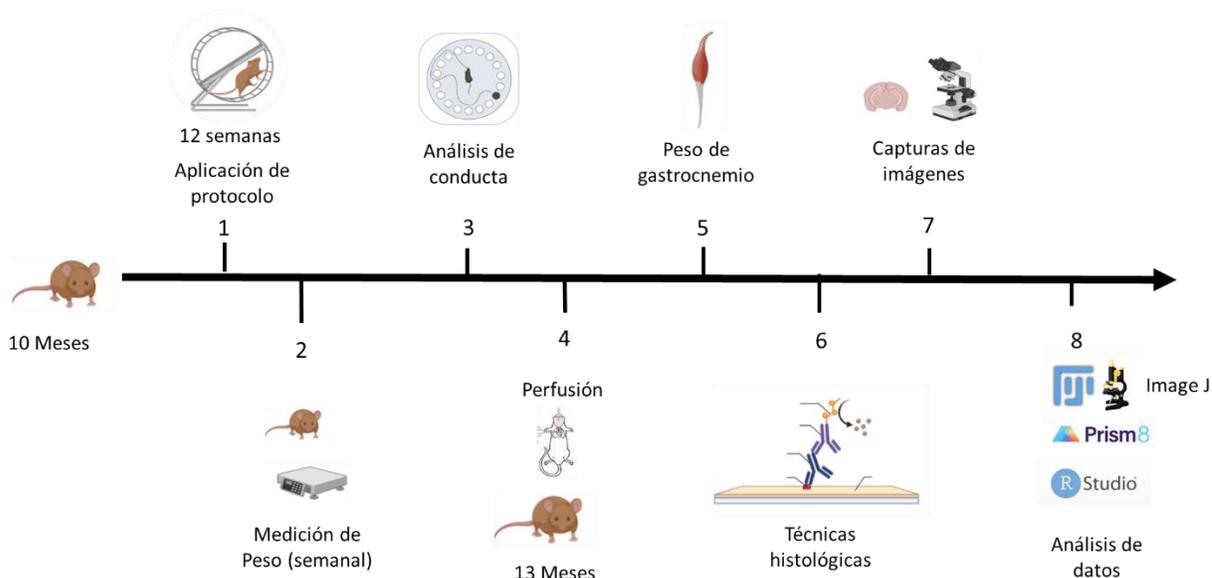


Figura 13. Estrategia experimental empleada.

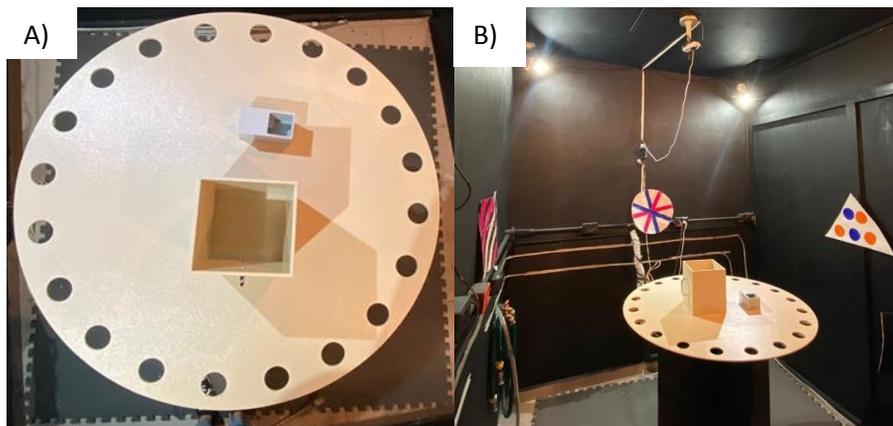
## 6.5 Técnicas de evaluación

### 6.5.1 Evaluación conductual

#### 6.5.1.2 Laberinto de Barnes

La conducta en los animales fue evaluada posterior a la intervención de tres meses de ejercicio a la edad de 13 meses, por medio del laberinto de Barnes, este fue diseñado originalmente por Carol Barnes en 1979 con el objetivo de evaluar el aprendizaje espacial y la memoria en tierra firme, en donde los animales escapan de una superficie circular expuesta e iluminada, a una caja de seguridad colocada en uno de los agujeros, superando el estrés ocasionado por el agua. En el laberinto acuático de Morris, el laberinto originalmente fue diseñado para su uso en ratas y posteriormente adaptado para ratones (Gawel et al., 2019). Desde su origen se han diseñado diferentes protocolos y adaptaciones, para el presente trabajo se llevó a cabo mediante las siguientes características y procedimiento:

- **Características del laberinto:** Se utilizó el laberinto de Barnes para ratón de la marca (San Diego Instrumens, SD, EE.UU.) (Figura 14), que consiste en una plataforma de polietileno de color gris claro con un diámetro y altura de 91.2 cm y un peso de 35 kilogramos. La plataforma contiene en su periferia 20 agujeros, en uno de ellos se encuentra la caja refugio para el ratón. La caja en el que fue colocado el ratón para el comienzo de las pruebas tiene unas medidas de 20 centímetros de altura y 15 centímetros de diámetro.
- **Características del ambiente:** La conducta se realizó en un cuarto con dimensiones de 2x2 metros (figura 14). Se utilizaron 4 claves espaciales fuera del laberinto (cuadro, triángulo, cruz y círculo), las cuales fueron colocadas a 1 metro de altura. Como único estímulo aversivo se utilizaron cuatro lámparas de luz blanca en las esquinas superiores del cuarto acondicionado, logrando un total de 150 luxes (medida en laberinto). El experimento fue grabado mediante una cámara marca STEREN (CCTV-205) suspendida a 1 metro por arriba del laberinto.



**Figura 14.** El efecto del ejercicio fue evaluado mediante el laberinto de Barnes A) Laberinto de Barnes empleado en la evaluación conductual. B). Ambiente utilizado en la evaluación conductual.

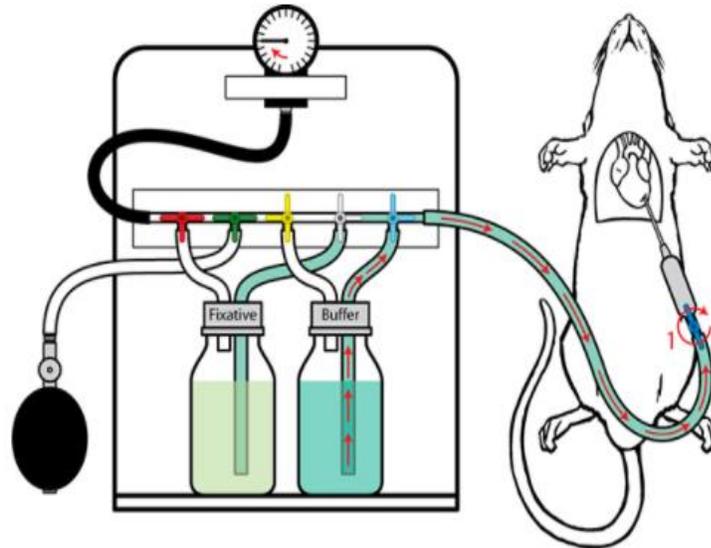
- **Fase de habituación:** Como primer paso de la prueba, 3 días posteriores a la culminación del protocolo de ejercicio para familiarizar al animal con el laberinto y reducir los niveles de ansiedad que pueden afectar su comportamiento, se realizó una prueba de habituación 1 hora antes de la fase de entrenamiento. Para ello, se colocó al animal en su caja de bioterio sobre el laberinto y con las condiciones y

estímulos aversivos previamente descritos, se dejó un total de 3 minutos. Posteriormente, se sacó al ratón y se prosiguió con el siguiente animal.

- **Fase de entrenamiento:** una hora después de haber realizado la fase de habituación se inició con la fase de entrenamiento, se colocó al ratón en el centro del laberinto en la caja de comienzo, posterior a 15 segundos se liberó al animal, con las luces del cuarto encendidas y se le dio 3 minutos para que pudiera encontrar la caja refugio que fue puesta en uno de los agujeros. Cuando el ratón entraba a la caja refugio fue retirado, en caso de no entrar a la caja refugio posterior a los 3 minutos, se colocó al animal en la caja refugio y se dejó ahí durante 15 segundos y después fue retirado del laberinto. Después de 15 minutos se repitió el mismo procedimiento, realizando un total de 4 ensayos por día durante 4 días consecutivos. Entre cada ensayo el laberinto fue limpiado con etanol al 70 %. Se tomó como variable la latencia de escape de cada uno de los entrenamientos.
- **Prueba de retención:** 24 horas después de la fase de entrenamiento se llevó a cabo la prueba de retención, para esta, la caja refugio fue retirada del laberinto y se colocó al ratón en el centro del laberinto en el tubo de comienzo. 15 segundos después fue liberado y se dieron 2 minutos para que el ratón explorara el laberinto. Como variables se tomaron en cuenta la latencia en la que el ratón llegó al agujero donde se encontraba la caja refugio, la latencia en el cuadrante en donde se encontraba la caja refugio, y los errores al asomar la cabeza en otro agujero.

### 6.5.2 Técnica de perfusión

Todos los animales se anestesiaron mediante la administración de una dosis letal intraperitoneal de pentobarbital sódico y fijados por perfusión (Figura 15) con una solución de paraformaldehído al 4 % (PFA 4%), en solución salina amortiguada por fosfatos al 0.1 molar (PBS 0.1 M) con un PH de 7.4. La solución fue introducida por medio de una bomba peristáltica. La solución fijadora fue introducida mediante un catéter colocado en el ventrículo izquierdo del animal; la solución fue distribuida al cuerpo por medio de la red capilar. Posteriormente, se realizó una disección del cerebro, y fue mantenido en PFA para su uso posterior.



**Figura 15. Técnica de perfusión intracardiaca.** Tomada de (Gage et al., 2012).

### 6.5.3 Genotipificación

Todos los animales del estudio fueron genotipificados mediante la prueba de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), se realizó la extracción de DNA del segmento más caudal de la cola (aproximadamente 0.5 cm de largo) que fueron colocados en un tubo eppendorf de 1 ml con 500  $\mu$ l de NaOH de 0.05M, se incubó a 95°C por PCR para comprobar la presencia de los genes de la PPA, y de la proteína tau, así como del gen de la *presenilina 1(PS1)*. El producto de la PCR detectó *PPA* y *tau*, se observaron a 500pb y 350pb respectivamente al ser cargados en un gel de agarosa al 1% y adicionando 3 ml de azul de bromofenol para cada muestra, y aplicando de 90-100 V. Los geles fueron visualizados por luz UV (Figura 17).

### 6.5.4 Peso corporal y peso del músculo gastrocnemio

Se llevó a cabo la medición de peso corporal de todos los ratones una vez por semana durante el transcurso del protocolo (3 meses). Una vez realizada la técnica de perfusión se realizó la disección del músculo gastrocnemio para evaluar los procesos de hipertrofia. Tanto para la evaluación del peso corporal, como del peso del gastrocnemio se utilizó una báscula marca SCIENTECH SP 500 y la unidad de medida para el peso corporal fueron los gramos (gr), y los miligramos(mg) para el peso del gastrocnemio.

## 6.5.5 Técnicas histológicas

### 6.5.5.1 Anticuerpos empleados

Se realizaron cortes cerebrales coronales a 5  $\mu\text{m}$  de grosor en microtomo (Leica RM 2135, Wetzlar, Alemania) a los niveles 2.46-2.70 respecto a bregma con base en el atlas de Paxinos. Posteriormente se realizó la técnica de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia mediante anticuerpos específicos (tabla 3).

**Tabla 3. Anticuerpos empleados en el proceso de la inmunohistoquímica.**

Nombre	Epítipo	Especie de origen	Concentración
BAM-10	Oligómeros de péptido $\beta\text{A}$ de longitud 1-40.	Ratón	1:500
Anti PDGFR $\beta$	Receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas de los pericitos.	Conejo	1:200
Colágeno IV	Colágeno tipo IV de las membranas basales.	Ratón	1:200
Aquaporina 4	Pies de astrocitos	Ratón	1:500

### 6.5.5.4 Ensayo de inmunohistoquímica para beta amiloide y pies astrocíticos

Los tejidos se desparafinaron a 60° C, se hidrataron, y se incubaron con peróxido de hidrógeno al 1%. Se realizó el desenmascaramiento del epítipo en buffer de citrato durante 10 minutos en microondas y posteriormente se incubaron con una solución bloqueadora de albúmina sérica bovina al 0.2% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.) durante 1 hora. Posteriormente, los respectivos anticuerpos primarios anti-ratón  $\text{A}\beta$  (BAM-10, 1:500, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.) y ratón IgG monoclonal AQP4 (1:30; Santa Cruz Biotechnology; Dallas, TX, EE.UU.) se incubaron en cámara húmeda a 4 °C durante la noche. Al día siguiente, los tejidos se incubaron con los correspondientes anticuerpos biotinilados secundarios (1:500, Invitrogen Molecular Probes; Eugene, EE.UU.) durante 2 horas a temperatura ambiente y se revelaron con el kit ABC/diaminobencidina. Finalmente, los tejidos fueron contrateñidos con una combinación de colores de anilina Hematoxilina-eosina (para marcar toda la célula, tanto núcleo como citoplasma), y posteriormente fueron montados en portaobjetos utilizando resina Entellan (Merck, KGaA; Darmstadt, Alemania).

Las imágenes digitales se capturaron usando un microscopio óptico (Eclipse Ci-Li; Nikon, Japón) con una lente de aire Nikon Plan 20x/0.40. Se analizó el porcentaje de área de inmunorreactividad ( $\mu\text{m}/\text{cm}^2$ ) de los depósitos de A $\alpha$ -4 y A $\beta$  tanto en el subículo (placas) como en la fisura del hipocampo (vasos sanguíneos). Además, evaluamos la morfología vascular a través de los siguientes parámetros: (1) área y perímetro del vaso, (2) diámetro de Feret (la circularidad de los vasos sanguíneos), (3) espacio perivascular y (4) proporción de vasos (vasos con espacio perivascular). dividida por vasos sin este espacio). Tanto la inmunorreactividad como la morfología vascular se evaluaron en tres fotomicrografías aleatorias en cuatro-cinco niveles anatómicos por animal, utilizando el software *image j* (National Institutes of Health, EE. UU.).

#### **6.5.5.2 Doble Inmunofluorescencia para pericitos y colágeno IV**

Para los ensayos de inmunofluorescencia doble, seguimos los mismos pasos que los ensayos de inmunohistoquímica, solo agregando un pretratamiento con una solución de proteinasa K al 0.4% durante 10 minutos. Posteriormente, las muestras se incubaron a 4 °C durante la noche con el siguiente par de anticuerpos primarios: anti-conejo-PDGFR  $\beta$  para detectar pericitos (1:250 Abcam, Cambridge, Reino Unido) y anti-ratón-Colágeno IV para la membrana basal (1:300, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.). Después de la incubación, los tejidos se lavaron y se incubaron con un cóctel adecuado de anticuerpos secundarios durante 1 hora a temperatura ambiente: Alexa Fluor 488 cabra anti-conejo H+L IgG (1:300; Invitrogen Molecular Probes; Eugene, OR, EE. UU.), y Alexa Fluor 594 donkey anti-mouse H+L IgG (1:300; Invitrogen Molecular Probes; Eugene, OR, EE. UU.). Los núcleos se contrastaron con DAPI 1  $\mu\text{M}$  (Sigma-Aldrich; St. Louis, MO, EE. UU.) y los cortes se montaron en portaobjetos de vidrio usando VECTASHIELD (Vector Laboratories; Burlingame, CA, EE. UU.). Las imágenes de fluorescencia se obtuvieron con un microscopio Zeiss, Axio Vert y microscopio A1 FL (Zeiss; Berlín, Alemania) a través de filtros de 385 nm (UV), 555 nm (fluorescencia verde) y 630 nm (fluorescencia roja) utilizando un objetivo de 63x. Las imágenes se digitalizaron con una cámara a color AxioCam 208, posteriormente se exportaron al software Image J (National Institutes of Health, EE.UU.), después se midió el área de inmunofluorescencia de los vasos sanguíneos como se describe en el inciso anterior.

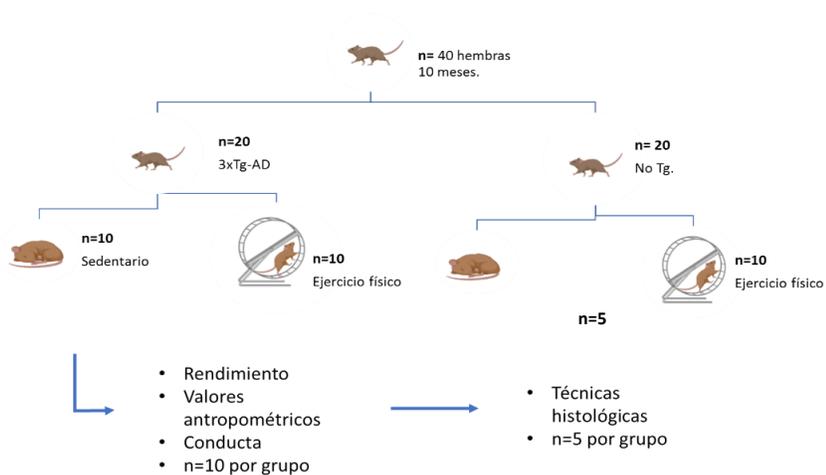
### **6.5.5.3 Procesamiento de muestras de tejido musculoesquelético**

Una vez realizada la disección y pesaje del músculo gastrocnemio se fijó en paraformaldehído al 4x. Posteriormente se incluyó en parafina y se realizaron cortes en microtomo de un grosor de 5 micras, se llevó a cabo el proceso de desparafinado, para posteriormente teñir las muestras con hematoxilina-eosina. El tren de tinción consistió en colocar el tejido en hematoxilina de Harris durante 3 minutos, alcohol ácido durante 20 segundos, agua amoniacal durante un minuto, eosina durante 30 segundos, alcoholes al 70, 80, 96 % y absoluto un minuto por cada uno. Se deshidrató el tejido y se montaron con medio de montaje Entellan (Merck, KGaA; Darmstadt, Alemania). Por último, se realizó el análisis cualitativo de las imágenes.

### **6.5.6 Análisis estadístico**

Una vez realizada las valoraciones correspondientes, los resultados fueron capturados en Microsoft Excel 2016, posteriormente esta base de datos fue analizada mediante el software Graphpad Prism versión 8 y Rstudio 3.6.3. Para el análisis de los videos de pruebas conductuales se utilizó el software Smart, considerando las variables experimentales antes descritas. Posteriormente, los resultados fueron analizados en el software Graphpad Prism versión 8. Los datos se sometieron al análisis de prueba de normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk y la prueba de homocedasticidad con la prueba de Levene para después realizar el análisis de varianza vía ANOVA de dos vías, así como la prueba post hoc de Tukey. Los resultados se consideraron significativos cuando la  $p < 0.05$  para todas las pruebas realizadas. Para el análisis de correlación solo se evaluaron los grupos sedentarios y de ejercicio de los ratones 3xTg-AD, y se determinó el coeficiente de correlación de Pearson y la regresión lineal posterior. La diferencia estadística se consideró en  $p < 0.05$ .

Para los datos mostrados a continuación se tomaron en cuenta los siguientes números de sujetos por grupos para los diferentes resultados:

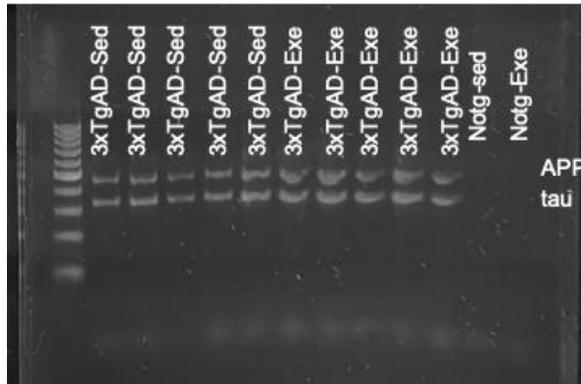


**Figura 16.** Distribución de grupos y número de sujetos tomados en cuenta para cada una de las variables evaluadas.

## 7. Resultados

### 7.1 Genotipificación

Primeramente, verificamos que los ratones expresaran los genes APP y Tau. En la figura 17 se muestran los resultados de genotipificación obtenidos de la PCR en la que se empleó DNA proveniente de la cola de los ratones. Se muestran la expresión del gen APP y Tau de peso molecular 500pb y 350pb respectivamente.

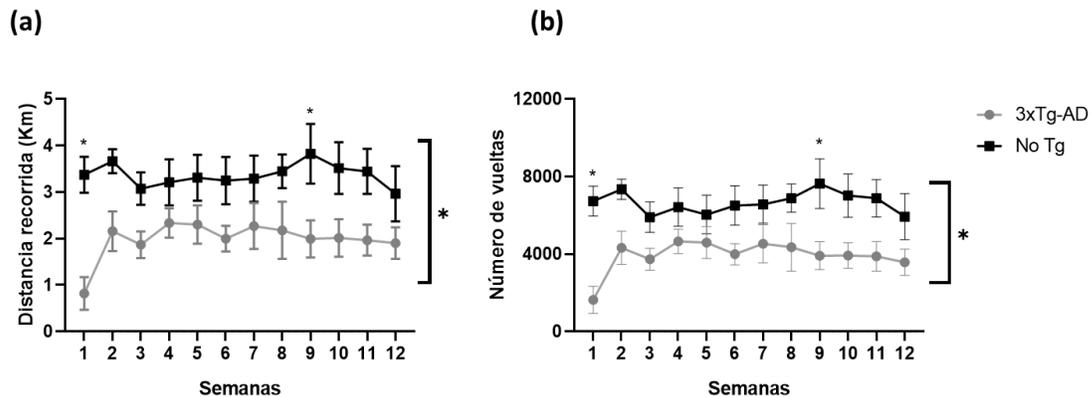


**Figura 17. Genotipificación de los grupos utilizados.** Se muestra las diferentes condiciones y genes en las bandas.

### 7.2 Rendimiento físico evaluado en rueda de carrera voluntaria

#### 7.2.2 El rendimiento físico del ratón 3xTg-AD es menor al del No-tg

Se encontró un menor rendimiento físico evaluado en la prueba tal y tal en el grupo 3xTg-AD en comparación con el grupo No-tg durante 12 semanas de entrenamiento (Figura 18) ( $p < 0.05$ ), y no se encontraron diferencias en el tiempo entre los sujetos del mismo grupo.

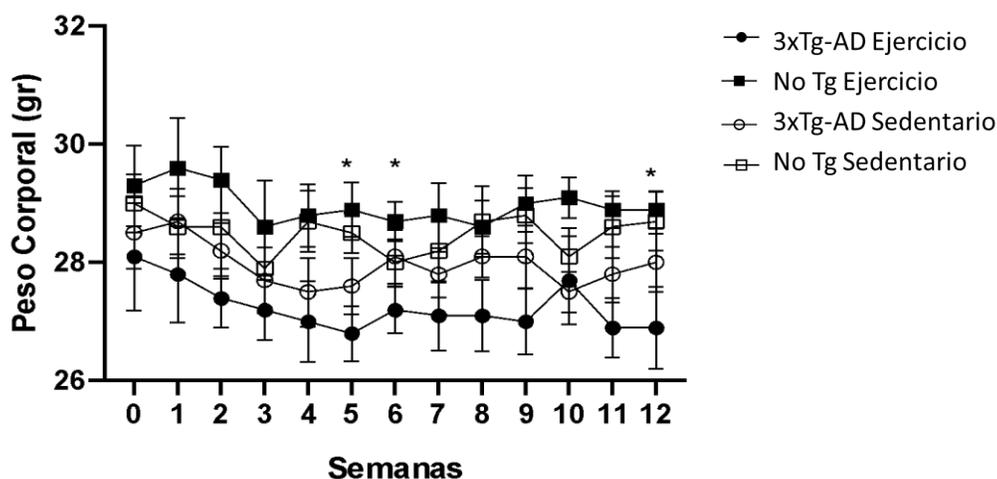


**Figura 18. El rendimiento físico del ratón 3xTg-AD es menor al No-Tg.** Se muestra la media y el error estándar al paso del tiempo durante las 12 semanas en **a)** Distancia en kilómetros y **b)** Números de vueltas. Estadísticamente existe una diferencia significativa entre ambos grupos (ANOVA medidas repetidas, post hoc de Tukey  $n=10$  por grupo  $*p<0.05$ ).

### 7.3 Efectos del ejercicio físico en valores antropométricos

#### 7.3.1 El ejercicio no provocó cambios en el peso corporal

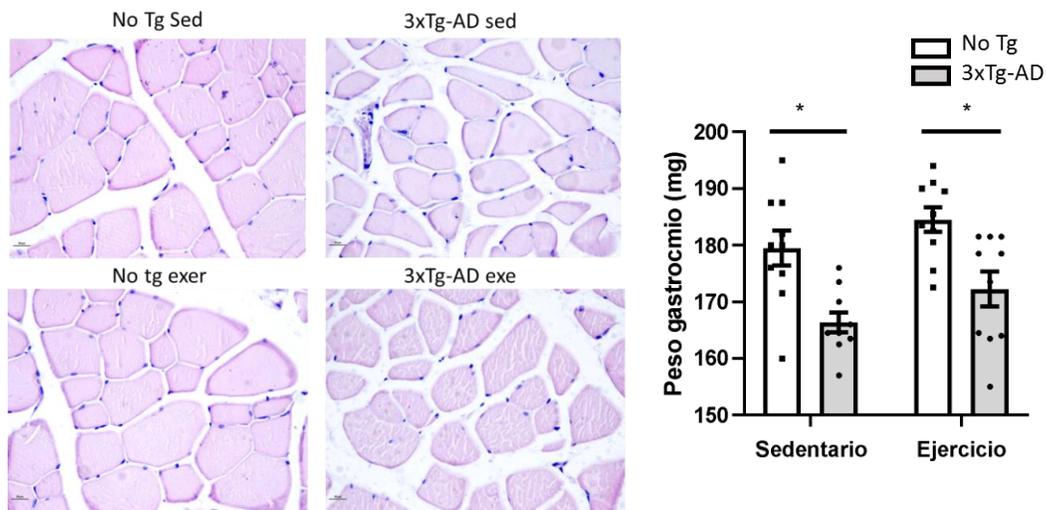
No se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el peso corporal entre los grupos 3xTg-AD y No-Tg tratados con ejercicio físico voluntario y el sedentario desde el inicio hasta el final del estudio (12 semanas) (Figura 19). Curiosamente, observamos que el grupo de ejercicio 3xTg-AD tiene una masa corporal más baja que el grupo de ejercicio No-Tg ( $p < 0.05$ ) solo en las semanas cinco (-7%), seis (-5%) y once (-7). %).



**Figura 19. El ejercicio físico no provocó cambios en el peso corporal.** Se muestra la media y el error estándar al paso del tiempo durante las 12 semanas. Estadísticamente no se encuentra diferencias significativas entre los grupos (ANOVA medidas repetidas, post hoc tukey,  $n=10$  por grupo,  $*p<0.05$ ). Creo es mejor poner la palabra ejercicio y sedentario completas porque no son muy largas y en la siguiente figura las usas completas

#### 7.3.2 El ejercicio no provocó cambios en el peso del músculo gastrocnemio

Para determinar el efecto del ejercicio en la hipertrofia muscular, evaluamos el peso del gastrocnemio, detectamos una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) entre animales No-Tg y 3xTg-AD, tanto en el grupo sedentario (-7%) como en el de ejercicio (-4%). Sin embargo, observamos un ligero aumento (+4%) cuando se compararon los grupos de ejercicio 3xTg-AD versus 3xTg-AD sedentario (Figura 20), por lo que es claro la disminución de la masa muscular entre los grupos 3xTg-AD y No-Tg, sin embargo, los efectos del ejercicio fueron modestos al medirse mediante el peso.



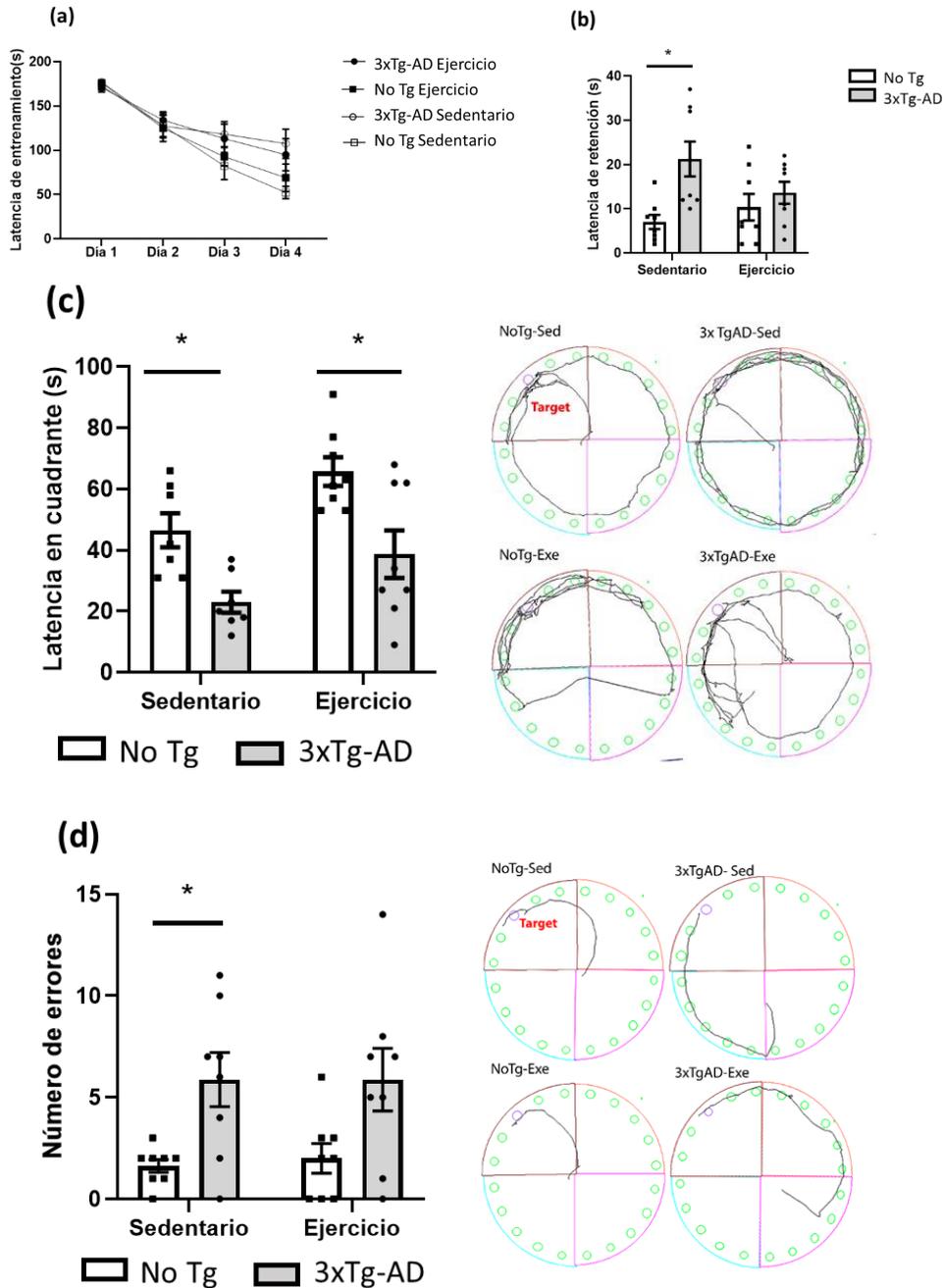
**Figura 20. Efectos del ejercicio físico sobre la morfología y el peso del músculo gastrocnemio.** A) Imágenes que del músculo gastrocnemio teñido con hematoxilina-eosina en las diferentes condiciones, se observan los cambios cualitativos (aumento de en la masa muscular) en los grupos tratados con ejercicio B) Se muestra la media, el error estándar y la distribución individual de los valores del peso del gastrocnemio por grupo. Estadísticamente se muestra una diferencia significativa entre el grupo 3xTg-AD sedentario y No-Tg ejercicio (ANOVA de dos vías, post hoc Tukey, n=10 por grupo, \*p<0.05). Nótese los cambios cualitativos observados en las imágenes.

## 7.4 Efectos del ejercicio físico el aprendizaje y memoria espacial

### 7.3.1 El ejercicio físico provocó mejoría en el aprendizaje y memoria espacial

El aprendizaje y la memoria a largo plazo fueron evaluados con el Laberinto de Barnes (Figura 21). En la fase de entrenamiento no se encontraron diferencias estadísticas ( $p > 0.05$ ) entre los diferentes grupos durante cuatro días (Figura 21a). En la fase de evaluación, observamos un aumento significativo (+202%;  $p < 0.05$ ) en el tiempo de retención de latencia en el grupo sedentario 3xTg-AD en comparación con el grupo No-Tg (Figura 21b). No obstante, el ejercicio físico voluntario disminuyó ligeramente este parámetro ( $p > 0.05$ ; -36%) en el grupo 3xTg-AD, y no se encontraron diferencias estadísticas ( $p > 0.05$ ) entre los grupos No Tg y 3xTg-AD (Figura 21b). Asimismo, se observó una disminución significativa en el tiempo de latencia del cuadrante en los grupos 3xTg-AD sedentarios (-51 %;  $p < 0.05$ ) y ejercicio (-17 %;  $p < 0.05$ ) en comparación con el grupo No Tg (Figura 21c). Además, hubo un aumento no significativo en este parámetro (+68 %;  $p > 0.05$ ) en el grupo 3xTg-AD después de la intervención de ejercicio (Figura 2c). Finalmente, observamos un mayor

número de errores en el sedentario 3xTg-AD en comparación con el grupo No-Tg (+262%;  $p < 0.05$ ), pero no después del ejercicio físico voluntario ( $p > 0.05$ ; Figura 2d).

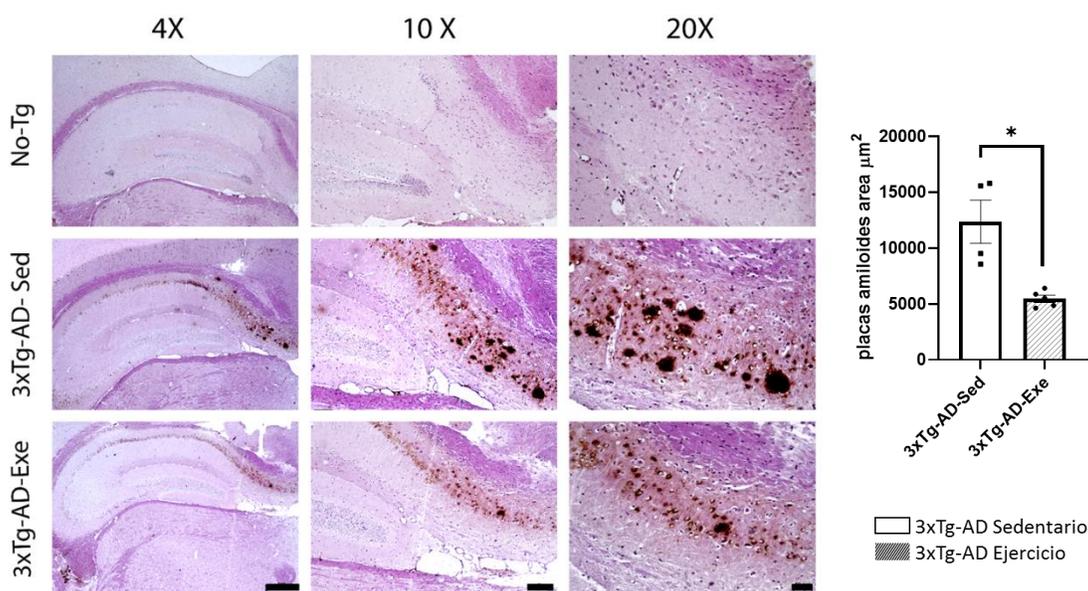


**Figura 21. Efectos del ejercicio físico sobre el aprendizaje y la memoria a largo plazo en el Laberinto de Barnes.** (a) Fase de latencia de entrenamiento durante 4 días. ANOVA Medidas repetidas, Tukey post hoc, los valores son medias  $\pm$  SEM ( $n = 8$  por grupo),  $* p < 0.05$ . (b) El gráfico muestra el tiempo de retención evaluado después de la fase de entrenamiento. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey, los valores son medias  $\pm$  SEM ( $n = 8$  por grupo),  $* p < 0.05$ . El tiempo en el cuadrante (c) y el número de errores (d) se muestran en los gráficos y esquemas representativos. ANOVA de dos vías, post hoc de Tukey, los valores son medias  $\pm$  SEM ( $n = 8$  por grupo),  $* p < 0.05$ .

## 7.5 Efectos del ejercicio físico en los depósitos de péptido beta amiloide

### 7.4.1 El ejercicio físico disminuyó la carga amiloide en el hipocampo

Como esperábamos, se observó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ; -56%) en los depósitos de péptido  $\beta A$  en el subículo del hipocampo del grupo 3xTg-AD ejercitado en comparación con el grupo sedentario. Estos depósitos de péptido  $\beta A$  evaluados con el anticuerpo BAM-10 no se observaron en el grupo No Tg (Figura 22).

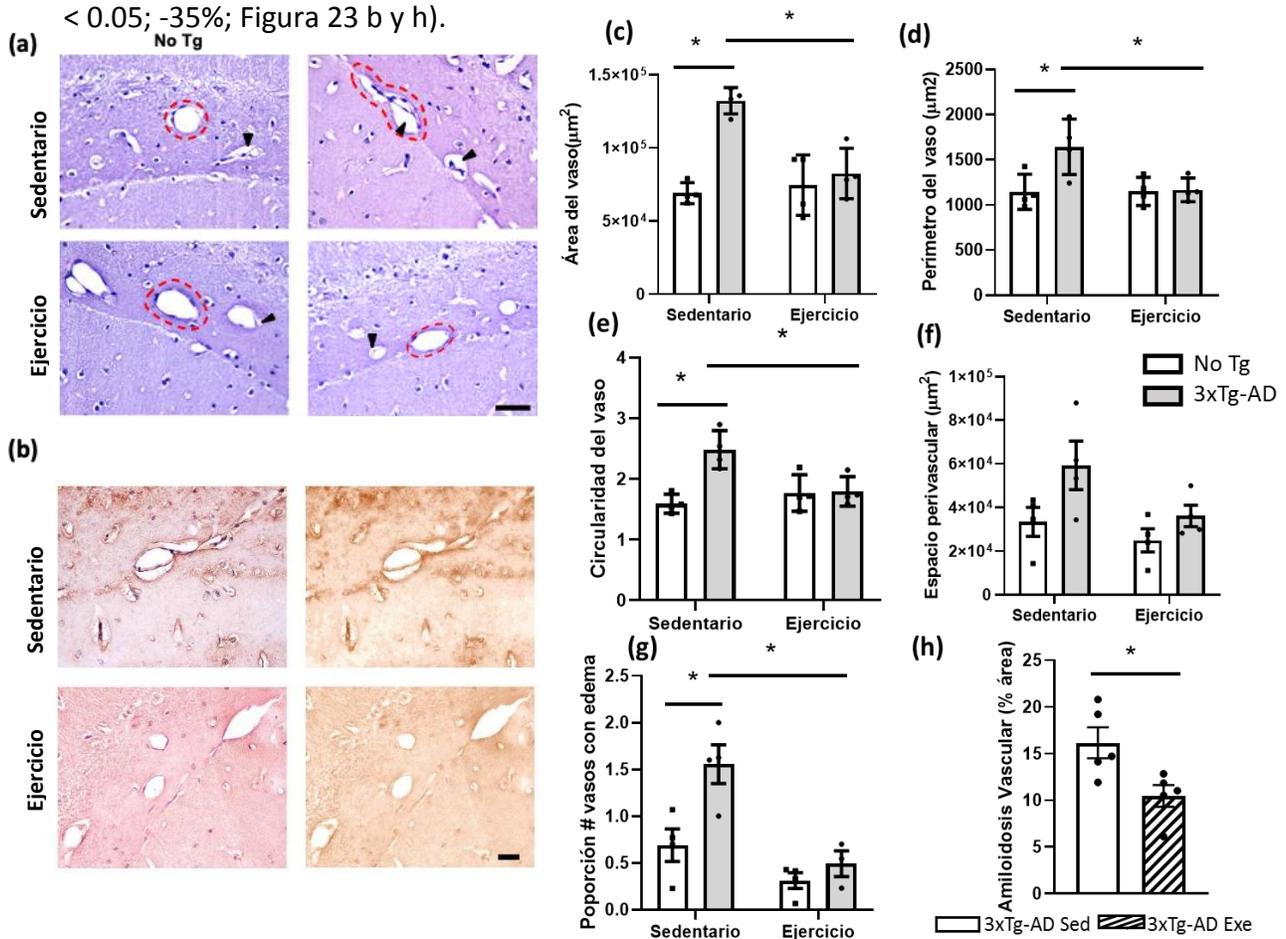


**Figura 22. Efecto del ejercicio físico voluntario sobre los depósitos de péptido  $\beta A$  en el hipocampo de los ratones. (a)** Microfotografías representativas de depósitos de péptido  $\beta A$  en el subículo. Se ilustran diferentes aumentos: barra de escala = 500  $\mu m$  para un aumento de 4x; 100  $\mu m$  para 10x; y 50  $\mu m$  para 20x. **(b)** El gráfico muestra el efecto del ejercicio físico voluntario sobre los depósitos de péptido  $\beta A$  en el hipocampo. T Student, los valores son medias  $\pm$  SEM (n= 5 por grupo), \*  $p < 0.05$ .

### 7.5 Efectos del ejercicio sobre la morfoestructura vascular y depósitos de péptido beta amiloide en vasos sanguíneos

El ejercicio provocó diferentes cambios estructurales vasculares cerebrales (Figura 23). En la fisura del hipocampo observamos un aumento significativo del área de vasos sanguíneos ( $p < 0.05$ ; +91%) y perímetro ( $p < 0.05$ ; +44%), así como de la circularidad ( $p < 0.05$ ; +56%) en el grupo 3xTg-AD sedentario en comparación con el grupo No-Tg además de una disminución después del tratamiento con ejercicio físico voluntario ( $p < 0.05$ ; -19% para el área; -2% para el perímetro; -13% para la circularidad Figura 23 a-g). Curiosamente, observamos un aumento del espacio perivascular del grupo sedentario 3xTg-AD ( $p < 0.05$ ;

+78%) y del grupo de ejercicio ( $p < 0.05$ ; +8%), en comparación con el grupo sedentario No-Tg. Después de la intervención del ejercicio, este espacio perivascular disminuyó (-39%) en el grupo 3xTg-AD con ejercicio físico voluntario en comparación con el grupo sedentario 3xTg-AD (Figura 4e). Además, identificamos un aumento en la relación del número de vasos con y sin espacio perivascular, en el grupo sedentario 3xTg-AD en comparación con el No-Tg ( $p < 0.05$ ; +126%), que disminuyó en el grupo 3xTg-AD grupo ejercitado ( $p < 0.05$ ; +29%; Figura 4f). Finalmente, encontramos depósitos de péptido beta amiloide vascular en los ratones 3xTg-AD, que disminuyeron significativamente después de la terapia de ejercicio ( $p < 0.05$ ; -35%; Figura 23 b y h).



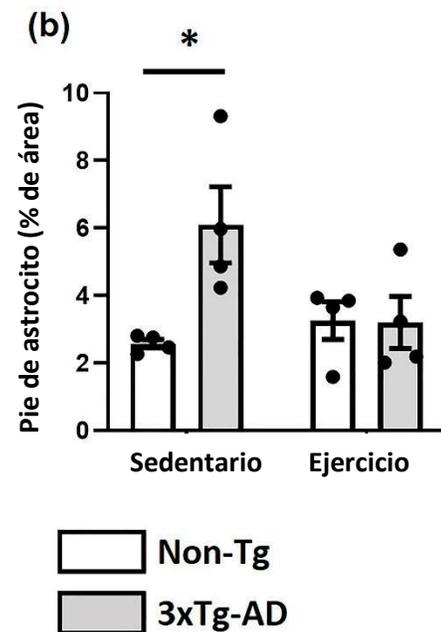
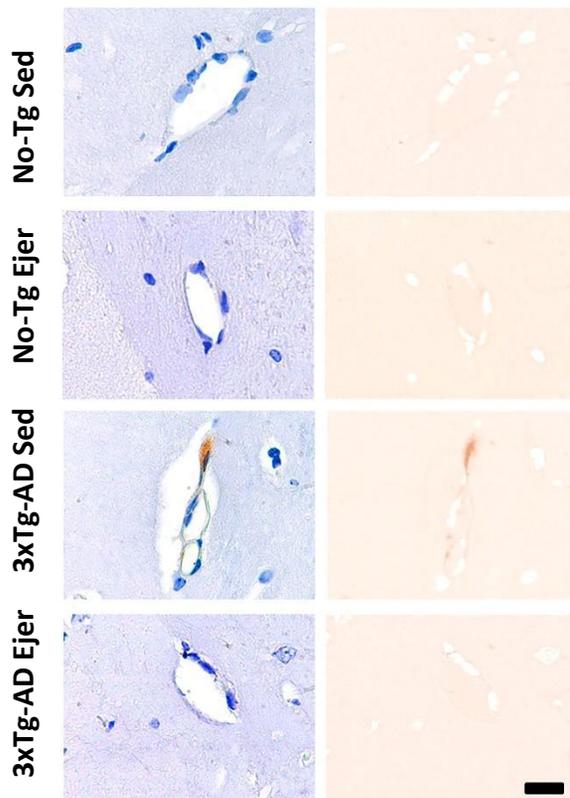
**Figura 23 Efectos del ejercicio sobre la vasculatura cerebral en la fisura hipocampal de ratones 3xTg-AD.** (a) Microfotografías representativas de vasos sanguíneos de la fisura hipocampal teñidos con hematoxilina-eosina en diferentes condiciones. Las líneas punteadas muestran la diferente morfología vascular entre grupos y las puntas de flecha negra apuntan al espacio perivascular. Barra de escala = 20  $\mu\text{m}$  común a todas las microfotografías. (b) Microfotografías representativas de los depósitos de péptido  $\beta$ A vascular. Barra de escala = 20  $\mu\text{m}$  común a todas las microfotografías. Los gráficos muestran (c) el área, (d) el perímetro, (e) La circularidad, (f) el espacio perivascular, (g) y la proporción de vasos con edema (ANOVA de dos vías, media post hoc de Tukey  $\pm$  SEM medida en cuatro niveles anatómicos ( $n=4$  por grupo), \*  $p < 0.05$ ). (h) El gráfico muestra la medición de los depósitos vasculares de depósitos de péptido  $\beta$ A. T de Student, los valores son medias  $\pm$  SEM calculados a partir de cuatro niveles anatómicos ( $n = 5$  por grupo) \*  $p < 0.05$ .

## 7.7 Efectos del ejercicio sobre los componentes de la UNV

### 7.7.1 El ejercicio tuvo efectos sobre los pies astrocíticos en el hipocampo

Uno de los componentes celulares de la UNV son los pies astrocíticos, que fueron evaluados con el anticuerpo AQ4. En la fisura del hipocampo observamos un área significativamente mayor de inmunotinción de AQ4 ( $p < 0.05$ ; +137%) en el grupo 3xTg-AD en comparación con el grupo No-tg en condiciones sedentarias. Además, detectamos una modesta disminución tras la intervención de ejercicio físico voluntario en el grupo 3xTg-AD ( $p > 0.05$ ; -47%; Figura 25).

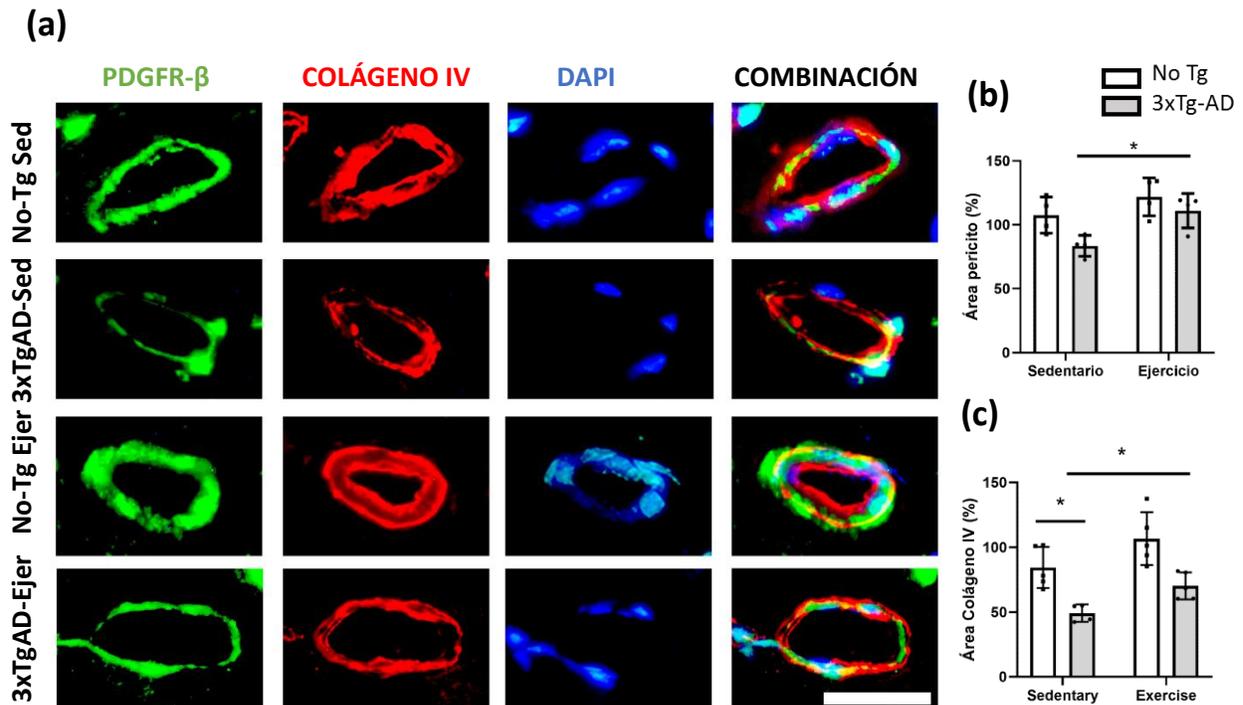
(a)



**Figura 25. Efecto del ejercicio físico voluntario sobre los pies terminales de los astrocitos.** (a) Microfotografías representativas de pies astrocíticos usando anticuerpo acuaporina 4 en vasos sanguíneos de la fisura hipocampal. Se observa en las imágenes de la fila izquierda la inmunohistoquímica para pericitos teñidos con hematoxilina, y en la fila derecha a separación del canal con diaminobencidina. Barra de escala = 20  $\mu\text{m}$  común a todas las micrografías (b) Los gráficos muestran el área de los pies de los astrocitos. ANOVA de dos vías, Tukey post hoc, media  $\pm$  SEM medido en cuatro niveles anatómicos ( $n = 4$  por grupo), \*  $p < 0.05$ .

### 7.7.2 El ejercicio tuvo efectos en la recuperación de la membrana basal y los pericitos en el hipocampo

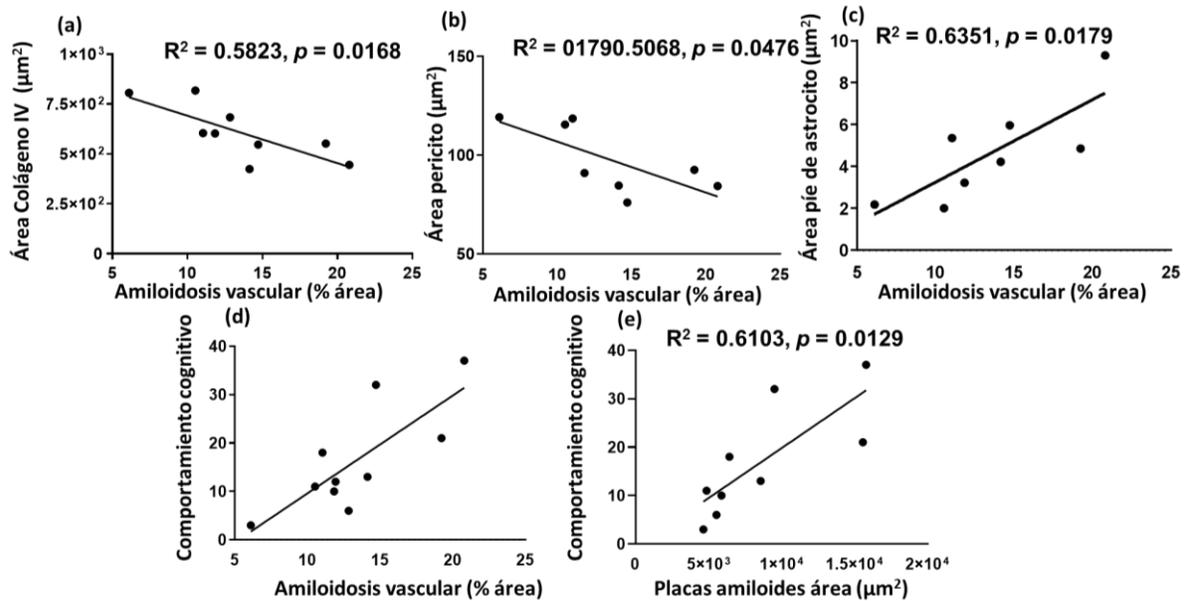
Otro componente celular de la UNV son los pericitos, que fueron detectados con el anticuerpo para PDGFR- $\beta$  (Nombre completo) marcador de este tipo celular. Encontramos que el ejercicio provocó un aumento significativo ( $p < 0.05$ ; +33%) en los pericitos del grupo 3xTg-AD. Además, observamos una disminución del -22% en la cobertura del pericito en el 3xTg-AD en comparación con el Non-Tg, ambos en condición sedentaria (Figura 26 a y b). Por otro lado, la membrana basal es una estructura clave de UNV, y aquí fue evaluada con el anticuerpo de colágeno IV. Encontramos una disminución significativa en el grupo sedentario 3xTg-AD en comparación con el grupo No-Tg ( $p < 0.05$ ; -42%). De manera interesante, la intervención de ejercicio indujo un aumento significativo ( $p < 0.05$ ; -17%) en la expresión de colágeno IV en el grupo 3xTg-AD con ejercicio en comparación con la condición sedentaria (Figura 26 a y c).



**Figura 26. Efecto del ejercicio físico voluntario sobre los pericitos y la membrana basal.** (a) Microfotografías de inmunofluorescencia doble para marcaje de pericito (PDGFR- $\beta$ ; canal verde) y membrana basal (colágeno IV; canal rojo) en vasos sanguíneos de la fisura del hipocampo. Los núcleos celulares se tiñeron con DAPI (canal azul). Barra de escala = 20  $\mu$ m común a todas las micrografías. Los gráficos muestran (b) el área del pericito y (c) la membrana basal. ANOVA de dos vías, Tukey post hoc, media  $\pm$  SEM medido en cuatro niveles anatómicos ( $n = 4-5$  por grupo), \*  $p < 0.05$ .

## 7.8 Los depósitos de péptido $\beta$ A se correlacionan con la alteración de la unidad neurovascular y los déficits cognitivos en 3xTgAD y con la mejora con la intervención del ejercicio.

Los depósitos vasculares de péptido  $\beta$ A se correlacionan con la alteración de los componentes de la NVU (Figura 27): membrana basal ( $R^2 = 0.5823$ ,  $p = 0.0168$ ), pericitos ( $R^2 = 0.5068$ ,  $p = 0.0476$ ) y pies astrocíticos ( $R^2 = 0.6351$ ,  $p = 0.0179$ ). Además, el déficit cognitivo se correlaciona tanto con los agregados vasculares de péptido  $\beta$ A amiloide ( $R^2 = 0.6147$ ,  $p = 0.0073$ ), como con las placas de péptido  $\beta$ A ( $R^2 = 0.6103$ ,  $p = 0.0129$ ).



**Figura 27. Correlación entre depósitos de péptido  $\beta$ A, unidad neurovascular y alteración cognitiva en 3xTgAD y con la mejora por la intervención de ejercicio físico voluntario.** Los gráficos muestran (a) la correlación entre los depósitos de péptido  $\beta$ A vascular y el área de colágeno IV, (b) el área de pericitos, (c) los pies astrocíticos y (d) el comportamiento cognitivo, (e) así como entre las placas de péptido  $\beta$ A y comportamiento cognitivo en la fisura del hipocampo. El coeficiente de correlación de Pearson y la regresión lineal que aparecen en la parte superior de cada gráfico  $p < 0.05$  se consideraron como diferencia estadísticamente significativa.

## 8. Discusión

Los estudios muestran efectos y mecanismos beneficiosos del ejercicio físico en la EA, por medio de distintos protocolos de entrenamiento en el modelo murino, así como en pacientes en sus diferentes etapas de desarrollo de la patología a nivel morfológico, conductual, molecular y fisiológico. En el presente estudio se evaluó el efecto del ejercicio sobre la morfoestructura de los vasos sanguíneos cerebrales, para ello se emplearon ratones hembra de 10 meses que fueron expuestas a 3 meses de ejercicio voluntario con una duración de dos horas por día y una frecuencia de cinco días a la semana. El objetivo principal fue evaluar los efectos del ejercicio sobre la morfología de los vasos sanguíneos cerebrales, así como las diferencias en el rendimiento físico, los valores antropométricos por medio del peso corporal y peso de gastrocnemio, los efectos sobre el aprendizaje y memoria espacial, así como los efectos sobre los depósitos de péptido  $\beta$ A.

Uno de los puntos críticos mencionados en la literatura, es la falta de dosificación específica de ejercicio para la EA, pues hasta la fecha hay una gran variedad de programas utilizados en los pacientes y han sido aplicados en diferentes etapas de la enfermedad, lo cual ha complicado la generación de guías específicas, la mayoría de aplicaciones se centran en una intervención con de 30 a 60 minutos por sesión y una frecuencia de 1 a 7 veces por semana, con una duración promedio de 3 a 6 meses de los diferentes protocolos, utilizando principalmente una intensidad moderada y el ejercicio aeróbico como principal herramienta, lo que hace difícil llegar a una dosificación óptima de entrenamiento (Li et al., 2020; De la Rosa et al., 2020). Por lo tanto, es necesario implementar más estudios con un control riguroso para su aplicación en etapas específicas y con protocolos diferentes que establezcan los tipos de ejercicio y la dosificación del entrenamiento que sean eficientes, y que puedan contribuir en la generación de guías y pautas determinadas para su tratamiento (Nascimento et al., 2016). Con respecto a los estudios en modelos animales también existe una gran variabilidad en los programas utilizando paradigmas voluntarios y forzados, así como diferentes tiempos y dosificaciones de ejercicio. Sin embargo, los efectos benéficos sobre la salud no son claros, y muchos efectos benéficos encontrados se superponen sin importar el paradigma utilizado; hasta la fecha no hay estudios concluyentes que permitan

optar por un mejor paradigma (Manzanares & Gandra, 2019) (Arida et al., 2011). En el presente estudio se utilizó un tipo de ejercicio con características aeróbicas debido a que hasta la fecha es el tipo de ejercicio donde más beneficios se han encontrado en la enfermedad, además de ser este el tipo de ejercicio que impacta de mayor forma al sistema cardiovascular (Sofi et al., 2011) (Valenzuela et al., 2020). Por ello, en el presente proyecto, se utilizó un paradigma voluntario que permitiera la baja manipulación del animal y la mayor extrapolaridad con el paciente con EA, ya que consideramos que el paradigma voluntario es muy similar a la forma de realizar actividad física (de forma intermitente) de los pacientes con EA. Además, los pacientes con EA tienen una menor capacidad física la cual se ha correlacionado con la disminución de los volúmenes cerebrales y declive cognitivo, debido a una baja actividad física; se ha reportado una disminución de hasta el 30% con respecto a sujetos de la misma edad en condiciones fisiológicas (J. M. Burns et al., 2008) (Jeffrey M. Burns et al., 2010). Sin embargo, en humanos esta disminución pudiera estar relacionada no solo directamente con la enfermedad sino también con aspectos sociofamiliares como la restricción de realizar actividades de la vida diaria. En este estudio, la medición del rendimiento físico mostró una disminución en el grupo 3xTg-AD con respecto al grupo control, por lo que, la disminución de la capacidad física de la enfermedad está relacionada con los signos y síntomas de la enfermedad presentes en esta etapa. Además, creemos que pudiera estar relacionada a una falta de motivación vinculada a su vez a los síntomas depresivos que presenta el modelo en la etapa estudiada (Kosel et al., 2020). En un estudio donde se midió el rendimiento en este mismo modelo de EA a los 3 meses de edad se observaron resultados contrarios al aquí reportado, puesto que se no se encontró diferencia significativa respecto al grupo control (Revilla et al., 2014). Sin embargo, esto pudiera ser debido a que en esa edad aún no se encuentran presentes los signos neuropatológicos de la enfermedad. Lo anterior reforzaría que los resultados encontrados en el presente trabajo estarían relacionados a etapas más avanzadas de la enfermedad. Hasta la fecha no hay estudios que evalúen el rendimiento físico a lo largo de las diferentes etapas de la enfermedad, por lo cual se desconocen las etapas críticas en la disminución del rendimiento físico.

Con respecto a los valores antropométricos evaluados, no se observaron cambios significativos posteriores a la intervención con ejercicio físico en el peso corporal, así como en el peso del gastrocnemio. Diversos estudios coinciden en no encontrar efectos en el peso corporal cuando se utiliza al ejercicio como único tratamiento o cuando no se realizan cambios en la dieta del animal (Kim et al., 2017) (Bareiss et al., 2022). Esto pudiera deberse a que el ejercicio no induce un gasto calórico alto o produzca un mayor consumo de alimento, lo cual provocó que no hubiera cambios respecto al peso corporal. Se han reportado alteraciones musculares en el modelo 3xTg-AD, donde se ha observado una disminución significativa de la masa muscular, y alteraciones a nivel de las uniones neuromusculares, así como presencia de péptido  $\beta$ A (Cardoso et al., 2015). En los pacientes también se ha encontrado atrofia muscular e incluso se ha correlacionado con una disminución en el volumen cerebral, por lo que es un aspecto importante a tomarse en cuenta, ya que pudiera estar relacionado a una limitación de la funcionalidad (Jeffrey M. Burns et al., 2010). Estudios anteriores en modelos animales no han reportado cambios en el peso de los músculos posterior a la realización de ejercicio físico aeróbico o de resistencia (Pena et al., 2020), sin embargo, esta medida podría ser un poco inespecífica. Hasta la fecha no hay estudios que evalúen los cambios producidos en la estructura o patología muscular a nivel microscópico.

En cuanto a la función cognitiva se encontró una mejoría en la memoria y aprendizaje posterior a la intervención con ejercicio físico medida en el laberinto de Barnes, la evidencia del efecto benéfico del ejercicio sobre la función cognitiva en modelos animales es mayor, y no se encuentran estudios en los cuales los resultados sean negativos (Michelle W Voss et al., 2020). Estudios que utilizaron al modelo 3xTg-AD han reportado mejoría en memoria y aprendizaje al cabo de las 12 semanas medidas en el laberinto acuático de Morris (García-Mesa et al., 2015). Sin embargo, hay autores que observaron un mayor efecto del ejercicio sobre las funciones cognitivas cuando se utiliza el laberinto acuático de Morris en comparación a paradigmas terrestres, por lo cual, este efecto observado pudiera estar sesgado debido al entrenamiento físico llevado a cabo (Shepherd et al., 2018); sin embargo, hasta la fecha no existen estudios que comprueben esto. Así mismo, en otro estudio en el que utilizaron el modelo TgCRND8 de la EA y midieron la cognición mediante el laberinto de

Barnes posterior 4 meses de ejercicio, tampoco encontraron efectos sobre la cognición (Ritcher et al, 2008) (Walker et al., 2015). Algunos de estos distintos efectos encontrados, podrían deberse a la heterogeneidad de los programas llevados a cabo, los diferentes tiempos de intervención, así como la diferente progresión de los signos de la enfermedad en los modelos (Michelle W Voss et al., 2020) (Shepherd et al., 2018). En pacientes, hasta ahora los hallazgos son variados y no se podrían concluir un efecto preciso del ejercicio sobre la cognición, sin embargo, no se descarta al ejercicio con una intervención no farmacológica para la promoción de la función cognitiva (Chow et al., 2022) (Dermutas et al., 2020).

Nuestros resultados benéficos de los efectos del ejercicio sobre los depósitos de péptido  $\beta$ A del hipocampo coinciden con la mayoría de trabajos previamente realizados, esta disminución se ha encontrado en diferentes modelos animales con múltiples protocolos utilizados de ejercicio voluntario y forzado, por lo que es claro el beneficio de la realización del ejercicio en la atenuación de este signo neuropatológico de la enfermedad (Vasconcelos-Filho et al., 2021). Existe un menor número de estudios en humanos, sin embargo, se ha encontrado el mismo efecto en la evaluación posterior a la realización de ejercicio en su mayoría en la mayoría de estos estudios se utilizan protocolos de ejercicio aeróbico, esto pudiera estar relacionado con la mejora en la calidad de vida observada, estos datos respaldan la utilización de ejercicio físico como parte del tratamiento no farmacológico para disminuir la patología amiloidea (Liang et al, 2010). En cuanto a los depósitos de péptido  $\beta$ A a nivel de los vasos sanguíneos, el presente estudio encontró diferencias significativas en la disminución de los depósitos de péptido  $\beta$ A en vasos sanguíneos en el grupo que realizó ejercicio respecto al grupo sedentario, por lo que el ejercicio podría atenuar los signos relacionados con la AAC. En otro estudio en el cual se utilizó un modelo Tg-SwDI y que presenta signos más agravados de ACC, no se encontraron efectos al cabo de ocho meses de tratamiento (Robison et al., 2019). Probablemente, el modelo o el tiempo de la patología el origen de esta discrepancia, por lo que sería relevante analizar el efecto del ejercicio sobre este signo bajo diferentes dosificaciones y modelos para la EA. Este aumento de la eliminación del péptido  $\beta$ A a nivel vascular podría deberse a

un aumento o mejora de la proteína 1 relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LRP1), la neprilisina, la metaloproteínasa de matriz-9 (MMP9), la enzima degradadora de insulina (IDE), y las proteínas transportadoras de glucosa 3 y 4 (GLUT 3 Y GLUT 4), efectos que se han encontrado en estudios previos tras el ejercicio físico (Evans et al., 2019) (Vasconcelos-Filho et al., 2021), y que podrían estar relacionados con la mejora de las células NVU observada en el presente trabajo, y que se correlacionaron con un menor depósito de péptido  $\beta$ A a nivel vascular.

La disfunción de los diferentes elementos de la UNV ha tomado una gran relevancia en la patogénesis de la EA asociándose con procesos de disminución del FSC, hipoxia, neuroinflamación, y estrés oxidativo que conllevan a la degeneración neuronal (Soto et al., 2021). A pesar de todas estas alteraciones, hasta la fecha no hay investigaciones que evalúen en conjunto los efectos del ejercicio sobre los diferentes componentes de la unidad neurovascular y la morfología de los vasos sanguíneos. En el presente estudio se encontraron diferencias en la degeneración de los diferentes componentes evaluados de la UNV (pericitos, colágeno IV y pies astrocíticos) en los ratones 3xTg-AD con respecto a los grupos no transgénicos, mismos que no se encontraron previamente descritos en este modelo. Hasta la fecha hay estudios tanto en modelos animales como en humanos que describen estas alteraciones haciendo mayor énfasis en el pericito, algunos autores han encontrado disfunción de esta célula relacionados a los signos neuropatológicos de la enfermedad en modelos animales y en humanos (Sagare et al., 2013)(Kisler et al., 2017)(Montagne et al., 2018)(Sweeney et al., 2017). Sin embargo, otros autores solo han encontrado degeneración relacionada con la edad y no con la condición, siendo la etapa de la enfermedad una variable muy importante por lo que se necesitan más estudios que ayuden a confirmar la relevancia del pericito sobre la enfermedad (Ding et al, 2021). En el presente estudio se encontró además que el ejercicio tiene efectos benéficos sobre los distintos componentes, estos cambios pudieran ayudar a mantener la estabilidad de la BHE, mejorar el flujo sanguíneo a nivel cerebral, mantener un buen metabolismo de las neuronas, así como evitar el paso de patógenos debido a una menor permeabilidad de la BHE. Todos estos cambios a nivel de la UNV pudieran impactar a su vez a la mejora de los diferentes signos

de la enfermedad. En cuanto a los cambios morfológicos evaluados se realizó un análisis de la morfoestructura, en la que se pudo observar un aumento del espacio perivascular en el grupo transgénico en comparación al no transgénico correspondiente a edema perivascular. Posterior a la realización del ejercicio, se pudieron observar cambios significativos en el área, perímetro, circularidad, así como en la disminución del número de vasos con edema, por lo que el ejercicio generó cambios a nivel estructural, estos cambios pudieran sumarse a los efectos encontrados en la UNV y contribuir a disminuir las alteraciones a nivel vascular. En este modelo se encontraron previamente alteraciones vasculares desde etapas muy tempranas de la enfermedad (Quintana et al., 2021). En otro estudio en el que se aplicó tres meses de ejercicio voluntario en el modelo TgCRND8 también se encontraron efectos benéficos del ejercicio sobre la morfología vascular (Maliszewska-Cyna et al., 2020), estos resultados coinciden con resultados previamente vistos, sin embargo hasta la fecha no se encontraron estudios que evaluaran en conjunto los efectos del ejercicio sobre la UNV y la morfología vascular por lo que estos hallazgos contribuyen a resaltar la importancia del ejercicio físico en la EA, haciendo énfasis en el tratamiento de las alteraciones vasculares donde hasta la fecha no existe ningún tratamiento específico aprobado dirigido a disminuir las alteraciones vasculares y de la UNV.

## **9. Conclusiones**

Después de 12 semanas de intervención con ejercicio físico se pudo observar que el rendimiento físico del grupo 3xTg-AD respecto al No-Tg fue menor, por lo que los signos de la enfermedad pudieran estar relacionados a una menor capacidad física, las 12 semanas de ejercicio físico voluntario generaron cambios a nivel del aprendizaje y memoria espacial medidas en el laberinto de Barnes, por lo cual el ejercicio físico indujo mejoras a nivel cognitivo. El ejercicio no provocó cambios en los valores antropométricos de pesos corporal y el peso de gastrocnemio. Sin embargo, de manera interesante, el tratamiento con ejercicio físico disminuyó los depósitos de péptido  $\beta$ A extracelular y en los vasos sanguíneos. Por último, el ejercicio físico promovió cambios benéficos sobre la morfología de los vasos sanguíneos, así como sobre los diferentes componentes de la UNV. Por lo tanto, el ejercicio físico podría proponerse como la estrategia clave del tratamiento no farmacológico y mitigar las alteraciones neurovasculares en la etapa sintomática de la enfermedad.

## **10. Perspectivas de estudio**

- Evaluar el rendimiento físico a lo largo de las diferentes etapas de la enfermedad que permitan identificar ventanas de tiempo importantes de tratamiento.
- Determinar el efecto del ejercicio físico sobre la atrofia muscular de manera microscópica, así como los efectos de este sobre los signos neuropatológicos de la enfermedad presentes en el tejido muscular.
- Evaluar el efecto del ejercicio físico en la permeabilidad de la BHE.
- Examinar el dimorfismo sexual de los efectos cognitivos, y en los diferentes componentes de la unidad neurovascular.
- Evaluar la diferencia en los resultados que tienen en la cognición las pruebas terrestres o acuáticas utilizadas para evaluar el impacto del ejercicio físico sobre esta.
- Evaluar el efecto del ejercicio sobre la vasculatura y componentes de la UNV en distintos modelos para la EA.

## Bibliografía

- Álvarez-cisneros, T., Torres-castro, S., Mena-montes, B., Magdalena, N., Montes, B. M., Castro, S. T., Cisneros, T. Á., Rabaneda, R., Magdalena, N., Carrillo, T., Arlet, P., Rojas, R., Martínez, A., Miguel, L., Robledo, G., Castro, S. T., Morales, P. K., & Alice, P. S. (2017). Género y salud en cifras.
- Alzheimer association. (2021). Alzheimer y Demencia. <https://www.alz.org/alzheimer-demencia>
- Alzheimer associaton. (2021). Alzheimer y demencia (Datos y cifras). <https://www.alz.org/alzheimer-demencia/datos-y-cifras?lang=es-MX>
- Andrade-Guerrero, J., Santiago-Balmaseda, A., Jeronimo-Aguilar, P., Vargas-Rodríguez, I., Cadena-Suárez, A. R., Sánchez-Garibay, C., Pozo-Molina, G., Méndez-Catalá, C. F., Cardenas-Aguayo, M. D., Diaz-Cintra, S., Pacheco-Herrero, M., Luna-Muñoz, J., & Soto-Rojas, L. O. (2023). Alzheimer's Disease: An Updated Overview of Its Genetics. *International journal of molecular sciences*, 24(4), 3754. <https://doi.org/10.3390/ijms24043754>
- Apátiga-Pérez<sup>1, 2</sup> · Luis O. Soto-Rojas<sup>3</sup> · B. Berenice Campa-Córdoba<sup>1, 2</sup> · Nabil Itzi Luna-Viramontes<sup>1, 2</sup> · Elvis Cuevas<sup>4</sup> · Ignacio Villanueva-Fierro<sup>5</sup> · Miguel Angel Ontiveros-Torres<sup>6</sup> · Marely Bravo-Muñoz<sup>7</sup> · Paola Flores-Rodríguez<sup>5</sup> · Linda Garcés-Ramírez<sup>2</sup> · Fidel de la Cruz<sup>2</sup> · José Francisco Montiel-Sosa<sup>1</sup> · Mar Pacheco-Herrero<sup>8</sup> · José Luna-Muñoz<sup>1</sup>. (2021). Neurovascular dysfunction and vascular amyloid accumulation as early events in Alzheimer's disease. *Metabolic Brain Disease*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s11011-021-00814-4>
- Ang, E. T., Dawe, G. S., Wong, P. T., Moochhala, S., & Ng, Y. K. (2006). Alterations in spatial learning and memory after forced exercise. *Brain research*, 1113(1), 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.07.023>
- Araujo, J. A., Studzinski, C. M., & Milgram, N. W. (2005). Further evidence for the cholinergic hypothesis of aging and dementia from the canine model of aging. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 29(3), 411–422. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2004.12.008>
- Arida, R. M., Scorza, F. A., Gomes da Silva, S., Cysneiros, R. M., & Cavalheiro, E. A. (2011). Exercise paradigms to study brain injury recovery in rodents. *American journal of physical medicine & rehabilitation*, 90(6), 452–465. <https://doi.org/10.1097/PHM.0b013e3182063a9c>
- Bareiss, S. K., Johnston, T., Lu, Q., & Tran, T. D. (2022). The effect of exercise on early sensorimotor performance alterations in the 3xTg-AD model of Alzheimer's disease. *Neuroscience research*, 178, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2022.01.003>
- Belarbi, K., Burnouf, S., Fernandez-Gomez, F. J., Laurent, C., Lestavel, S., Figeac, M., Sultan, A., Troquier, L., Leboucher, A., Caillierez, R., Grosjean, M. E., Demeyer, D., Obriot,

- H., Brion, I., Barbot, B., Galas, M. C., Staels, B., Humez, S., Sergeant, N., Schraen-Maschke, S., ... Blum, D. (2011). Beneficial effects of exercise in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease-like Tau pathology. *Neurobiology of disease*, 43(2), 486–494. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.04.022>
- Belfiore, R., Rodin, A., Ferreira, E., Velazquez, R., Branca, C., Caccamo, A., & Oddo, S. (2019). Temporal and regional progression of Alzheimer's disease-like pathology in 3xTg-AD mice. *Aging cell*, 18(1), e12873. <https://doi.org/10.1111/acer.12873>
- Boon, B. D. C., Bulk, M., Jonker, A. J., Morrema, T. H. J., van den Berg, E., Popovic, M., Walter, J., Kumar, S., van der Lee, S. J., Holstege, H., Zhu, X., Van Nostrand, W. E., Natté, R., van der Weerd, L., Bouwman, F. H., van de Berg, W. D. J., Rozemuller, A. J. M., & Hoozemans, J. J. M. (2020). The coarse-grained plaque: a divergent A $\beta$  plaque-type in early-onset Alzheimer's disease. *Acta neuropathologica*, 140(6), 811–830. <https://doi.org/10.1007/s00401-020-02198-8>
- Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2020). Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(24), 5789. <https://doi.org/10.3390/molecules25245789>
- Briones S, Flavio, Cáceres D, Tamara, & Jarpa F, Marcia. (2010). Detección de b-Amiloide, Proteína TAU Hiperfosforilada y Ubiquitina por Técnica de Inmunohistoquímica en Cerebros de Caninos Mayores de 10 Años. *International Journal of Morphology*, 28(4), 1255-1261. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022010000400043>
- Brown, B. M., Peiffer, J., & Rainey-Smith, S. R. (2019). Exploring the relationship between physical activity, beta-amyloid and tau: A narrative review. *Ageing research reviews*, 50, 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.01.003>
- Burns, J. M., Cronk, B. B., Anderson, H. S., Donnelly, J. E., Thomas, G. P., Harsha, A., Brooks, W. M., & Swerdlow, R. H. (2008). Cardiorespiratory fitness and brain atrophy in early Alzheimer disease. *Neurology*, 71(3), 210–216. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000317094.86209.cb>
- Burns, J. M., Johnson, D. K., Watts, A., Swerdlow, R. H., & Brooks, W. M. (2010). Reduced lean mass in early Alzheimer disease and its association with brain atrophy. *Archives of neurology*, 67(4), 428–433. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.38>
- Buyts, D. L. J., & Hidalgo, C. O. (2007). *Artículo de revisión Interpretación básica de inmunohistoquímica. Características generales de diversos anticuerpos y su localización celular y subcelular*. 45(3), 126–140
- Campos, C., Rocha, N. B., Lattari, E., Paes, F., Nardi, A. E., & Machado, S. (2016). Exercise-induced neuroprotective effects on neurodegenerative diseases: the key role of trophic factors. *Expert review of neurotherapeutics*, 16(6), 723–734. <https://doi.org/10.1080/14737175.2016.1179582>

- Cardoso, V. F., Castro, M., Oliveira, M. M., Moreira, P. I., Peixoto, F., & Videira, R. A. (2015). Age-dependent biochemical dysfunction in skeletal muscle of triple-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Current Alzheimer research*, 12(2), 100–115. <https://doi.org/10.2174/1567205012666150204124852>
- Cercy SP. Pericytes and the Neurovascular Unit: The Critical Nexus of Alzheimer Disease Pathogenesis? *Explor Res Hypothesis Med.* 2021;6(3):125-134. doi: 10.14218/ERHM.2020.00062.
- Chicharro, J. L. (2008). *Fisiología clínica del ejercicio* (E. medica Panamericana (ed.); 1st ed.).
- Chong, F. P., Ng, K. Y., Koh, R. Y., & Chye, S. M. (2018). Tau Proteins and Tauopathies in Alzheimer's Disease. *Cellular and molecular neurobiology*, 38(5), 965–980. <https://doi.org/10.1007/s10571-017-0574-1>
- Chow, L. S., Gerszten, R. E., Taylor, J. M., Pedersen, B. K., van Praag, H., Trappe, S., Febbraio, M. A., Galis, Z. S., Gao, Y., Haus, J. M., Lanza, I. R., Lavie, C. J., Lee, C. H., Lucia, A., Moro, C., Pandey, A., Robbins, J. M., Stanford, K. I., Thackray, A. E., Villeda, S., ... Snyder, M. P. (2022). Exerkines in health, resilience and disease. *Nature reviews. Endocrinology*, 18(5), 273–289. <https://doi.org/10.1038/s41574-022-00641-2>
- De la Rosa, A., Olaso-Gonzalez, G., Arc-Chagnaud, C., Millan, F., Salvador-Pascual, A., García-Lucerga, C., Blasco-Lafarga, C., Garcia-Dominguez, E., Carretero, A., Correas, A. G., Viña, J., & Gomez-Cabrera, M. C. (2020). Physical exercise in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Journal of sport and health science*, 9(5), 394–404. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2020.01.004>
- De Sousa Fernandes, M. S., Ordônio, T. F., Santos, G. C. J., Santos, L. E. R., Calazans, C. T., Gomes, D. A., & Santos, T. M. (2020). Effects of Physical Exercise on Neuroplasticity and Brain Function: A Systematic Review in Human and Animal Studies. *Neural plasticity*, 2020, 8856621. <https://doi.org/10.1155/2020/8856621>
- Demurtas, J., Schoene, D., Torbahn, G., Marengoni, A., Grande, G., Zou, L., Petrovic, M., Maggi, S., Cesari, M., Lamb, S., Soysal, P., Kemmler, W., Sieber, C., Mueller, C., Shenkin, S. D., Schwingshackl, L., Smith, L., PhD, Veronese, N., & European Society of Geriatric Medicine Special Interest Group in Systematic Reviews and Meta-Analyses, Frailty, Sarcopenia, and Dementia (2020). Physical Activity and Exercise in Mild Cognitive Impairment and Dementia: An Umbrella Review of Intervention and Observational Studies. *Journal of the American Medical Directors Association*, 21(10), 1415–1422.e6. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2020.08.031>
- Demurtas, J., Schoene, D., Torbahn, G., Marengoni, A., Grande, G., Zou, L., Petrovic, M., Maggi, S., Cesari, M., Lamb, S., Soysal, P., Kemmler, W., Sieber, C., Mueller, C., Shenkin, S. D., Schwingshackl, L., Smith, L., PhD, Veronese, N., & European Society of Geriatric Medicine Special Interest Group in Systematic Reviews and Meta-Analyses, Frailty, Sarcopenia, and Dementia (2020). Physical Activity and Exercise

- in Mild Cognitive Impairment and Dementia: An Umbrella Review of Intervention and Observational Studies. *Journal of the American Medical Directors Association*, 21(10), 1415–1422.e6. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2020.08.031>
- DeTure, M. A., & Dickson, D. W. (2019). The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular neurodegeneration*, 14(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0333-5>
- Ding, R., Hase, Y., Burke, M., Foster, V., Stevenson, W., Polvikoski, T., & Kalaria, R. N. (2021). Loss with ageing but preservation of frontal cortical capillary pericytes in post-stroke dementia, vascular dementia and Alzheimer's disease. *Acta neuropathologica communications*, 9(1), 130. <https://doi.org/10.1186/s40478-021-01230-6>
- Domingos, C., Pêgo, J. M., & Santos, N. C. (2021). Effects of physical activity on brain function and structure in older adults: A systematic review. *Behavioural brain research*, 402, 113061. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.113061>
- Evans, P. L., McMillin, S. L., Weyrauch, L. A., & Witczak, C. A. (2019). Regulation of Skeletal Muscle Glucose Transport and Glucose Metabolism by Exercise Training. *Nutrients*, 11(10), 2432. <https://doi.org/10.3390/nu11102432>
- Fainman, J., Eid, M. D., Ervin, F. R., & Palmour, R. M. (2007). A primate model for Alzheimer's disease: investigation of the apolipoprotein E profile of the vervet monkey of St. Kitts. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 144B(6), 818–819. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30276>
- Gage, G. J., Kipke, D. R., & Shain, W. (2012). Whole animal perfusion fixation for rodents. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (65), 3564. <https://doi.org/10.3791/3564>
- Galdames-maliqueo, S., & Cancino, J. (2018). *EJERCICIO Y CONDICIÓN FÍSICA. 2da Edición* (Issue October).
- Gage, G. J., Kipke, D. R., & Shain, W. (2012). Whole animal perfusion fixation for rodents. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (65), 3564. <https://doi.org/10.3791/3564>
- García-Mesa, Y., Colie, S., Corpas, R., Cristòfol, R., Comellas, F., Nebreda, A. R., Giménez-Llort, L., & Sanfeliu, C. (2016). Oxidative Stress Is a Central Target for Physical Exercise Neuroprotection Against Pathological Brain Aging. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*, 71(1), 40–49. <https://doi.org/10.1093/gerona/glv005>
- Gatti, L., Tinelli, F., Scelzo, E., Arioli, F., Di Fede, G., Obici, L., Pantoni, L., Giaccone, G., Caroppo, P., Parati, E. A., & Bersano, A. (2020). Understanding the Pathophysiology of Cerebral Amyloid Angiopathy. *International journal of molecular sciences*, 21(10), 3435. <https://doi.org/10.3390/ijms21103435>

- Gawel, K., Gibula, E., Marszalek-Grabska, M., Filarowska, J., & Kotlinska, J. H. (2019). Assessment of spatial learning and memory in the Barnes maze task in rodents—methodological consideration. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 392(1), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s00210-018-1589-y>
- Gomes da Silva, S., Simões, P. S., Mortara, R. A., Scorza, F. A., Cavalheiro, E. A., da Graça Naffah-Mazzacoratti, M., & Arida, R. M. (2013). Exercise-induced hippocampal anti-inflammatory response in aged rats. *Journal of neuroinflammation*, 10, 61. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-10-61>
- Götz, J., Streffer, J. R., David, D., Schild, A., Hoernkli, F., Pennanen, L., Kurosinski, P., & Chen, F. (2004). Transgenic animal models of Alzheimer's disease and related disorders: histopathology, behavior and therapy. *Molecular psychiatry*, 9(7), 664–683. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001508>
- Huang, Z., Wong, L. W., Su, Y., Huang, X., Wang, N., Chen, H., & Yi, C. (2020). Blood-brain barrier integrity in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Frontiers in neuroendocrinology*, 59, 100857. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2020.100857>
- INEGI. (2020). Resultados Del Módulo De Práctica Deportiva Y Ejercicio Físico. *Módulo de Práctica Deportiva y Ejercicio Físico*, 12.
- Ji, E. S., Lee, J. M., Kim, T. W., Kim, Y. M., Kim, Y. S., & Kim, K. (2017). Treadmill exercise ameliorates depressive symptoms through increasing serotonin expression in postpartum depression rats. *Journal of exercise rehabilitation*, 13(2), 130–135. <https://doi.org/10.12965/jer.1734968.484>
- Jolla, L., States, U., Jolla, L., & States, U. (2019). *Alzheimer's disease*. 167. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804766-8.00013-3>
- Kim, D., Cho, J., Lee, I., Jin, Y., & Kang, H. (2017). Exercise Attenuates High-Fat Diet-induced Disease Progression in 3xTg-AD Mice. *Medicine and science in sports and exercise*, 49(4), 676–686. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001166>
- Kisler, K., Nelson, A. R., Rege, S. V., Ramanathan, A., Wang, Y., Ahuja, A., Lazic, D., Tsai, P. S., Zhao, Z., Zhou, Y., Boas, D. A., Sakadžić, S., & Zlokovic, B. V. (2017). Pericyte degeneration leads to neurovascular uncoupling and limits oxygen supply to brain. *Nature neuroscience*, 20(3), 406–416. <https://doi.org/10.1038/nn.4489>
- Koontz y Odonell, A. (2021). *Perspectiva global (2000)*. 31(1), 1–14.
- Kosel, F., Pelley, J. M. S., & Franklin, T. B. (2020). Behavioural and psychological symptoms of dementia in mouse models of Alzheimer's disease-related pathology. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 112, 634–647. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.02.012>
- Leasure, J. L., & Jones, M. (2008). Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience*, 156(3), 456–465. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.07.041>
- Li, B., Liu, C., Wan, Q., & Yu, F. (2020). An integrative review of exercise interventions

- among community-dwelling adults with Alzheimer's disease. *International journal of older people nursing*, 15(1), e12287. <https://doi.org/10.1111/opn.12287>
- Liang, K. Y., Mintun, M. A., Fagan, A. M., Goate, A. M., Bugg, J. M., Holtzman, D. M., Morris, J. C., & Head, D. (2010). Exercise and Alzheimer's disease biomarkers in cognitively normal older adults. *Annals of neurology*, 68(3), 311–318. <https://doi.org/10.1002/ana.22096>
- Liang, K. Y., Mintun, M. A., Fagan, A. M., Goate, A. M., Bugg, J. M., Holtzman, D. M., Morris, J. C., & Head, D. (2010). Exercise and Alzheimer's disease biomarkers in cognitively normal older adults. *Annals of neurology*, 68(3), 311–318. <https://doi.org/10.1002/ana.22096>
- Liu-Ambrose, PHYSICAL ACTIVITY AND BRAIN HEALTH, *Innovation in Aging*, Volume 1, Issue suppl\_1, July 2017, Page 40, <https://doi.org/10.1093/geroni/igx004.159>
- Liu, P. P., Xie, Y., Meng, X. Y., & Kang, J. S. (2019). History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease. *Signal transduction and targeted therapy*, 4, 29. <https://doi.org/10.1038/s41392-019-0063-8>
- López, E. (2012). Estudio in vitro del potencial terapéutico de las ficotoxinas en la enfermedad de Alzheimer.
- Mahalakshmi, B., Maurya, N., Lee, S. D., & Bharath Kumar, V. (2020). Possible Neuroprotective Mechanisms of Physical Exercise in Neurodegeneration. *International journal of molecular sciences*, 21(16), 5895. <https://doi.org/10.3390/ijms21165895>
- Maliszewska-Cyna, E., Vecchio, L. M., Thomason, L. A. M., Oore, J. J., Steinman, J., Joo, I. L., Dorr, A., McLaurin, J., Sled, J. G., Stefanovic, B., & Aubert, I. (2020). The effects of voluntary running on cerebrovascular morphology and spatial short-term memory in a mouse model of amyloidosis. *NeuroImage*, 222, 117269. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.117269>
- Manzanares, G., Brito-da-Silva, G., & Gandra, P. G. (2018). Voluntary wheel running: patterns and physiological effects in mice. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, 52(1), e7830. <https://doi.org/10.1590/1414-431X20187830>
- Manzano, S., González, J., Marcos, A., Payno, M., Villanueva, C., & Matías-Guiu, J. (2009). Modelos experimentales de la enfermedad de Alzheimer [Experimental models in Alzheimer's disease]. *Neurologia (Barcelona, Spain)*, 24(4), 255–262.
- M., Landolt, H. P., Berger, W., Nedergaard, M., Knudsen, G. M., & Holst, S. C. (2020). Haplotype of the astrocytic water channel AQP4 is associated with slow wave energy regulation in human NREM sleep. *PLoS biology*, 18(5), e3000623. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000623>
- Marino, S., Bonanno, L., Lo Buono, V., Ciurleo, R., Corallo, F., Morabito, R., Chirico, G., Marra, A., & Bramanti, P. (2019). Longitudinal analysis of brain atrophy in

Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *The Journal of international medical research*, 47(10), 5019–5027.

<https://doi.org/10.1177/0300060519830830>

Matilla-Mora, R., Martínez-Piédrola, R. M., & Fernández Huete, J. (2016). Eficacia de la terapia ocupacional y otras terapias no farmacológicas en el deterioro cognitivo y la enfermedad de Alzheimer. *Revista Espanola de Geriatria y Gerontologia*, 51(6), 349–356. <https://doi.org/10.1016/j.regg.2015.10.006>

Montagne, A., Nikolakopoulou, A. M., Zhao, Z., Sagare, A. P., Si, G., Lazic, D., Barnes, S. R., Daianu, M., Ramanathan, A., Go, A., Lawson, E. J., Wang, Y., Mack, W. J., Thompson, P. M., Schneider, J. A., Varkey, J., Langen, R., Mullins, E., Jacobs, R. E., & Zlokovic, B. V. (2018). Pericyte degeneration causes white matter dysfunction in the mouse central nervous system. *Nature medicine*, 24(3), 326–337. <https://doi.org/10.1038/nm.4482>

Morris, A. W., Carare, R. O., Schreiber, S., & Hawkes, C. A. (2014). The Cerebrovascular Basement Membrane: Role in the Clearance of  $\beta$ -amyloid and Cerebral Amyloid Angiopathy. *Frontiers in aging neuroscience*, 6, 251. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00251>

Nascimento, C. M. C., Varela, S., Ayan, C., & Cancela, J. M. (2016). Effects of physical exercise and basically orientations for prescription in Alzheimer's disease. *Revista Andaluza de Medicina Del Deporte*, 9(1), 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.ramd.2015.02.003>

Naumenko, A. A., Gromova, D. O., Trofimova, N. V., & Preobrazhenskaya, I. S. (2016). Alzheimer's disease: Diagnosis and treatment. *Nevrologiya, Neiropsikhiatriya, Psikhosomatika*, 8(4), 91–97. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2016-4-91-97>

Nelson, A. R., Sweeney, M. D., Sagare, A. P., & Zlokovic, B. V. (2016). Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease. *Biochimica et biophysica acta*, 1862(5), 887–900. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.12.016>

Nicolis di Robilant, V., Scardigli, R., Strimpakos, G., Tirone, F., Middei, S., Scopa, C., De Bardi, M., Battistini, L., Saraulli, D., & Farioli Vecchioli, S. (2019). Running-Activated Neural Stem Cells Enhance Subventricular Neurogenesis and Improve Olfactory Behavior in p21 Knockout Mice. *Molecular neurobiology*, 56(11), 7534–7556. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-1590-6>

Oddo, S., Caccamo, A., Shepherd, J. D., Murphy, M. P., Golde, T. E., Kaye, R., Metherate, R., Mattson, M. P., Akbari, Y., & LaFerla, F. M. (2003). Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron*, 39(3), 409–421. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00434-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00434-3)

OMS. (2009). *Global Health Risks*.

- [http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/GlobalHealthRisks\\_report\\_full.pdf](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GlobalHealthRisks_report_full.pdf)
- OMS. (2018). *Actividad física*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity>
- OMS. (2019). *Demencia*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
- Özbeyle, D., Sarı, G., Özkan, N., Karademir, B., Yüksel, M., Çilingir Kaya, Ö. T., & Kasımay Çakır, Ö. (2017). Protective effects of different exercise modalities in an Alzheimer's disease-like model. *Behavioural brain research*, *328*, 159–177. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.03.044>
- Patel, H., Dobson, R. J. B., & Newhouse, S. J. (2019). A Meta-Analysis of Alzheimer's Disease Brain Transcriptomic Data. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, *68*(4), 1635–1656. <https://doi.org/10.3233/JAD-181085>
- Pena, G. S., Paez, H. G., Johnson, T. K., Halle, J. L., Carzoli, J. P., Visavadiya, N. P., Zourdos, M. C., Whitehurst, M. A., & Khamoui, A. V. (2020). Hippocampal Growth Factor and Myokine Cathepsin B Expression following Aerobic and Resistance Training in 3xTg-AD Mice. *International journal of chronic diseases*, *2020*, 5919501. <https://doi.org/10.1155/2020/5919501>
- Picca, A., Calvani, R., Coelho-Junior, H. J., Landi, F., Bernabei, R., & Marzetti, E. (2020). Mitochondrial Dysfunction, Oxidative Stress, and Neuroinflammation: Intertwined Roads to Neurodegeneration. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *9*(8), 647. <https://doi.org/10.3390/antiox9080647>
- Pini, L., Pievani, M., Bocchetta, M., Altomare, D., Bosco, P., Cavedo, E., Galluzzi, S., Marizzoni, M., & Frisoni, G. B. (2016). Brain atrophy in Alzheimer's Disease and aging. *Ageing research reviews*, *30*, 25–48. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.01.002>
- Prince, M., Acosta, D., Ferri, C. P., Guerra, M., Huang, Y., Llibre Rodriguez, J. J., Salas, A., Sosa, A. L., Williams, J. D., Dewey, M. E., Acosta, I., Jotheeswaran, A. T., & Liu, Z. (2012). Dementia incidence and mortality in middle-income countries, and associations with indicators of cognitive reserve: a 10/66 Dementia Research Group population-based cohort study. *Lancet (London, England)*, *380*(9836), 50–58. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60399-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60399-7)
- Puzzo, D., Gulisano, W., Palmeri, A., & Arancio, O. (2015). Rodent models for Alzheimer's disease drug discovery. *Expert opinion on drug discovery*, *10*(7), 703–711. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1041913>
- Quintana, D. D., Anantula, Y., Garcia, J. A., Engler-Chiurazzi, E. B., Sarkar, S. N., Corbin, D. R., Brown, C. M., & Simpkins, J. W. (2021). Microvascular degeneration occurs before plaque onset and progresses with age in 3xTg AD mice. *Neurobiology of aging*, *105*, 115–128. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2021.04.019>

- Revilla, S., Suñol, C., García-Mesa, Y., Giménez-Llort, L., Sanfeliu, C., & Cristòfol, R. (2014). Physical exercise improves synaptic dysfunction and recovers the loss of survival factors in 3xTg-AD mouse brain. *Neuropharmacology*, *81*, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.01.037>
- Riebe, D. (2013). General principles of exercise prescription. *ACSM's Guide to Exercise Testing and Prescription*, 23–38.
- Richter, H., Ambrée, O., Lewejohann, L., Herring, A., Keyvani, K., Paulus, W., Palme, R., Touma, C., Schäbitz, W. R., & Sachser, N. (2008). Wheel-running in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: protection or symptom?. *Behavioural brain research*, *190*(1), 74–84. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.02.005>
- Robison, L. S., Popescu, D. L., Anderson, M. E., Francis, N., Hatfield, J., Sullivan, J. K., Beigelman, S. I., Xu, F., Anderson, B. J., Van Nostrand, W. E., & Robinson, J. K. (2019). Long-term voluntary wheel running does not alter vascular amyloid burden but reduces neuroinflammation in the Tg-SwDI mouse model of cerebral amyloid angiopathy. *Journal of neuroinflammation*, *16*(1), 144. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1534-0>
- Rosenegger, D. G., Tran, C. H., Wamsteeker Cusulin, J. I., & Gordon, G. R. (2015). Tonic Local Brain Blood Flow Control by Astrocytes Independent of Phasic Neurovascular Coupling. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *35*(39), 13463–13474. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1780-15.2015>
- Rutering, J., Ilmer, M., Recio, A., Coleman, M., Vykoukal, J., Alt, E., & Orleans, N. (2017). *Cerebral blood flow regulation and neurovascular dysfunction in Alzheimer's disease*. *5*(6), 1–8. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.48>. Cerebral
- Ryan, N. S., Rossor, M. N., & Fox, N. C. (2015). Alzheimer's disease in the 100 years since Alzheimer's death. *Brain : a journal of neurology*, *138*(Pt 12), 3816–3821. <https://doi.org/10.1093/brain/awv316>
- Sagare, A. P., Bell, R. D., Zhao, Z., Ma, Q., Winkler, E. A., Ramanathan, A., & Zlokovic, B. V. (2013). Pericyte loss influences Alzheimer-like neurodegeneration in mice. *Nature communications*, *4*, 2932. <https://doi.org/10.1038/ncomms3932>
- Salas-castillo, S., Fornaguera-trías, J., Rica, C., Rica, C., Rica, C., & Rica, C. (2013). *Enfermedad de Alzheimer: Modelos animales como una alternativa para entender la patología y usar estrategias terapéuticas mas exitosas*. *26*(2).
- Serý, O., Povová, J., Míšek, I., Pešák, L., & Janout, V. (2013). Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: a review. *Folia neuropathologica*, *51*(1), 1–9. <https://doi.org/10.5114/fn.2013.34190>
- Shepherd, A., Zhang, T. D., Zeleznikow-Johnston, A. M., Hannan, A. J., & Burrows, E. L. (2018). Transgenic Mouse Models as Tools for Understanding How Increased

- Cognitive and Physical Stimulation Can Improve Cognition in Alzheimer's Disease. *Brain plasticity (Amsterdam, Netherlands)*, 4(1), 127–150. <https://doi.org/10.3233/BPL-180076>
- Small, D. H., & Cappai, R. (2006). Alois Alzheimer and Alzheimer's disease: a centennial perspective. *Journal of neurochemistry*, 99(3), 708–710. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04212.x>
- Sofi, F., Valecchi, D., Bacci, D., Abbate, R., Gensini, G. F., Casini, A., & Macchi, C. (2011). Physical activity and risk of cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *Journal of internal medicine*, 269(1), 107–117. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2010.02281.x>
- Soto-Rojas, L. O., Campa-Córdoba, B. B., Harrington, C. R., Salas-Casas, A., Hernandez-Alejandro, M., Villanueva-Fierro, I., Bravo-Muñoz, M., Garcés-Ramírez, L., De La Cruz-López, F., Ontiveros-Torres, M. Á., Gevorkian, G., Pacheco-Herrero, M., & Luna-Muñoz, J. (2021). Insoluble Vascular Amyloid Deposits Trigger Disruption of the Neurovascular Unit in Alzheimer's Disease Brains. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3654. <https://doi.org/10.3390/ijms22073654>
- Soto-Rojas, L. O., Pacheco-Herrero, M., Martínez-Gómez, P. A., Campa-Córdoba, B. B., Apátiga-Pérez, R., Villegas-Rojas, M. M., Harrington, C. R., de la Cruz, F., Garcés-Ramírez, L., & Luna-Muñoz, J. (2021). The Neurovascular Unit Dysfunction in Alzheimer's Disease. *International journal of molecular sciences*, 22(4), 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms22042022>
- Steven M. Greenberg, MD1, Salman Rustam Al-Shahi, PhD2, Geert Jan Biessels, MD3, Mark van Buchem, MD4, Charlotte Cordonnier, MD5, Jin-Moo Lee, MD6, Joan Montaner, MD7, Julie A. Schneider, MD8, Eric E Smith, MD9, Meike Vernooij, MD10, and David J. Werring, M. (2014). Outcome Markers for Clinical Trials in Cerebral Amyloid Angiopathy. *Bone*, 23(1), 1–7. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70003-1.Outcome](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70003-1.Outcome)
- Sweeney, M. D., Ayyadurai, S., & Zlokovic, B. V. (2016). Pericytes of the neurovascular unit: key functions and signaling pathways. *Nature neuroscience*, 19(6), 771–783. <https://doi.org/10.1038/nn.4288>
- Tapia-Rojas, C., Aranguiz, F., Varela-Nallar, L., & Inestrosa, N. C. (2016). Voluntary Running Attenuates Memory Loss, Decreases Neuropathological Changes and Induces Neurogenesis in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 26(1), 62–74. <https://doi.org/10.1111/bpa.12255>
- Traini, E., Carotenuto, A., Fasanaro, A. M., & Amenta, F. (2020). Volume Analysis of Brain Cognitive Areas in Alzheimer's Disease: Interim 3-Year Results from the ASCOMALVA Trial. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 76(1), 317–329. <https://doi.org/10.3233/JAD-190623>

- Valenzuela, P. L., Castillo-García, A., Morales, J. S., de la Villa, P., Hampel, H., Emanuele, E., Lista, S., & Lucia, A. (2020). Exercise benefits on Alzheimer's disease: State-of-the-science. *Ageing research reviews*, *62*, 101108. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101108>
- Vasconcelos-Filho, F. S. L., da Rocha Oliveira, L. C., de Freitas, T. B. C., de Pontes, P. A. D. S., Rocha-e-Silva, R. C. da, Godinho, W. D. N., Chaves, E. M. C., da Silva, C. G. L., Soares, P. M., & Ceccatto, V. M. (2021). Effect of involuntary chronic physical exercise on beta-amyloid protein in experimental models of Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis. *Experimental Gerontology*, *153*(July). <https://doi.org/10.1016/j.exger.2021.111502>
- Veronese, N., Solmi, M., Basso, C., Smith, L., & Soysal, P. (2019). Role of physical activity in ameliorating neuropsychiatric symptoms in Alzheimer disease: A narrative review. *International journal of geriatric psychiatry*, *34*(9), 1316–1325. <https://doi.org/10.1002/gps.4962>
- Voss, M. W., Vivar, C., Kramer, A. F., & van Praag, H. (2013). Bridging animal and human models of exercise-induced brain plasticity. *Trends in cognitive sciences*, *17*(10), 525–544. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2013.08.001>
- Voss, M. W., Soto, C., Yoo, S., Sodoma, M., Vivar, C., & van Praag, H. (2019). Exercise and Hippocampal Memory Systems. *Trends in cognitive sciences*, *23*(4), 318–333. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2019.01.006>
- Walker, J. M., Klakotskaia, D., Ajit, D., Weisman, G. A., Wood, W. G., Sun, G. Y., Serfozo, P., Simonyi, A., & Schachtman, T. R. (2015). Beneficial effects of dietary EGCG and voluntary exercise on behavior in an Alzheimer's disease mouse model. *Journal of Alzheimer's disease: JAD*, *44*(2), 561–572. <https://doi.org/10.3233/JAD-140981>
- Wong-Guerra, M., Pardo-Andreu, G. L., & Nuñez-Figueredo, Y. (2015). Modelos Animales No Transgénicos De Demencia. Consideraciones Metodológicas Y Relevancia Farmacológica. *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, *1*(December), 1–28. [https://www.researchgate.net/publication/286071306\\_MODELOS\\_ANIMALES\\_NO\\_TRANSGENICOS\\_DE\\_DEMENCIA\\_CONSIDERACIONES\\_METODOLOGICAS\\_Y\\_RELEVANCIA\\_FARMACOLOGICA](https://www.researchgate.net/publication/286071306_MODELOS_ANIMALES_NO_TRANSGENICOS_DE_DEMENCIA_CONSIDERACIONES_METODOLOGICAS_Y_RELEVANCIA_FARMACOLOGICA)
- Yamada, M., & Naiki, H. (2012). Cerebral amyloid angiopathy. In *Progress in Molecular Biology and Translational Science* (1st ed., Vol. 107). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385883-2.00006-0>
- Yamazaki, Y., & Kanekiyo, T. (2017). Blood-brain barrier dysfunction and the pathogenesis of alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(9). <https://doi.org/10.3390/ijms18091965>
- Zenaro, E., Piacentino, G., & Constantin, G. (2017). The blood-brain barrier in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, *107*(2017), 41–56.

<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.07.007>

Zucchella, C., Sinforiani, E., Tamburin, S., Federico, A., Mantovani, E., Bernini, S., Casale, R., & Bartolo, M. (2018). The Multidisciplinary Approach to Alzheimer's Disease and Dementia. A Narrative Review of Non-Pharmacological Treatment. *Frontiers in Neurology*, 9(December), 1–22. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.01058>