



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Medicina

ESTUDIO DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS DEL HIPOCAMPO EN EL MODELO 3XTG-AD PARA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Tesis

Que como parte de los requisitos
para obtener el grado de la

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NEUROMETABOLISMO

Presenta

Biol. Israel Poblano Paez

Dirigido por:

Dr. Siddhartha Mondragón Rodríguez

Co-Dirigido por:

Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda

Querétaro, Qro. Octubre 2024.

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
QUERÉTAROFACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN NEUROMETABOLISMO**



**ESTUDIO DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS DEL HIPOCAMPO EN EL
MODELO 3XTG-AD PARA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN NEUROMETABOLISMO

Presenta

Israel Poblano Paez

Dirigido por:

Dr. Siddhartha Mondragón Rodríguez

Co-dirigido por:

Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda

SINODALES

Dr. Siddhartha Mondragón Rodríguez
Presidente

Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda
Secretario

Dra. Ana Gabriela Hernández Puga
Vocal

Dr. Cesar Antonio Campos Ramírez
Suplente

M. en C. Nelly Jovana Pastén Castrejón
Suplente

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Octubre 2024
MÉXICO

Índice

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| RESUMEN | 6 |
| ABSTRACT | 8 |
| ANTECEDENTES | 9 |
| Enfermedad de Alzheimer | 9 |
| βA y alteraciones neurometabólicas en la EA | 12 |
| Proteína tau y sus modificaciones postraduccionales | 15 |
| Espinas dendríticas | 17 |
| Mecanismos de formación de la memoria | 19 |
| Plasticidad agrupada | 20 |
| Formación hipocampal | 21 |
| Modelo 3xTg-AD | 22 |
| JUSTIFICACIÓN | 25 |
| OBJETIVOS | 26 |
| Objetivo General | 26 |
| Objetivos Particulares | 26 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 27 |
| Animales | 27 |
| Tinción Golgi-Cox | 27 |
| Análisis cuantitativo de las espinas dendríticas | 28 |
| Comunidades de espinas dendríticas | 28 |
| Análisis estadístico | 29 |
| Resultados | 30 |
| Las espinas rechonchas se encontraron alteradas en el modelo 3xTg-AD joven . | 30 |
| El número y estructura de comunidades dendríticas no se encontró alterado en los ratones 3xTg-AD jóvenes | 31 |
| La conectividad de comunidades dendríticas no se encontró alterada en los ratones 3xTg-AD jóvenes | 32 |
| Discusión | 35 |
| Conclusión | 38 |
| Bibliografía | 39 |

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Facultad de Medicina por el apoyo brindado por el Centro de Investigación Biomédica Avanzada (CIBA) de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Al Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme utilizar las instalaciones para la realización de los experimentos de esta investigación.

Al apoyo económico brindado por CONAHCYT 836846 de becas nacionales para posgrado.

Al Dr. Siddhartha Mondragón Rodríguez por su dirección, así como su guía en el desarrollo de este proyecto de investigación.

Al Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda por su co-dirección y por aceptarme como su alumno desde el principio de mi carrera como investigador, por permitirme un lugar en su laboratorio y formar parte significativa de mi aprendizaje y crecimiento.

A la Dra. Ana Gabriela Hernández Puga por su asesoría y por fungir como parte de comité tutorial a lo largo de mi formación.

A la Dr. Cesar Antonio Campos Ramírez por su asesoría y por fungir como parte de comité tutorial a lo largo de mi formación.

Al Mtra. Nelly Jovana Pastén Castrejón por su colaboración y por fungir como parte de comité tutorial y su asesoría a lo largo de mi proyecto.

Al Dr. Isaac Vargas Rodríguez por su asesoría y apoyo en el procesamiento de imágenes.

Al Mtro. David Poblano Paez por su colaboración y apoyo en el procesamiento de imágenes y el desarrollo de código para su análisis.

A los Técnicos Académicos Azucena Ruth Aguilar Vázquez y Carlos Lozano Flores por su asesoría y apoyo técnico en el desarrollo de este proyecto.

A la M. en C. Adriana González Gallardo por su asesoría y apoyo en técnicas moleculares.

Al M.V.Z. Martín García por su asesoría y apoyo técnico en el cuidado, mantenimiento y crianza de los animales del bioterio.

A la Dra. Alejandra Castillo por su especial ayuda en la manipulación de mis animales experimentales y por estar siempre atenta de mis necesidades dentro y fuera del bioterio.

A la Ing. Elsa Nydia Hernández Ríos de la Unidad de Microscopia por su apoyo técnico en la captura de imágenes y asesoría en microscopía confocal.

A la Dra. Ericka A. de los Ríos Arellano por su asesoría y apoyo en materia de histología y microscopía de campo claro.

Dedicatoria

A mi familia, por ser la base y el pilar en cada aspecto de mi vida, los principios y los valores inculcados, las vivencias, su apoyo incondicional y dedicación constante, su esfuerzo, su perseverancia y paciencia y todos aquellos sacrificios han sido la luz en mi camino y la clave en el éxito de cada meta alcanzada y cada sueño o idea por continuar. Gracias a mi papá, a mi mamá y a mis hermanos por todo el apoyo, pero principalmente por su amor y su cariño.

Y a mi esposa Jovana, por ser mi compañera de vida y mi mayor aliada en este viaje. Gracias por tu amor, tu comprensión y camino a mi lado. Tu apoyo ha sido un motor que me ha impulsado a superar los obstáculos.

A todos ustedes, les dedico este triunfo con gratitud y todo mi corazón.

RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo caracterizado por la pérdida progresiva de la función cognitiva, siendo las espinas dendríticas componentes fundamentales en la plasticidad sináptica que son afectadas durante esta patología. Este estudio tuvo como objetivo evaluar los cambios en las espinas dendríticas (ED) del área de CA1 del hipocampo en ratones 3xTg-AD jóvenes de 2 meses de edad y comparamos su estructura y organización con las ED de ratones wild type. Se seleccionaron ratones de esta edad para detectar alteraciones tempranas antes de la aparición de las placas amiloides y agregados de la proteína tau, marcadores característicos de estadios avanzados de la EA. Se realizó una caracterización de diferentes tipos de espinas (hongo, delgadas, rechonchas y filopodios) utilizando la técnica de Golgi-Cox y un análisis de comunidades mediante técnicas de programación en Python. Los resultados mostraron una disminución significativa en el número de espinas rechonchas en ratones 3xTg-AD, sin cambios en las comunidades de espinas. Esta alteración podría estar asociada con la pérdida de plasticidad sináptica y el inicio de la neurodegeneración en etapas tempranas de la EA. En conclusión, los hallazgos sugieren que las alteraciones en las espinas dendríticas pueden ser un marcador temprano de la progresión de la EA, destacando la importancia de investigar estos cambios estructurales.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer, espinas dendríticas, hipocampo, modelo 3xTg-AD, plasticidad sináptica.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by the progressive loss of cognitive function, with dendritic spines being fundamental components of synaptic plasticity that are affected during this pathology. This study aimed to evaluate changes in the dendritic spines (DS) of the CA1 hippocampal area in young 2-month-old 3xTg-AD mice and compared their structure and organization with the DS of wild-type mice. Mice of this age were selected to detect early alterations before the appearance of amyloid plaques and tau protein aggregates, which are characteristic markers of advanced stages of AD. A characterization of different spine types (mushroom, thin, stubby, and filopodia) was carried out using the Golgi-Cox technique and community analysis through Python programming techniques. The results showed a significant decrease in the number of stubby spines in 3xTg-AD mice, with no changes in spine communities. This alteration could be associated with the loss of synaptic plasticity and the onset of neurodegeneration in early stages of AD. In conclusion, the findings suggest that alterations in dendritic spines could be an early marker of AD progression, highlighting the importance of investigating these structural changes.

Keywords: Alzheimer's disease, dendritic spines, hippocampus, 3xTg-AD model, synaptic plasticity.

ANTECEDENTES

Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un desorden neurodegenerativo caracterizado por alteraciones neurometabólicas, principalmente hipometabolismo, que se correlaciona con la pérdida de la memoria, deterioro cognitivo, cambios conductuales y pérdida de la autonomía. La EA es la principal causa de demencia responsable del 60% al 80% de los casos y se estima que a nivel mundial existen alrededor de 50 millones de casos de demencia y se espera que para el 2050 sobrepase los 150 millones de casos (Abeysinghe et al., 2020; Vaz & Silvestre, 2020). De acuerdo con estudios, la prevalencia de la EA va en aumento, esto debido al aumento de la población mayor a 65 años. En el 2000 se estimó que había 420 millones de personas mayores a 65 años y se espera que para el 2030 aumenten a mil millones, teniendo un incremento del 7% al 12%. La prevalencia de demencia a nivel mundial se estima que es 1,6% en África, 4% en China y las regiones del pacífico occidental, del 4,6% en América latina y del 6,4% en América del norte y Europa (Qiu et al., 2009; Tahami Monfared et al., 2022). En México, se estiman que existen aproximadamente 800 000 personas con demencia de tipo Alzheimer y su prevalencia va del 8,5% al 9,5% (Agudelo-Botero et al., 2023; Leyva et al., 2022).

Otro aspecto importante de las demencias a nivel social es el costo, ya que más de dos tercios de las personas con demencia viven en países de bajo ingreso. Una estimación sobre el costo por persona en el 2015 fue que para países de ingreso medio alto era de 10,467 dólares, para países de ingreso medio bajo es de 3,865 dólares y para países de ingresos bajos es de 939 dólares (Mattap et al., 2022). Por otro lado, la tasa de mortalidad por demencia es muy alta ya que en el 2019 hubo 1,6 millones de muertes, de las cuales el 65% aproximadamente fueron mujeres. Para los pacientes con EA la expectativa de vida es de aproximadamente 7 a 10 años en personas diagnosticadas entre los 60 y los 70 años (Health, 2021; Liang et al., 2021).

La EA fue descrita hace más de 100 años, por el médico alemán Aloysius Alzheimer, a través de su paciente Augusto Deter de 51 años, quien presentaba síntomas como deterioro de la memoria, manía, insomnio y agitación (Holtzman et al., 2011). Las

alteraciones morfológicas descritas por el médico fueron placas fibrilares formadas por el péptido β -Amiloide (β A) y la agregación de marañas neurofibrilares (MNFs) compuestas por la proteína tau anormalmente fosforilada (**Fig.1**) (Yang et al., 2016). Como se menciona previamente, la EA está caracterizada por la pérdida de la memoria, desorientación, problemas de atención, problemas de lenguaje, problemas visuoespaciales, problemas ejecutivos y cambios conductuales abruptos (Eratne et al., 2018). Estas características están asociadas a factores de riesgo como el aumento de la edad, factores genéticos, traumatismos craneoencefálicos, enfermedades vasculares, infecciones, factores ambientales y alteraciones neurometabólicas por lo cual se le considera a la EA como una patología multifactorial (Breijyeh & Karaman, 2020).

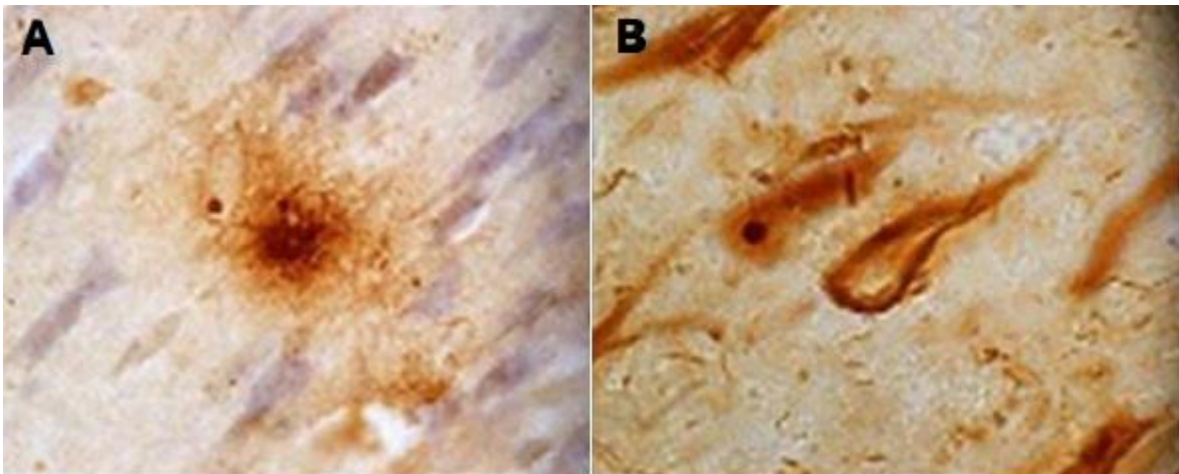


Figura 1. Marcas histopatológicas de la enfermedad de Alzheimer. Agregados extracelulares del péptido β A (**A**) y marañas neurofibrilares intraneuronales (**B**) López-Camacho, P. Y., *et al.*, 2018.

Actualmente EA presenta dos formas reconocidas, la de aparición temprana o familiar y la de inicio tardío o esporádica. La EA familiar está asociada a la mutación de genes relacionados como la proteína precursora amiloide (PPA), la proteína tau anormalmente fosforilada (pTau), la presenilina1 (PSEN1) y la presenilina2 (PSEN2), esta forma de la enfermedad representa menos del 1% de todos los casos y se caracteriza por que los síntomas comienzan antes de los 60 años. Por otro lado, la EA esporádica, es la más frecuente y se presenta en más del 95% de los casos, la causa de esta forma de Alzheimer es desconocida. Sin embargo, se le ha asociado a una combinación de factores genéticos como la apolipoproteína E4

(ApoE4) y el receptor de células mieloides 2 (TREM2), factores ambientales (acetilación de histonas y metilación del ADN) y alteraciones neurometabólicas (Bellenguez et al., 2020; Chouraki & Seshadri, 2014; Sims et al., 2020; L. Zhang et al., 2020).

A pesar de que no existe un mecanismo exacto que indique cómo se inicia la EA, se han generado una diversidad de hipótesis que explican una variedad de procesos observados en la patología, tales como, la hipótesis colinérgica, la hipótesis de la cascada β A, la hipótesis de la agregación de la proteína pTau, la hipótesis del estrés oxidativo, la hipótesis excitotóxica, la hipótesis de la neuroinflamación, la hipótesis sobre el trastorno de la microbiota intestinal y la hipótesis de la disfunción sináptica. Siendo la hipótesis de la cascada β A (péptido β A) y la de agregación de la proteína tau (pTau) de las de mayor peso en el desarrollo de esta patología y las más ampliamente estudiadas (Sharma et al., 2019; L. Zhang et al., 2020).

Agregación del péptido β A

La hipótesis de la cascada amiloide fue propuesta en los años 90 por Hardy y Higgings, esta expone que la agregación del péptido β A en oligómeros, fibrillas y posteriormente en placas es la principal causa desencadenante de la EA. Ya que la acumulación de β A lleva a una serie de eventos neurotóxicos que culminan en la neurodegeneración característica de la patología de tipo Alzheimer (Hardy & Higgins, 1992).

El péptido β A es un metabolito de 4kDa, que deriva de la escisión proteolítica de la proteína transmembranal APP que tiene dos vías de escisión, una vía no amiloidogénica y otra amiloidogénica. En la primera vía, la escisión ocurre por la enzima α -secretasa, que produce dos fragmentos, la forma soluble APP (sAPP α) y un fragmento C-terminal de APP (α APP-CTF), posteriormente el α APP-CTF es cortado por la enzima γ -secretasa y forma dos péptidos (P3 y AICD). Por otro lado, en la vía amiloidogénica, la escisión sucede gracias a la enzima β -secretasa que también forma dos fragmentos. El fragmento sAPP β y el fragmento β APP-CTF, de los cuales, posteriormente la enzima γ -secretasa corta el fragmento β APP-CTF para así formar el péptido β A y el péptido AICD (Nicolas & Hassan, 2014; Pearson &

Peers, 2006) (**Fig. 2**).

Se sabe que la vía amiloidogénica produce péptidos de 39 a 43 aminoácidos de longitud, sin embargo, las isoformas 40 y 42 son los que más se expresan y que están asociados a funciones como regulación de vías de señalización, la regulación de la función sináptica, actividad antimicrobiana, supresión de tumores y promoción de la recuperación de lesiones cerebrales. La expresión de β A en el cerebro está en las neuronas y los astrocitos, y en células fuera del cerebro como la piel, músculo esquelético, y el epitelio intestinal. Estudios en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de personas cognitivamente normales se encontró que la isoforma más abundante es la de 40 aminoácidos (2-3 ng/mL), mientras que la isoforma de 42 aminoácidos era menor (0.75 ng/mL) (Brothers et al., 2018; Karisetty et al., 2020; Puzzo et al., 2008).

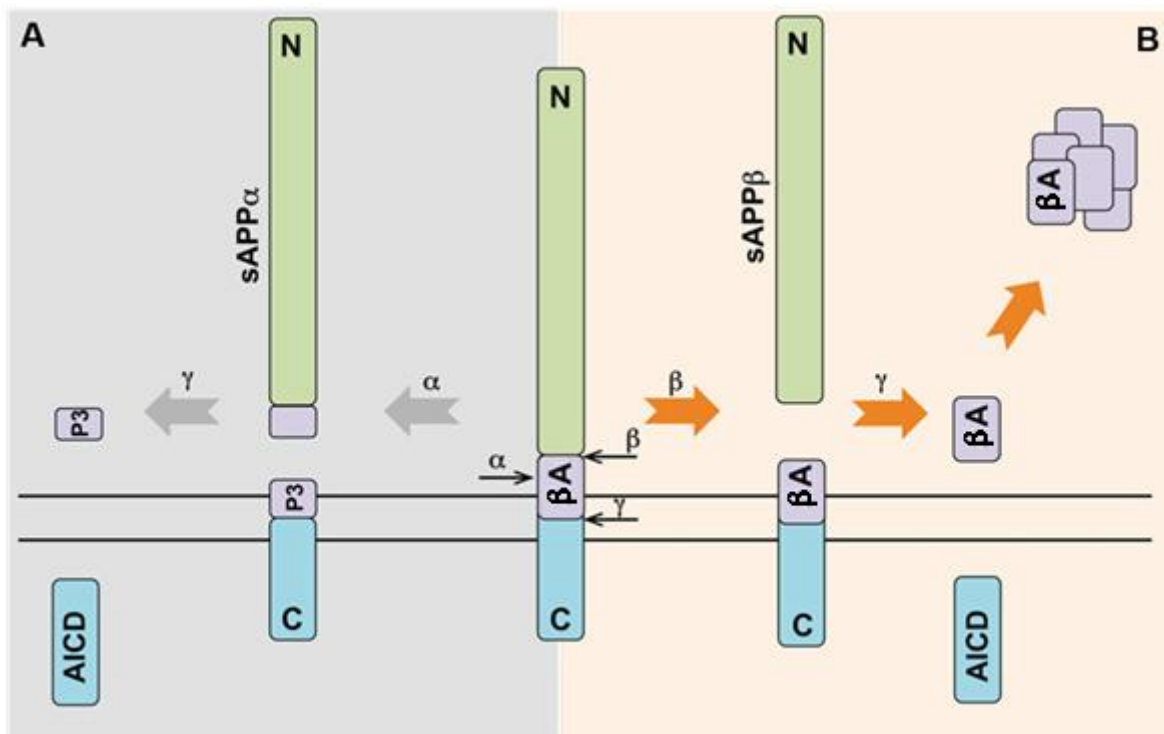


Figura 2. Vías del procesamiento de la proteína precursora de amiloide (APP). Vía no amiloidogénica por la escisión mediante la enzima α -secretasa y γ secretasa (A). Procesamiento amiloidogénico de la APP mediada por la β -secretasa y γ -secretasa que generan los péptidos de 39-43 aminoácidos (B). Modificado de Nicolas y Hassan, 2014.

β A y alteraciones neurometabólicas en la EA

Como se ha mencionado, un sello distintivo de la EA es la agregación de β A, diversos estudios tanto en humanos como en animales sugieren que la distribución

y la acumulación de βA se relaciona con los diferentes cambios regionales en la actividad neuronal en estadios tempranos antes de la acumulación de placas. Estos cambios a largo plazo sobre la actividad neuronal, podría contribuir a las diferencias en el depósito de amiloide- β en diferentes áreas cerebrales, lo que podría dar lugar a cambios metabólicos que reflejen la disfunción neuronal y sináptica.

Un estudio en humanos reporto cambios metabólicos a través de tomografía por emisión de positrones (PET), ya que hubo un aumento de glucólisis y estaba correlaciona espacialmente con depósitos βA . Otro estudio también muestra, datos similares donde hay una superposición de agregados βA con hipometabolismo en regiones frontales y parietales en adultos cognitivamente normales. De manera interesante, la reducción de la materia gris coincide con un estado hipometabolico que se acompaña de agregados de βA (Andersen et al., 2021; Gorska-Ponikowska & others, 2018).

Por otro lado, se sabe que durante la enfermedad existe un aumento de βA en el LCR, así como su agregación en el cerebro (Findeis, 2007). En 1992 Hardy y Higgins propusieron la hipótesis de la cascada βA , donde los depósitos de βA era la lesión principal asociada al desarrollo de la EA. Sin embargo, con el paso del tiempo se plantea que el depósito gradual de βA en el cerebro conduce a una cascada neurodegenerativa que involucra inflamación dada por un aumento de citocinas, estrés oxidativo por el aumento de radicales libres de oxígeno, lesión y perdida neuronal, todo esto causado por oligómeros de βA y alteraciones neurometabolicas (Herrup, 2015; Korczyn, 2008).

Se ha demostrado que el péptido βA_{42} en forma de monómeros (βA_{42m}) y oligómeros (βA_{42o}) facilita la plasticidad sináptica y la memoria a bajas concentraciones (2 picomolar pM < βA > 2 nanomolar nM), mientras que en altas concentraciones ($\beta A \geq 20$ nM) el efecto es lo contrario ya que el péptido βA tiene un efecto hormético (Puzzo et al., 2008, 2012).

Además, Guivernau y colaboradores demostraron que la nitración de βA en la tirosina 10 por peroxinitrito tiene efectos excitotóxicos (exposición excesiva del neurotransmisor glutamato o sobre estimulación de sus receptores). A través, del uso de oligómeros βA_{42} nitrados que mostraron mayor excitotoxicidad en cultivos

neuronales del hipocampo de ratón mediante mecanismos dependientes de los receptores N-metil-D-aspartato (rNMDA) (Guivernau et al., 2016).

Aunado a lo anterior, se sabe que β A causa una reducción de los transportadores de glucosa 1 (GLUT1) en los astrocitos causando fallas metabólicas, teniendo efectos directos con el metabolismo del glutamato-glutamina y alteraciones con la recaptación de glutamato (Andersen et al., 2021).

Se sabe que la isoforma β A42 en forma de oligómeros es la más tóxica. Si embargo un estudio en el 2018 demostró que los efectos de β A sobre la plasticidad y la memoria dependen de la isoforma, la agregación y la concentración, ya que concentraciones de 200 nM de β A42o, β A40o y β A42m deterioran la memoria y la potenciación a largo plazo (LTP) que es un mecanismo importante de plasticidad sináptica que subyace a la memoria y el aprendizaje en el sistema nervioso central (SNC) (Tim V P Bliss & Collingridge, 1993; Gulisano et al., 2018).

También, se sabe que el péptido β A, causa daños metabólicos a las células debido a las alteraciones mitocondriales en las neuronas por el incremento de óxido nítrico (NO), especies reactivas de oxígeno y la liberación de calcio (Gorska-Ponikowska & others, 2018). Si bien, el péptido β A es uno de los protagonistas en la EA, este depende de los niveles de la proteína tau, debido a que se sabe que la proteína tau regula la estabilidad de los receptores de glutamato, ya que diversos estudios realizados por el grupo del Dr. Lennart Mucke, han mostrado como la reducción de la proteína tau endógena reduce los efectos negativos del péptido β A como el deterioro cognitivo, la pérdida de plasticidad sináptica y la reducción de la transmisión sináptica en el modelo hAPP/Tau^{-/-} el cual se caracteriza por la presencia de placas β A y la ausencia de la proteína tau (Roberson et al., 2007, 2011).

Busche y colaboradores en el 2019, demostraron que β A y la proteína tau tienen efectos radicalmente opuestos ya que el ratón doble transgénico (APP/PS1) mostraba una hiperactividad en las neuronas de la corteza, mientras que un modelo para taupatía (rTg4510) presentó un silenciamiento de las neuronas. Sin embargo, al cruzar los modelos APP/PS1+rTg4510 vieron que la hiperactividad antes vista en el doble transgénico se había modulado (Busche et al., 2019).

Proteína tau y sus modificaciones postraduccionales

La proteína tau asociada a microtúbulos fue descubierta en 1975 por Kirschner y colaboradores. Esta proteína es codificada por el gen *MAPT*, ubicada en el cromosoma 17q21. En el sistema nervioso central (SNC) la proteína tau se traduce a partir de un transcrito de RNA mensajero (RNAm) y se expresan seis isoformas debido al empalme alternativo (Wang & Mandelkow, 2016; Ye et al., 2022). La proteína tau se divide en dos secciones, un dominio C-terminal que comprende el dominio de repetición (DR) de unión a microtúbulos (MT) y el dominio N-terminal que se extiende fuera de los MT para regular el espacio de estos mismos (**Fig. 3A**). En el SNC la proteína tau se localiza predominantemente a lo largo de los axones y en el compartimento somatodendrítico en condiciones fisiológicas (Barbier et al., 2019). Tau juega un papel central en la dinámica de los MT al regular el ensamblaje, la organización espacial y el comportamiento dinámico al unirse en la interfaz de los heterodímeros de tubulina α - β . Por otro lado, tau participa en la transmisión sináptica a través de la dinámica de las espinas dendríticas, ya que regular los niveles y la actividad de la proteincinasa Fyn, la cual estabiliza los rNMDA a través de la fosforilación en su subunidad GluN2 (Carosi et al., 2021; Castellani & Perry, 2019; Hu et al., 2023).

La proteína tau puede sufrir modificaciones postraduccionales, que incluyen metilación, acetilación, ubiquitinación y fosforilación. La fosforilación juega un papel importante en la regulación de las funciones fisiológicas de tau. La isoforma 2N4R contiene aproximadamente 85 sitios potenciales de fosforilación (45 residuos de serina, 35 residuos de treonina y 5 residuos de tirosina) (**Fig. 3**). En el cerebro humano adulto la unión de fosfatos es de 2 a 4 moles por molécula de la proteína tau. Por otro lado, los estudios in vitro que buscan identificar las proteínas responsables de la fosforilación de tau han señalado el papel clave de las quinasas y fosfatasas. Entre las quinasas más destacadas se encuentran aquellas dirigidas por prolina, como la glucógeno sintasa quinasa 3 β (GSK-3 β), la quinasa 5 dependiente de ciclina (cdk5), la quinasa 2 dependiente de ciclina (cdk2), la proteína quinasa activada por mitógeno p38MAPK, ERK/MAPK y la c-jun N-terminal quinasa (JNK). También están las quinasas que no son dirigidas por prolina como la proteína

quinasa dependiente de AMPc, proteína quinasa II dependiente de calcio/calmodulina, la quinasa reguladora de afinidad por MT (MARK), proteína quinasa A (PKA), PKB/AkT, PKC y tirosina quinasa de la familia Src, c-Src, y Fyn. En el caso de las fosfatasas están involucradas PP1, PP2A, PP2B; PP2C, PP3 y PP5; sin embargo, la fosfatasa PP2A muestra los efectos más fuertes sobre la fosforilación de tau y representa alrededor del 70 % de la actividad de la fosfatasa de tau (Arendt et al., 2016; A. Ittner & Ittner, 2018; Wang & Mandelkow, 2016; Ye et al., 2022).

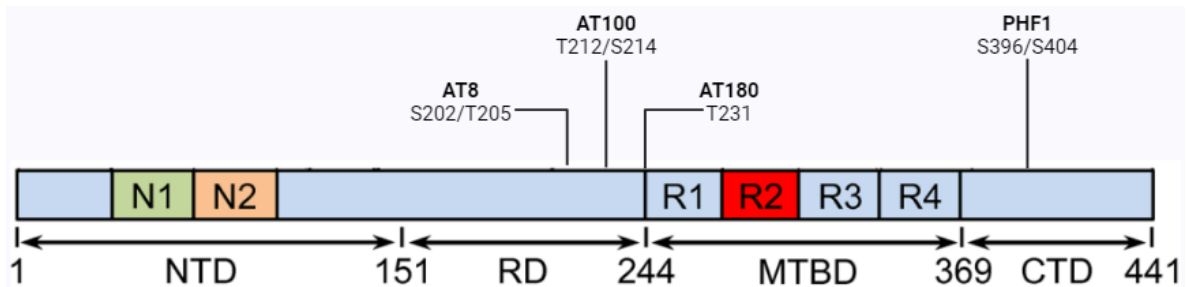


Figura 3. Secuencia de la proteína tau y sitios de fosforilación fisiológicos y patológicos. Secuencia de la proteína tau con cuatro dominios (Dominio N-terminal, Dominio de repetición o abundante en prolinas, un Dominio de unión a microtúbulos y un Dominio C-terminal) y sitios de fosforilación asociados a la patología de Alzheimer. Modificado de Ye, H., *et al*, 2022 y Wang, Y., & Mandelkow, E; 2016

La hiperfosforilación de tau (pTau) es un factor importante que puede modificar su conformación fisiológica y conducirla a un plegamiento y una agregación anormal que posteriormente produce trastornos neurodegenerativos denominados taupatías. Se han encontrado fosforilaciones asociadas a la EA (**Fig. 3**). En la EA, otro sello distintivo es la formación de MNF conformadas por la agregación de la proteína pTau. Antes de la formación de MNF, una hiperfosforilación en el extremo c-terminal de tau induce un autoensamblaje y conduce a la formación de filamentos helicoidales apareados (FHA), estos agregados dan pie a la pérdida del transporte axonal y a la desestabilización de los MT. En la EA la patología asociada a pTau puede aparecer a una edad más temprana que las placas de β A; sin embargo, aún sigue en discusión esta línea de tiempo. No obstante, las etapas de Braak que determinan el deterioro cognitivo relacionado con las estructuras cerebrales afectadas durante el desarrollo de la EA utilizan el patrón de la propagación de la patología asociada a pTau. Por otro lado, la fosforilación como la escisión de tau

son los primeros eventos que preceden a la agregación (Muralidar et al., 2020; Naseri et al., 2019).

Anteriormente, la proteína pTau solo se le había relacionado con fisiopatología de los microtúbulos del axón; sin embargo, actualmente se sabe que la proteína pTau juega un papel importante durante la sinaptopatía que se observa durante etapas tempranas de neurodegeneración. Esto concuerda con lo reportado por Ittner y colaboradores en el 2010, donde usan una tau truncada (δ Tau74) que solo tiene el dominio N-terminal pero que al ser fosforilada se desacopla de la densidad posináptica (PSD) junto con la proteína quinasa Fyn la cual está implicada en la estabilización de PSD95 y el rNMDA (L. M. Ittner et al., 2010).

Es importante resaltar que en la EA los déficits de memoria y aprendizaje están dados por pérdida de las estructuras sinápticas, sin embargo, Ittner muestra como el desacople de los complejos en la densidad posináptica aminora la hiperexcitación dada por A β , mejora el rendimiento en la tarea y reduce la actividad epileptiforme en este modelo de ratón transgénico. Otros estudios, mostraron que el modelo rTg4510 joven (p30-35), no presento cambios detectables en las tareas dependientes del hipocampo, ni en la actividad locomotora. Sin embargo, encontraron que las neuronas del hipocampo acumulaban proteína pTau y se observan cambios en la actividad oscilatoria del hipocampo (Mondragón-Rodríguez et al., 2021).

En resumen, la presencia de proteínas A β y pTau en los distintos modelos transgénicos correlaciona con alteraciones neurofuncionales, lo que sugiere potenciales alteraciones de tipo estructural.

Espinas dendríticas

Las espinas dendríticas son pequeñas protuberancias de las dendritas y forman los sitios posinápticos de la mayoría de las sinapsis excitatorias; también, la mayoría de las sinapsis se forma entre un botón axonal y la espina dendrítica. Son estructuras altamente plásticas en su tamaño, forma y número, cambian constantemente en respuesta a la actividad neuronal. El número de espinas dendríticas varía de 1 a 10 espinas/ μ m de longitud de una dendrita y depende del

tipo de neurona y la etapa de desarrollo. En el cerebro maduro las espinas dendríticas suelen tener menos de 3 μm de longitud y una cabeza esférica de 0.5-1.5 μm de diámetro. Un rasgo característico de las espinas excitatorias es la DPS componente de la sinapsis glutamatérgica que consta de canales iónicos, receptores y quinasas/fosfatasa densamente empaquetadas por proteínas de andamiaje (Chidambaram et al., 2019; Gipson & Olive, 2017; Pchitskaya & Bezprozvanny, 2020).

Las espinas dendríticas se encuentran en una variedad de formas y tamaños que difieren de acuerdo con las áreas del cerebro donde se encuentren, los tipos de células y las especies animales. Generalmente, se clasifican en 4 clases que son; filopodios, rechonchas, delgadas y en hongo (Fig. 4 A), esta clasificación es dependiente de sus características morfológicas, ya que estas reflejan las propiedades de la cabeza y el cuello. Los filopodios, por ejemplo, son protuberancias largas y delgadas sin cabeza y su contribución es alta en la vida posnatal temprana y disminuye rápidamente en la edad adulta, son estructuras muy móviles y flexibles. Las espinas rechonchas tienen el cuello muy corto y una cabeza muy grande, predominan en etapas tempranas del desarrollo posnatal, pero también se encuentran en pequeñas cantidades en la edad adulta. Mientras que las espinas de tipo hongo tienen una cabeza grande y un cuello corto. Estas forman conexiones sinápticas fuertes y estables y tienen una vida útil más larga por lo que se cree que son sitios de almacenamiento de la memoria a largo plazo. Por último, las espinas delgadas tienen cabezas pequeñas y cuellos muy largos y delgados, forman conexiones más dinámicas que las espinas de tipo hongo y se cree que son espinas de aprendizaje, responsables de formar nuevos recuerdos durante el proceso de plasticidad sináptica (Pchitskaya & Bezprozvanny, 2020; Runge et al., 2020). Se sabe que las espinas dendríticas son los componentes más importantes de las sinapsis excitatorias, además de que su morfología y densidad juegan un papel crucial en la plasticidad sináptica y por lo tanto, en los procesos de aprendizaje y memoria (Chidambaram et al., 2019).

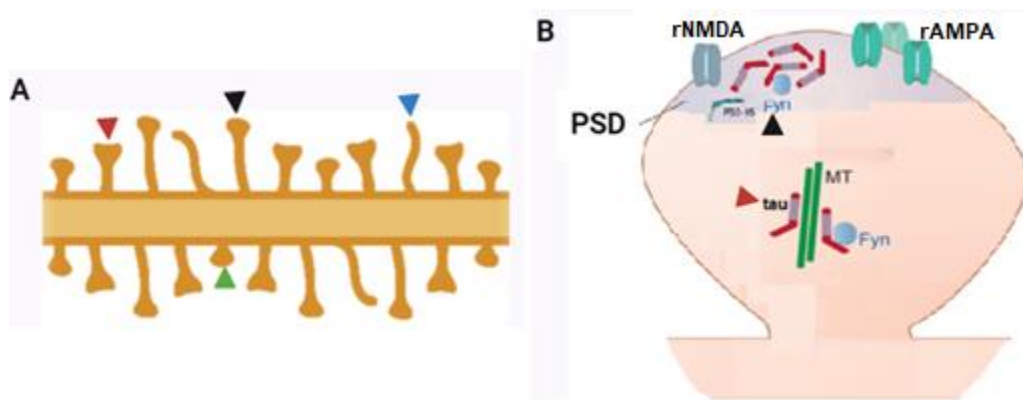


Figura 4. Diversidad y estructura de las espinas dendríticas. Imagen caricaturizada donde se representan las espinas tipo hongo (Punta de checha roja), las espinas delgadas (punta de flecha negra), los filopodios (punta de flecha azul) y las espinas rechonchas (punta de flecha verde) **(A)**. Estructura de las espinas dendríticas con una densidad posináptica (PSD, coloreado en morado), donde se estabilizan los receptores NMDA (RNMDA), a través de un complejo proteico formado por la proteína tau, PSD95 y proteína cinasa Fyn (punta de flecha negra) y los receptores AMPA (RAMPA). Complejo de formado por la proteína tau, microtúbulos y proteína cinasa Fyn (punta de flecha roja) fuera de PSD **(B)**. Modificado de Ittner, A., & Ittner, L. M; 2018

Mecanismos de formación de la memoria

El aprendizaje cómo la memoria son las funciones más complejas del cerebro, esenciales para la supervivencia en la vida diaria de los seres vivos. El aprendizaje es el proceso para transformar una red neuronal y adaptarse al entorno, mientras que la memoria es el mantenimiento de la red neuronal. Desafortunadamente, aún no se conocen con exactitud los mecanismos por los cuales la memoria se asigna a nivel de sinapsis. Sin embargo, se cree que varias formas de plasticidad sináptica y el cambio persistente en la eficacia sináptica, es el sustrato celular que subyace al aprendizaje y la memoria; además, de la participación de las dos formas de plasticidad sináptica la LTP y la depresión a largo plazo (LTD) que inhibe la plasticidad sináptica (Ma & Zuo, 2022).

En la EA se sabe que el A β 42 es capaz de inhibir la LTP. Se ha demostrado que la activación del rNMDA en la subunidad GluN2A tiene efectos positivos; sin embargo, la activación rNMDA en la subunidad GluN2B, que se segregan en sitios extrasinápticos, presentan efectos nocivos. En la EA la activación de los rNMDA GluN2B conduce a LTD, y esto conlleva a una reducción de las espinas dendríticas y a una pérdida sináptica (Babaei, 2021).

En un trabajo realizado por Li y colaboradores encontraron que los oligómeros A β

solubles facilitaron la LTD evocada eléctricamente en la región CA1 hipocampal y que la LTD potenciada por A β estuvo mediada por la actividad del receptor metabotrópico de glutamato (mGlu) o rNMDA (Li et al., 2009). Otro estudio demostró que las espinas postsinápticas de tipo hongo en el hipocampo del modelo de ratón de EA con la proteína precursora amiloide knock-in (APPKI) se encontraban en menor cantidad y que esto ocurría por la acumulación de A β 42 extracelular en medios de cultivo. También reportaron que A β 42 extracelular actúa sobre activando el receptor mGluR5 en las neuronas APPKI, lo que lleva a un aumento de Ca²⁺ niveles en el retículo endoplásmico (H. Zhang et al., 2015).

Roy y colaboradores, demostraron que al inducir una activación optogenética a través de un protocolo de LTP la sinapsis de las células del engrama de la circunvolución dentada, restaura tanto la densidad de las espinas dendríticas, así como la memoria a largo plazo (Roy et al., 2016). Adicionalmente, se ha reportado la participación de la proteína tau en la dinámica de las espinas dendríticas, esto debido a que la proteína tau formar el complejo con la proteína fyn/PSD95, lo cual va a regular la estabilidad de los rNMDA (**Fig. 4 B**) (A. Ittner & Ittner, 2018; Muralidar et al., 2020).

Plasticidad agrupada

El buen funcionamiento del cerebro requiere de la activación coordinada de excitación/inhibición ya que este fenómeno da pie a los eventos de plasticidad neuronal, LTP y LTD, que son fundamentales en procesos de memoria y aprendizaje. La LTP es el aumento en la eficacia de la transmisión sináptica, a través del reclutamiento de receptores de glutamato, mientras que la LTD reduce la eficacia de la transmisión sináptica debido a la endocitosis de los receptores de glutamato; adicionalmente, esta acción fomenta la dinámica y formación de las espinas dendríticas (Timothy V P Bliss & Cooke, 2011; Bosch & Hayashi, 2012).

La activación sincrónica de las espinas dendríticas con sus vecinas es muy importante en la conectividad, ya que se sabe que estas no actúan de forma individual, sino, que son parte de una comunidad o grupo. Además, la cooperatividad es fundamental en la LTP, ya que es parte del mecanismo en la

activación del rNMDA, el cual aumentara el nivel del calcio y dará pie a múltiples vías de señalización dentro de las dendritas que a su vez coactivaran a sinapsis vecinas, fomentando una potenciación sináptica múltiple y por tanto la formación de los grupos o comunidades de espinas dendríticas (Kastellakis & Poirazi, 2019; Mijalkov et al., 2021).

La disminución de grupos de espinas dendríticas en cerebros de personas con la EA, algo muy importante, demostrado en un estudio reciente, es que esta disminución está asociada a la proteína pTau, ya que fueron las dendritas de neuronas pTau positivas en el área de CA1 de la formación hipocampal las que presentaron esta disminución (Mijalkov et al., 2021).

Formación hipocampal

La formación hipocampal (FH) se encuentra dentro del lóbulo temporal medial y es una estructura clave del sistema nervioso central (SNC) en los mamíferos. Su organización sigue un circuito que dirige el flujo de información en una sola dirección. Esta formación está compuesta por cuatro áreas principales: la corteza entorrinal (CE), el giro dentado (GD), el hipocampo (HP) y el subículo (Sub) (Witter, 2012).

El hipocampo se divide en tres regiones conocidas como *cornu Ammonis* (CA1, CA2 y CA3). Cada una de estas regiones contiene diferentes capas como la capa *Oriens* (EO) la cual alberga las dendritas basales, que reciben señales de las neuronas excitatorias cercanas de CA3, la capa *Pyramidalis* (EP) es donde se encuentran los cuerpos celulares (somas) de las neuronas excitatorias y la capa *Radiatum* (ER) contiene las dendritas apicales, que reciben información tanto de las neuronas de CA3 más distantes como de conexiones tálamo-corticales (Khalaf-Nazzal & Francis, 2013; Spruston, 2008).

La FH desempeña un papel crucial en funciones cognitivas como la navegación espacial, la memoria espacial y la memoria episódica. Esto es gracias a la manera en que la información fluye a través de sus diferentes componentes: desde las capas superficiales de la corteza entorrinal (CE) hacia el giro dentado (GD), luego al hipocampo (HP), y finalmente, regresa a la capa V de la CE mediante dos vías:

la directa (CA1-CE) o la indirecta (Sub-CE) (Roy et al., 2017).

La conectividad dentro del circuito es esencial, ya que permite almacenar y recuperar los recuerdos. Sin embargo, cuando hay alteraciones en estas estructuras o en su comunicación, pueden surgir problemas asociados a enfermedades neurodegenerativas (Ahmed et al., 2018; Lee & Kim, 2022).

En la EA, la FH es una de las primeras regiones afectadas. La muerte neuronal en esta área, particularmente de las neuronas piramidales, provoca cambios en la conducta y deterioro cognitivo. Uno de los signos iniciales es el daño causado por los depósitos de A β , que preceden a la formación de ovillos neurofibrilares (MNFs) (Braak & Braak, 1991).

Un estudio de tomografía por emisión de positrones (PET) utilizando el radiotrazador ^{18}F -AV-1451, que evalúa la fosforilación de tau, encontró que los pacientes con Alzheimer muestran mayor acumulación de tau en regiones corticales. Además, esta acumulación aumenta a medida que empeora la función cognitiva global. De manera específica, las funciones de memoria visual y verbal están asociadas con la cantidad de tau en las regiones temporales mediales (Cho et al., 2016).

Modelo 3xTg-AD

Existen numerosos modelos transgénicos utilizados para estudiar la EA, siendo los ratones una herramienta clave en la investigación de su fisiopatología. Esto se debe a que los ratones comparten un alto grado de similitud genética con los humanos, especialmente en lo que respecta a la estructura y función del hipocampo y la CE. Estas áreas son esenciales para la memoria espacial y episódica, que suelen verse afectadas durante la progresión de la EA. Sin embargo, hasta el momento, no se ha desarrollado un modelo que reproduzca por completo todos los aspectos de esta enfermedad. Además, es importante tener en cuenta las limitaciones de extrapolar datos de modelos animales a humanos, ya que estos modelos reflejan con mayor precisión la EA de tipo genético o de dominancia autosómica (Hall & Roberson, 2012).

A pesar de estas limitaciones, los modelos transgénicos han sido fundamentales para explorar el desarrollo de estrategias terapéuticas y comprender mejor tanto el curso de la enfermedad como su fisiopatología (Elder et al., 2010). Los ratones

transgénicos, que expresan altos niveles de la proteína APP humana, muestran varios síntomas y procesos característicos de las etapas iniciales de la EA. Modelos como Tg2576, APP23, APP/PS1 y 5xFAD han sido ampliamente utilizados en la investigación, aunque el modelo 3xTg-AD destaca como uno de los que presentan mayor validez de construcción (Bilkei-Gorzo, 2014).

El modelo 3xTg-AD, desarrollado por Oddo y colaboradores en 2003, se creó mediante la microinyección de transgenes humanos APP695-Swe y tau-P301L en embriones modificados con el gen PS1-M146V. Este modelo reproduce de manera progresiva la formación de placas extracelulares amiloides y taupatías, siguiendo un patrón específico en cuanto al tiempo y la región afectada, lo que lo hace muy similar a la EA humana (Oddo, Caccamo, Shepherd, et al., 2003).

En el ratón transgénico 3xTg-AD, las lesiones neuropatológicas comienzan con depósitos de β A en la corteza, que luego se extienden al subículo y posteriormente al hipocampo. Los agregados intracelulares pueden detectarse desde los 3 meses en la neocorteza, mientras que los agregados extracelulares se hacen evidentes a los 12 meses en la corteza y el hipocampo. En cuanto a la proteína tau, sus alteraciones empiezan a desarrollarse en el primer mes en la formación hipocampal, particularmente en células piramidales e interneuronas. Tanto la acumulación de β A como las taupatías evolucionan de manera progresiva, dependiendo de la edad y la región afectada. Además, este modelo presenta alteraciones en la función eléctrica de las neuronas desde el primer mes y problemas de memoria a los 10 meses, como se observa en pruebas conductuales como el laberinto acuático de Morris, que evalúa funciones dependientes del hipocampo. También se ha registrado una pérdida de espinas dendríticas a los 4 meses en la corteza y a los 13 meses en neuronas cercanas a las placas β A (Mondragón-Rodríguez et al., 2018; Morin et al., 2016; Xu et al., 2022) (Fig. 5 A-B).

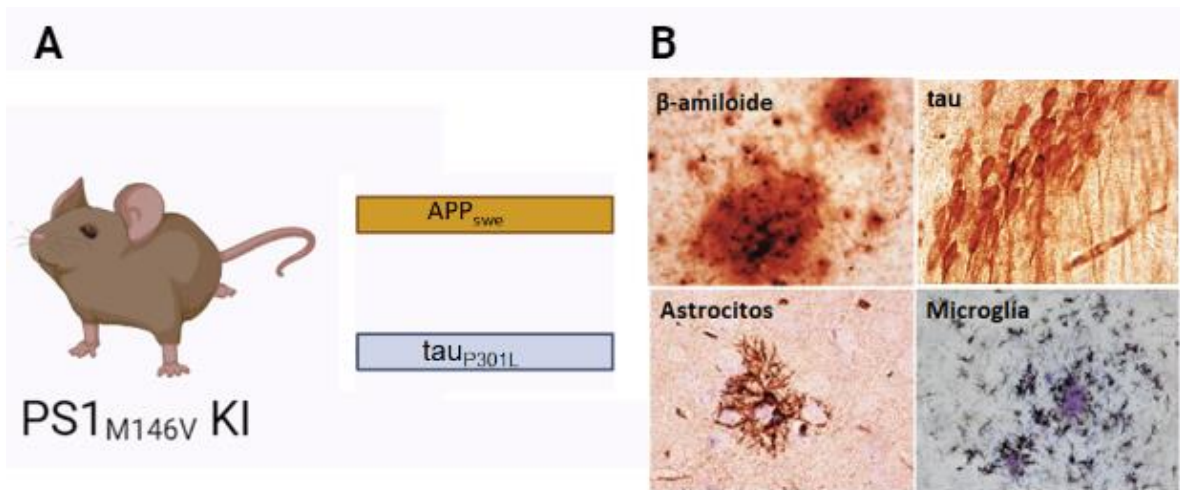


Figura 5. Modelo murino para la enfermedad de Alzheimer 3xTg-AD. Modelo murino con fondo genético para Presenilina 1 (PS1, gen que expresa γ -secretasa) y dos transgenes microinyectados (APP, recuadro amarillo y tau, recuadro azul) (A). Características histomorfológicas como agregados del péptido β A eb forma de placas (anti- β A-42), MNF (anti-AT180) e inflamación marcada por astrogliosis (anti-GFAP) y microglía (anti-Iba1) (B). Modificado de Oddo et al. 2003.

JUSTIFICACIÓN

La EA es una patología que hasta el momento no cuenta con estrategias farmacológicas que sean capaces de frenar el proceso de neurodegeneración. Por otro lado, las marcas histopatológicas como lesiones constituidas por β A, presentes en hipocampo están fuertemente asociadas a las alteraciones cognitivas debido a la hiperexcitación neuronal y a la pérdida de las espinas dendríticas. De manera importante, datos de nuestro laboratorio y otros, sugieren que la proteína pTau modula la estabilidad de los rNMDA en la sinapsis excitatoria evitando la excitotoxicidad, a través de la pérdida de espinas. Además, se ha reportado de la pérdida de comunidades de espinas y la organización de las espinas a lo largo de las dendritas de neuronas piramidales pTau+. Sin embargo, no existe evidencia de que este fenómeno exista durante etapas tempranas (preclínicas) del proceso de neurodegeneración. Considerando lo anterior, se propone caracterizar las espinas dendríticas, evaluar el número de comunidades y la distribución en neuronas en del área de CA1 hipocampal en ratones 3xTg-AD de dos meses de edad.

HIPÓTESIS

Existirá una reducción de espinas dendríticas, en las comunidades y su distribución en las neuronas del área CA1 hipocampal en los ratones 3xTg-AD de dos meses de edad.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar si existen cambios en el número y el tipo de espinas dendríticas, así como en el número y el grado de agrupación de sus comunidades, en el área CA1 del hipocampo de ratones transgénicos 3xTg-AD de dos meses de edad.

Objetivos Particulares

1. Cuantificar el número total y tipo de espinas dendríticas de neuronas piramidales en el área de CA1 hipocampal de ratones triple transgénicos de dos meses de edad.
2. Cuantificar el número de comunidades de espinas dendríticas en el área de CA1 hipocampal de ratones triple transgénicos de dos meses de edad.
3. Determinar el grado de agrupación de las comunidades de espinas dendríticas en el área de CA1 hipocampal de ratones triple transgénicos de dos meses de edad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Los experimentos se realizaron en ratones con una edad de 2 meses. Todos los procedimientos fueron realizados de acuerdo con el comité de bioética del Instituto de Neurobiología de la UNAM bajo el protocolo No. 050, para el uso de animales en la investigación científica. En la Unidad de proteogenómica del Instituto de Neurobiología de la UNAM y de acuerdo con el protocolo de genotipificación de los Laboratorios Jackson, se confirmó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) el genotipo de cada uno de los animales empleados. Se utilizaron ratones macho del modelo transgénico 3xTg-AD que expresan las mutaciones en el gen APP para el péptido β A, en MAPT P301L para la proteína Tau y en PSEN1 M146V para las enzimas secretasa γ , así como ratones que no expresan la mutación (No-Tg). El uso de animales se realizó de acuerdo con la norma NOM-062-ZOO-1999 (especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio). Los sujetos se mantuvieron bajo condiciones de bioterio, una dieta para ratón (Purina Chow fórmula 5001), agua *ad libitum*, a una temperatura entre 20 – 25°C, humedad de 40 – 70% y ciclo de luz/oscuridad de 12 h.

Tinción Golgi-Cox

En el caso de la técnica de Golgi-Cox rápido, los animales fueron llevados a punto final humanitario tras una inyección letal (0.22ml/kg) intraperitoneal de pentobarbital sódico. Después fueron perfundidos intracardiamente utilizando una solución buffer fosfato salino (PBS con un pH de 7.4) y paraformaldehído (PFA al 4%) para fijar. Se extrajo el cerebro y se posfijo durante 1 hr. en PFA 4%. Transcurrido el tiempo se colocaron los tejidos en las soluciones para la tinción de Golgi-Cox.

La tinción de Golgi-Cox rápido se realizó utilizando el kit FD Rapid GolgiStain™ (FD NEUROTECHNOLOGIES, INC.), el cual incluye 5 soluciones (A, B, C, D y E). Los cerebros fueron colocados en una combinación de solución A y B (1:1) durante 24 hrs. Después de las 24hrs. se les cambio a una solución nueva de A+B (1:1) por 48 hrs. Posterior a las 48hrs. se colocaron en solución C durante 11 días. Pasados los 11 días, los cerebros fueron puestos en una solución de PBS+sacarosa al 30% a

temperatura ambiente durante 1hr. y después se les cambio a una solución nueva de sacaros al 30% y se les dejo durante 2-3 días a temperatura ambiente.

Los cerebros fueron cortados coronalmente en secciones de 90-100 μm en un vibratomo, y fueron recogidos y almacenados en solución PBS. Posteriormente los tejidos fueron revelados usando una combinación de solución D+E+H₂O_d (1:1:1) del kit durante 10 min.

Análisis cuantitativo de las espinas dendríticas

Se aplicaron dos enfoques para evaluar el número y la densidad de espinas dendríticas en secciones teñidas con Golgi. Las áreas del Estrato Oriens (E.O) del CA1 hipocampal se definió usando un objetivo de 10x y las espinas se contaron utilizando un objetivo 100x/1.4. La densidad de las espinas (número de espinas por 20 μm de longitud de dendrita) se calculó en células piramidales del CA1 (3-4 células por cerebro). Las células bien impregnadas se capturaron con un equipo Nikon eclipse Ci equipado con una cámara Nikon digital sight (DS-Vi1). Las imágenes de gran aumento (lente de aceite de 100 \times /1,4) permitió visualizar todas las espinas de un segmento dendrítico determinado. Los datos se agruparán por animal. Las espinas se clasificarán por tamaño y forma (hongo, delgadas, rechonchas y filopodio).

Comunidades de espinas dendríticas

Para el análisis de las comunidades de espinas dendríticas se modelo cada dendrita representada por un conjunto de nodos y bordes, donde los nodos representan los elementos del gráfico (espinas dendríticas) y los bordes indican la fuerza de asociación entre los elementos, se tomaron en cuenta dos parámetros importantes característica de extensión comunitaria y coeficiente de agrupación.

Característica de extensión comunitaria (CEC)

Estudia como los nodos (espinas) se agrupan en comunidades, los cuales están altamente conectados dentro de la red (dendrita), usando principalmente una métrica de modularidad que es una medida que compara la densidad de conexiones dentro de una comunidad con la de un grafo aleatorio.

Coficiente de agrupación

Es una métrica que mide la probabilidad de que vecinos de un nodo estén

fuertemente conectados entre sí.

Este coeficiente, varía de 0 y 1, donde 1 representan nodos que forman parte de una comunidad cerrada, mientras que 0 representa un nodo o comunidad más dispersa. Para este análisis se usó lenguaje de programación (Python), en el cual se hizo una matriz de adyacencia que es una representación matemática de un grafo. En este caso se usó para representar matemáticamente una espina usando la paquetería de networkx que extrae la matriz de adyacencia. Para el análisis de la CEC se usó la paquetería community-louvain y para la medición del coeficiente de agrupación se usó la paquetería de networkx.

Análisis estadístico

Se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar si los datos son normales. Posteriormente se aplicó la prueba paramétrica t-student, para realizar comparaciones entre los dos grupos (número total de espinas y con el tipo de espinas en las diferentes áreas) y para las diferencias entre las comunidades de las espinas dendríticas tomando un valor de $p < 0.05$.

Resultados

Las espinas rechonchas se encontraron alteradas en el modelo 3xTg-AD joven

Para determinar si había diferencias entre el número de espinas totales y el tipo de espinas basales en el ratón NoTg (Fig. 6A) vs 3xTg-AD (Fig. 6B) en edades tempranas (8 semanas de edad), se utilizó la técnica de Golgi cox (Du, 2019).

Los resultados no evidenciaron alteraciones significativas con respecto al número total y el tipo de espinas dendríticas evaluadas en la región CA1 del hipocampo (Fig. 6C y 6D). Cuando se evaluaron los distintos tipos de espinas, hongo, delgadas y filopodio no mostraron diferencias significativas cuando se compararon directamente estructuras homologas entre animales NoTg y 3xTg-AD (NoTg= 56.33 ± 2.9 , 3xTg-AD= 50 ± 4.93 $p=0.165$), espinas hongo (NoTg = 30 ± 0.57 , 3xTg-AD= 24.67 ± 2.9 $p=0.07$), espinas delgadas (NoTg= 19.33 ± 2.18 , 3xTg-AD= 20.67 ± 7.21 $p= 0.5$) (Fig. 6C), espinas filopodio (NoTg= 2.33 ± 0.33 , 3xTg-AD= 1.67 ± 0.33 Fig. 6D). De manera importante, en el caso de las espinas rechonchas hubo diferencias significativas encontrándose una disminución en los ratones 3xTg-AD cuando se comparó directamente con el grupo control (NoTg= 4.67 ± 0.33 , 3xTg-AD= 3 ± 0.57 $p=0.033$ Fig. 6D). En resumen, se demuestra que hay alteraciones neuroanatómicas a nivel de espinas tipo rechonchas en ratones 3xTg-AD de 2 meses de edad.

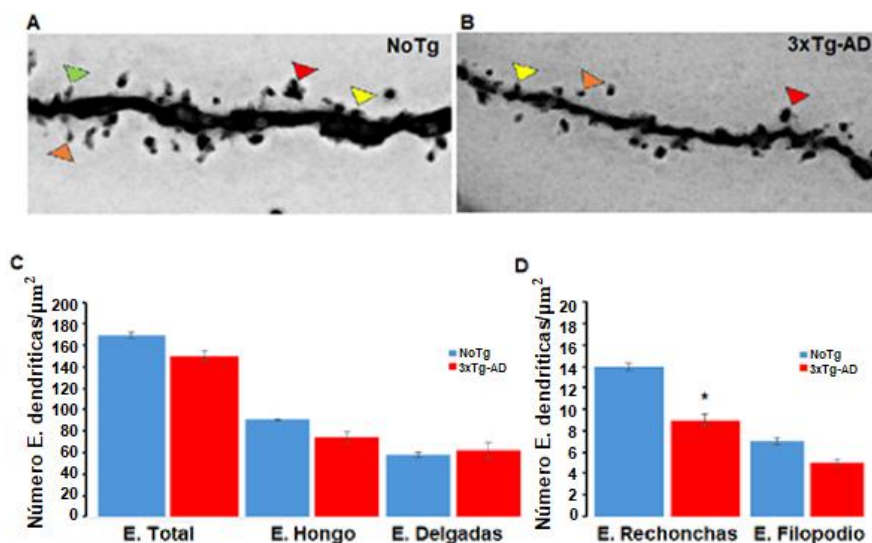


Figura 6. Comparación de espinas dendríticas. Imágenes representativas donde se muestran las diferentes formas de espinas dendríticas (A-B). Los triángulos rojos (E. Hongo), triángulos naranjas (E. Delgadas), triángulos amarillos (E. Rechonchas) y triángulo verde (E. Filopodio). Comparación entre el total de espinas y el tipo de espinas entre el modelo NoTg vs 3xTg-AD (C-D). Los datos muestran la media \pm desviación estándar. N=3 ratones por grupo y 5 neuronas por ratón. * $P<0.05$; t-student.

El número y estructura de comunidades dendríticas no se encontró alterado en los ratones 3xTg-AD jóvenes

Para evaluar el número de comunidades formadas por las espinas dendríticas, se tomaron dendritas basales (Fig. 7A, NoTg, n = 4; 3xTg-AD, n = 6). Para calcular la fuerza de conexión, cada espina represento un nodo y su borde la fuerza de conexión entre las espinas (Fig. 7B). Las comunidades fueron estimadas con base a la conexión entre las espinas, que es proporcional a su cercanía y se calculó usando la distancia inversa entre las espinas a lo largo de la dendrita como se muestra en la figura 7B. Los grafos se representaron en una matriz de adyacencia (Fig. 7C), y por último cada elemento en la matriz, se representó como la fuerza de conexión entre cada elemento (nodos en la fila y columna) de los ratones NoTg y los 3xTg-AD (Fig. 7E), todo esto se realizó con el fin de analizar las comunidades de espinas dendríticas a través de la CEC. De manera importante, cuando se evaluó la CEC no se detectaron alteraciones en los ratones 3xTg-AD jóvenes.

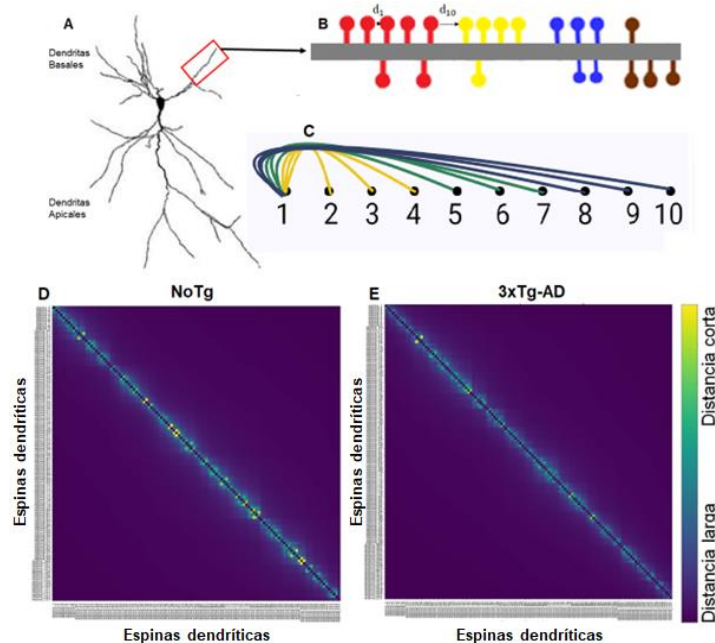
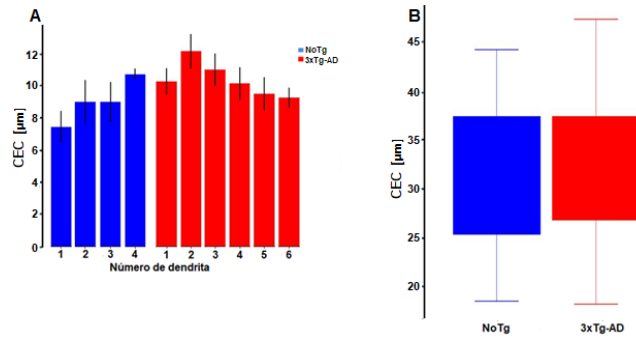


Figura 7. Representación del análisis de las comunidades de espinas dendríticas en el modelo NoTg y 3xTg-AD. Imagen representativa de una neurona piramidal y sus diferentes dendritas (A), recuadro rojo representa una sección de la dendrita basal tomada para el estudio. Imagen representativa de una dendrita basal, las espinas o nodos representados en colores (rojo, amarillo, azul y café), las flechas representan el cálculo de la fuerza de conexión entre pares de espinas, que es proporcional a su cercanía física (ejemplo, d_1 es la distancia entre la espina o nodo 2 y 3 y d_{10} entre espina o nodo 7 y 8 y la fuerza respectiva es de $1/d_1$ o $1/d_{10}$) (B). el grafico resultante se representa como una matriz de adyacencia para los ratones NoTg y 3xTg-AD (C-E).

La conectividad de comunidades dendríticas no se encontró alterada en los ratones 3xTg-AD jóvenes

Posteriormente, evaluamos si el modelo 3xTg-AD presenta un número menor de comunidades estrechamente conectadas entre sí, debido a que entre más agrupadas estén (cercano a 1), hay una menor probabilidad de activar o comunicarse con sus comunidades vecinas, mientras que menos agrupada (cercano al 0), significa una distribución más uniforme y con la capacidad de tener una actividad con sus comunidades vecinas. Para esto se midió el coeficiente de agrupación. En la Fig. 8A, mostramos el promedio de las estructuras comunitarias por dendrita de ambos grupos (NoTg- Azul y 3xTg-AD- Rojo). En la Fig. 8B se muestra el promedio del grupo para cada condición (NoTg= 8.5 ± 0.82 , 3xTg-AD= 8.33 ± 0.19 $p= 0.8$), lo que sugiere que las comunidades no son pequeñas ni compactas en el modelo 3xTg-AD.

Figura 8. Característica de extensión comunitaria. Las medias de las comunidades por dendritas (A). Diagrama de caja con los promedios de grupo para CEC (B). Los bordes inferior y superior de los diagramas de caja indican los percentiles 25 y 75 de los datos, respectivamente. Los bigotes se extienden hasta los puntos de datos más grandes y pequeños. Los datos muestran la media \pm error estándar. N=6 dendritas por grupo.



No se encontraron cambios en el coeficiente de agrupación

Por último, analizamos la distribución del coeficiente de agrupación (Fig. 9A). Los datos obtenidos de este estudio muestran el promedio del coeficiente de agrupación por dendrita en ambos grupos (NoTg-Azul y 3xTg-AD-Rojo). En la Fig. 9B se muestra el promedio del grupo para cada condición (NoTg= 0.04 ± 0.0012 , 3xTg-AD= 0.04 ± 0.0012 ; $p = 0.8$). En resumen, estos datos sugieren que en ambas condiciones la organización de las espinas se encuentra en una distribución uniforme a lo largo de la dendrita.

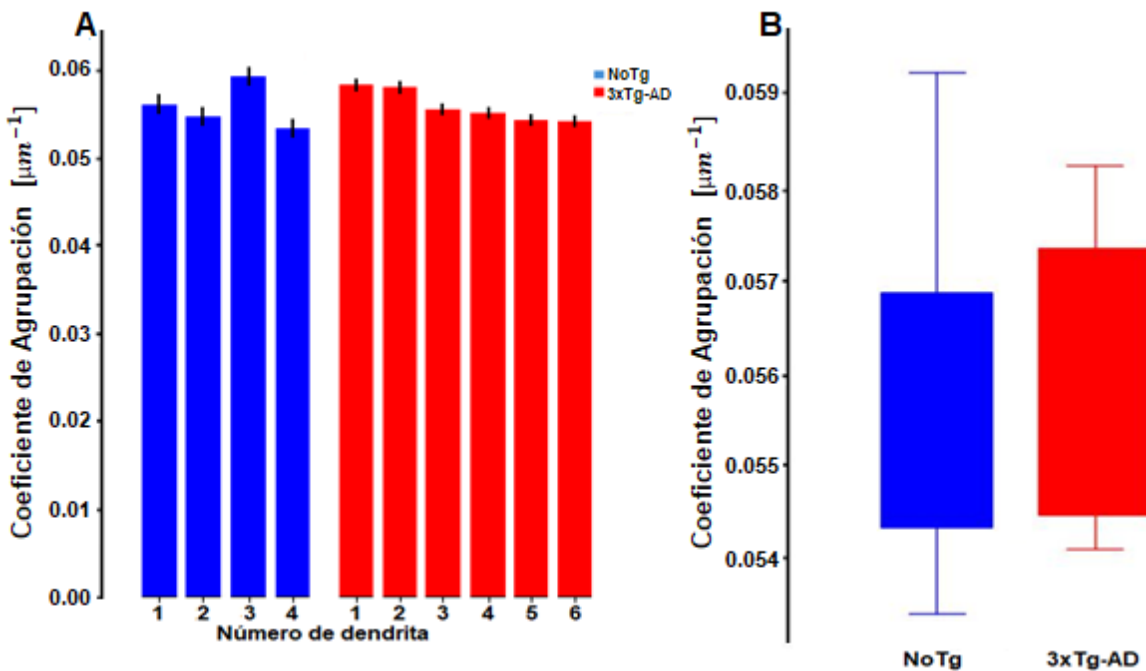


Figura 9. Coeficiente de Agrupación. Las medias del coeficiente de agrupación por dendrita (A). Diagrama de caja con los promedios de grupo para el coeficiente de agrupación (B). Los bordes inferior y superior de los diagramas de caja indican los percentiles 25 y 75 de los datos, respectivamente. Los bigotes se extienden hasta los puntos de datos más grandes y pequeños. Los datos muestran la media \pm error estándar. N=6 dendritas por grupo.

Discusión

Los mecanismos que dan origen al desarrollo de la EA aún son desconocidos. Sin embargo, se ha propuesto que estos mecanismos implicados en la patología comienzan en etapas tempranas de la enfermedad (Holtzman et al., 2011). En el presente estudio se analizaron los cambios estructurales de las espinas dendríticas en el modelo 3xTg-AD de dos meses de edad. El análisis se enfocó en cuatro parámetros: a) número de espinas, b) tipo de espinas, c) número de comunidades y d) la distribución de estas comunidades a lo largo de la dendrita basal en segmentos terminales de neuronas piramidales del área CA1 hipocampal (Fig. 6 - 9). Las espinas basales representan un 35 % de la longitud total dendrítica de neuronas de CA1, estas dendritas reciben información proveniente de las neuronas de CA3 y CA2 (Piskorowski & Chevaleyre, 2012). De manera importante se ha evidenciado que en el modelo 3xTg-AD la agregación β A es progresiva, comenzando en el subículo y extendiéndose hacia el área de CA1 del hipocampo (Oddo, Caccamo, Kitazawa, et al., 2003). Adicionalmente, en nuestro grupo de trabajo reportamos que el modelo 3xTg-AD de dos meses de edad se caracteriza por un incremento de agregados de proteína tau anormalmente fosforilada (pTau+) en neuronas hipocampales. Los incrementos en pTau+ correlacionaron con alteraciones en los patrones de actividad eléctrica oscilatoria (Mondragón-Rodríguez et al., 2018). Estas alteraciones están correlacionadas con pérdida de respuestas cognitivas.

Las espinas dendríticas son las estructuras que soportan la actividad eléctrica a través de los canales iónicos acoplados en la superficie de estas (Chidambaram et al., 2019). Los receptores a glutamato participan en memoria, aprendizaje y diversas respuestas de tipo cognitivo (Babaei, 2021). Uno de los más importantes es el receptor de N-metil-D-aspartato (nNMDA). Nuestro grupo de trabajo reportó que la proteína tau regula la estabilización de estos receptores, ya que la proteína tau forma un complejo proteico (tau-PSD95-Fyn) dentro de la densidad posináptica que va a fosforilar las subunidades de los nNMDA lo cual permite su estabilización (Mondragón-Rodríguez et al., 2013; Mondragón-Rodríguez, Perry, et al., 2012; Mondragón-Rodríguez, Trillaud-Doppia, et al., 2012). La activación como la

inhibición de los rNMDA está implicada en la remodelación de las espinas dendríticas a través de dos tipos de plasticidad sináptica LTP y LTD que controlan la fuerza de conexión sináptica (France et al., 2022). Gracias a este fenómeno son considerados como correlatos neurales en la codificación de memoria (France et al., 2022).

En la EA se ha reportado que existe una reducción del número de sinapsis (Scheff et al., 2007). En el mismo sentido, se ha reportado una reducción de espinas dendríticas totales en el modelo 3xTg-AD a la edad de 7 meses de edad (Xu et al., 2022). En nuestro estudio, encontramos una reducción significativa en el número de espinas rechonchas y una tendencia en la reducción de las espinas tipo hongo (**Fig. 6**). Estos hallazgos contribuyen a explicar las alteraciones de actividad oscilatoria (Theta) en edades tempranas (Mondragón-Rodríguez et al., 2018). Además, se ha reportado que las espinas rechonchas son parte de las espinas tipo hongo, las cuales están relacionadas con los procesos del almacenamiento de la memoria, así también, se ha comprobado que ambas estructuras comparten similitudes a nivel de proteínas relacionadas con la plasticidad y la conectividad neuronal (Helm et al., 2021; Pchitskaya & Bezprozvanny, 2020; Runge et al., 2020).

A nivel molecular, estas alteraciones podrían asociarse a la fosforilación y la agregación de la proteína tau en etapas tempranas. Específicamente, los incrementos de pTau en células de estructuras hipocampales (Mondragón-Rodríguez et al., 2018). Hoy sabemos que incrementos en los niveles de pTau causan un desacople del complejo proteico (tau-Fyn-PSD95) implicado en la estabilización de los receptores NMDA (A. Ittner & Ittner, 2018; Mondragón-Rodríguez, Trillaud-Doppia, et al., 2012).

Este estudio es el primero en evaluar las comunidades de espinas dendríticas en modelos animales, principalmente en el modelo 3xTg-AD y NoTg a la edad de dos meses, utilizando algoritmos de programación para evaluar el número de comunidades y su estrechamiento (Mijalkov et al., 2021).

La hipótesis de la plasticidad agrupada menciona, que las espinas dendríticas forman parte de un grupo o comunidad y no actúan de forma individual, el agrupamiento en comunidades de espinas va a favorecer una sinapsis más fuerte

y estable, capaz de ejercer que sus comunidades vecinas puedan activarse ante los estímulos (Kastellakis et al., 2015; Kastellakis & Poirazi, 2019). Se ha reportado una pérdida tanto del número de comunidades como de la distribución de las espinas a lo largo de la dendrita en células pTau+ (Mijalkov et al., 2021). Este hallazgo es importante ya que está elucidando un posible mecanismo que podría estar participando en el inicio de la EA relacionado con la hiperfosforilación de la proteína tau.

Los patrones de activación en conjunto o grupo de espinas están determinados por sitios a lo largo de la dendrita, se sabe que los compartimentos distales de la dendrita son las zonas principales en donde se da esta cooperatividad en las espinas promoviendo la formación de conjuntos o comunidades de espinas funcionales (Weber et al., 2016).

Con respecto a esto, nosotros no encontramos cambios significativos en el número de comunidades de espinas entre los grupos NoTg vs 3xTg-AD (**Fig. 8**), esto sugiere que a esta edad los ratones 3xTg-AD mantienen comunidades estables de espinas a pesar de la disminución de espinas rechonchas. De igual manera, no encontramos cambios significativos en la distribución o estrechamiento de las comunidades de espinas (**Fig. 9**), lo que sugiere que las comunidades de espinas del ratón 3xTg-AD aún tienen la capacidad de activar o interactuar con sus comunidades de espinas vecinas, a pesar de alteraciones de la actividad oscilatoria. En conjunto esto concuerda con lo reportado por Ramona Belfiore y colaboradores en el 2019, donde muestran que estos ratones no presentan alteraciones conductuales a los dos meses (Belfiore et al., 2019).

Es importante mencionar que se ha estudiado la pérdida de espinas dendríticas en diversos modelos que imitan la EA (Spires-Jones & Knafo, 2012). Sin embargo, el modelo 3xTg-AD es uno de los más importantes ya que imita la enfermedad de forma espacial y temporal a los cambios en las proteínas asociadas (A β -tau), alteraciones electrofisiológicas y cambios conductuales. También, se ha demostrado que presenta disminución de espinas en etapas tardías que van desde los 7 meses y que estos cambios correlacionan muy bien con cambios conductuales aunados a reducciones de proteínas asociadas a la sinapsis (PSD95, GluR1 y

sinaptofisina) (Xu et al., 2022).

En resumen, el presente trabajo evidencio que este modelo presenta una reducción significativamente de las espinas rechonchas en etapas tempranas que correlaciona con incrementos en los niveles de ptau y alteraciones de los ritmos oscilatorios, relacionados con procesos de aprendizaje y memoria. Todo esto sugiere que en las etapas prodrómicas de la enfermedad de Alzheimer hay una alteración temprana tanto estructural cómo funcional que podría preceder a la pérdida de espinas más finas y a la degeneración neuronal característica de los estadios más avanzados.

Conclusión

En conclusión, se encontró una disminución significativa en las espinas rechonchas y una tendencia a la disminución de las espinas tipo hongo y en el total de las espinas en los ratones 3xTg-AD a la edad de dos meses de edad. No encontramos cambios en el número de comunidades de espinas dendríticas ni en su distribución. Sin embargo, el tamaño de muestra fue relativamente pequeño, lo que pudo haber limitado las diferencias significativas en el total de espinas y en las espinas tipo hongo ya que podemos observar una tendencia de una reducción de espinas en el modelo 3xTg-AD. Por otro lado, la técnica utilizada, Golgi Cox, para el estudio de las comunidades y su agrupamiento limitó de manera importante la obtención de resultados más claros, ya que en el trabajo del cual se extrajo la idea de evaluar las espinas de esta manera, se realiza mediante la técnica electroporación de fluorescencia.

Bibliografía

- Abeyasinghe, A., Deshapriya, R., & Udawatte, C. (2020). Alzheimer's disease; a review of the pathophysiological basis and therapeutic interventions. *Life Sciences*, *256*, 117996.
- Agudelo-Botero, M., Giraldo-Rodríguez, L., & Rojas-Russell, M. E. (2023). Systematic and comparative analysis of the burden of Alzheimer's disease and other dementias in Mexico. Results at the national and subnational levels, 1990--2019. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, *10*(1), 120–129.
- Ahmed, R. M., Ke, Y. D., Vucic, S., Ittner, L. M., Seeley, W., Hodges, J. R., Piguet, O., Halliday, G., & Kiernan, M. C. (2018). Physiological changes in neurodegeneration—mechanistic insights and clinical utility. *Nature Reviews Neurology*, *14*(5), 259–271.
- Andersen, J. V., Markussen, K. H., Jakobsen, E., Schousboe, A., Waagepetersen, H. S., Rosenberg, P. A., & Aldana, B. I. (2021). Glutamate metabolism and recycling at the excitatory synapse in health and neurodegeneration. *Neuropharmacology*, *196*, 108719.
- Arendt, T., Stieler, J. T., & Holzer, M. (2016). Tau and tauopathies. *Brain Research Bulletin*, *126*, 238–292.
- Babaei, P. (2021). NMDA and AMPA receptors dysregulation in Alzheimer's disease. *European Journal of Pharmacology*, *908*, 174310.
- Barbier, P., Zejneli, O., Martinho, M., Lasorsa, A., Belle, V., Smet-Nocca, C., Tsvetkov, P. O., Devred, F., & Landrieu, I. (2019). Role of tau as a microtubule-associated protein: structural and functional aspects. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *11*, 204.
- 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.
- Bellenguez, C., Grenier-Boley, B., & Lambert, J.-C. (2020). Genetics of Alzheimer's disease: where we are, and where we are going. *Current Opinion in Neurobiology*, *61*, 40–48.
- Bilkei-Gorzo, A. (2014). Genetic mouse models of brain ageing and Alzheimer's disease. *Pharmacology & Therapeutics*, *142*(2), 244–257.
- Bliss, Tim V P, & Collingridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, *361*(6407), 31–39.
- Bliss, Timothy V P, & Cooke, S. F. (2011). Long-term potentiation and long-term depression: a clinical perspective. *Clinics*, *66*, 3–17.
- Bosch, M., & Hayashi, Y. (2012). Structural plasticity of dendritic spines. *Current Opinion in Neurobiology*, *22*(3), 383–388.
- Braak, H., & Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathologica*, *82*(4), 239–259.
- Brejijeh, Z., & Karaman, R. (2020). Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment. *Molecules*, *25*(24), 5789.
- Brothers, H. M., Gosztyla, M. L., & Robinson, S. R. (2018). The physiological roles of amyloid- β peptide hint at new ways to treat Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *10*, 118.
- Busche, M. A., Wegmann, S., Dujardin, S., Commins, C., Schiantarelli, J., Klickstein, N., Kamath, T. V., Carlson, G. A., Nelken, I., & Hyman, B. T. (2019). Tau impairs neural circuits, dominating amyloid- β effects, in Alzheimer models in vivo. *Nature Neuroscience*, *22*(1), 57–64.
- Carosi, J. M., Denton, D., Kumar, S., & Sargeant, T. J. (2021). Retromer dysfunction at the nexus of tauopathies. *Cell Death & Differentiation*, *28*(3), 884–899.
- Castellani, R. J., & Perry, G. (2019). Tau biology, tauopathy, traumatic brain injury, and diagnostic challenges. *Journal of Alzheimer's Disease*, *67*(2), 447–467.

- Chidambaram, S. B., Rathipriya, A. G., Bolla, S. R., Bhat, A., Ray, B., Mahalakshmi, A. M., Manivasagam, T., Thenmozhi, A. J., Essa, M. M., Guillemin, G. J., & others. (2019). Dendritic spines: revisiting the physiological role. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *92*, 161–193.
- Cho, H., Choi, J. Y., Hwang, M. S., Lee, J. H., Kim, Y. J., Lee, H. M., Lyoo, C. H., Ryu, Y. H., & Lee, M. S. (2016). Tau PET in Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology*, *87*(4), 375–383.
- Chouraki, V., & Seshadri, S. (2014). Genetics of Alzheimer's disease. *Advances in Genetics*, *87*, 245–294.
- Du, F. (2019). Golgi-Cox staining of neuronal dendrites and dendritic spines with FD rapid GolgiStain™ kit. *Current Protocols in Neuroscience*, *88*(1), e69.
- Elder, G. A., Gama Sosa, M. A., & De Gasperi, R. (2010). Transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine*, *77*(1), 69–81.
- Eratne, D., Loi, S. M., Farrand, S., Kelso, W., Velakoulis, D., & Looi, J. C. L. (2018). Alzheimer's disease: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis. *Australasian Psychiatry*, *26*(4), 347–357.
- Findeis, M. A. (2007). The role of amyloid β peptide 42 in Alzheimer's disease. *Pharmacology & Therapeutics*, *116*(2), 266–286.
- France, G., Volianskis, R., Ingram, R., Bannister, N., Rothärmel, R., Irvine, M. W., Fang, G., Burnell, E. S., Sapkota, K., Costa, B. M., & others. (2022). Differential regulation of STP, LTP and LTD by structurally diverse NMDA receptor subunit-specific positive allosteric modulators. *Neuropharmacology*, *202*, 108840.
- Gipson, C. D., & Olive, M. F. (2017). Structural and functional plasticity of dendritic spines—root or result of behavior? *Genes, Brain and Behavior*, *16*(1), 101–117.
- Gorska-Ponikowska, M., & others. (2018). The Role of Mitochondria in Neurodegeneration Development. *EC Neurology*, *10*, 875–879.
- Guivernau, B., Bonet, J., Valls-Comamala, V., Bosch-Morató, M., Godoy, J. A., Inestrosa, N. C., Perálvarez-Marín, A., Fernández-Busquets, X., Andreu, D., Oliva, B., & others. (2016). Amyloid- β peptide nitrotyrosination stabilizes oligomers and enhances NMDAR-mediated toxicity. *Journal of Neuroscience*, *36*(46), 11693–11703.
- Gulisano, W., Melone, M., Puma, D. D. L., Tropea, M. R., Palmeri, A., Arancio, O., Grassi, C., Conti, F., & Puzzo, D. (2018). The effect of amyloid- β peptide on synaptic plasticity and memory is influenced by different isoforms, concentrations, and aggregation status. *Neurobiology of Aging*, *71*, 51–60.
- Hall, A. M., & Roberson, E. D. (2012). Mouse models of Alzheimer's disease. *Brain Research Bulletin*, *88*(1), 3–12.
- Hardy, J. A., & Higgins, G. A. (1992). Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, *256*(5054), 184.
- Health, T. L. P. (2021). Reinvigorating the public health response to dementia. *The Lancet. Public Health*, *6*(10), e696.
- Helm, M. S., Dankovich, T. M., Mandad, S., Rammner, B., Jähne, S., Salimi, V., Koerbs, C., Leibbrandt, R., Urlaub, H., Schikorski, T., & others. (2021). A large-scale nanoscopy and biochemistry analysis of postsynaptic dendritic spines. *Nature Neuroscience*, *24*(8), 1151–1162.
- Herrup, K. (2015). The case for rejecting the amyloid cascade hypothesis. *Nature Neuroscience*, *18*(6), 794–799.
- Holtzman, D. M., Morris, J. C., & Goate, A. M. (2011). Alzheimer's disease: the challenge of the second century. *Science Translational Medicine*, *3*(77), 77sr1--77sr1.
- Hu, Z., Ondrejcek, T., Yu, P., Zhang, Y., Yang, Y., Klyubin, I., Kennelly, S. P., Rowan, M.

- J., & Hu, N.-W. (2023). Do tau-synaptic long-term depression interactions in the hippocampus play a pivotal role in the progression of Alzheimer's disease? *Neural Regeneration Research*, 18(6), 1213–1219.
- Ittner, A., & Ittner, L. M. (2018). Dendritic tau in Alzheimer's disease. *Neuron*, 99(1), 13–27.
- Ittner, L. M., Ke, Y. D., Delerue, F., Bi, M., Gladbach, A., van Eersel, J., Wölfing, H., Chieng, B. C., Christie, M. J., Napier, I. A., & others. (2010). Dendritic function of tau mediates amyloid- β toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell*, 142(3), 387–397.
- Karisetty, B. C., Bhatnagar, A., Armour, E. M., Beaver, M., Zhang, H., & Elefant, F. (2020). Amyloid- β peptide impact on synaptic function and neuroepigenetic gene control reveal new therapeutic strategies for Alzheimer's disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 13, 577622.
- Kastellakis, G., Cai, D. J., Mednick, S. C., Silva, A. J., & Poirazi, P. (2015). Synaptic clustering within dendrites: an emerging theory of memory formation. *Progress in Neurobiology*, 126, 19–35.
- Kastellakis, G., & Poirazi, P. (2019). Synaptic clustering and memory formation. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12, 300.
- Khalaf-Nazzal, R., & Francis, F. (2013). Hippocampal development--Old and new findings. *Neuroscience*, 248, 225–242.
- Korczyn, A. D. (2008). The amyloid cascade hypothesis. *Alzheimer's & Dementia*, 4(3), 176–178.
- Lee, J., & Kim, H.-J. (2022). Normal aging induces changes in the brain and neurodegeneration progress: review of the structural, biochemical, metabolic, cellular, and molecular changes. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14, 931536.
- Leyva, L. C., Vara, J. F., Sandoval, D. C., Santos, D. L. P., & Jauregui, M. H. (2022). Creating a Spanish Speech Corpus to Develop Digital Dementia Biomarkers Using Machine Learning. *2022 IEEE Mexican International Conference on Computer Science (ENC)*, 1–5.
- Li, S., Hong, S., Shepardson, N. E., Walsh, D. M., Shankar, G. M., & Selkoe, D. (2009). Soluble oligomers of amyloid β protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake. *Neuron*, 62(6), 788–801.
- Liang, C.-S., Li, D.-J., Yang, F.-C., Tseng, P.-T., Carvalho, A. F., Stubbs, B., Thompson, T., Mueller, C., Shin, J. Il, Radua, J., & others. (2021). Mortality rates in Alzheimer's disease and non-Alzheimer's dementias: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Healthy Longevity*, 2(8), e479–e488.
- Ma, S., & Zuo, Y. (2022). Synaptic modifications in learning and memory--a dendritic spine story. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 125, 84–90.
- Mattap, S. M., Mohan, D., McGrattan, A. M., Allotey, P., Stephan, B. C. M., Reidpath, D. D., Siervo, M., Robinson, L., & Chaiyakunapruk, N. (2022). The economic burden of dementia in low-and middle-income countries (LMICs): a systematic review. *BMJ Global Health*, 7(4), e007409.
- Mijalkov, M., Volpe, G., Feraud-Espinosa, I., DeFelipe, J., Pereira, J. B., & Merino-Serrais, P. (2021). Dendritic spines are lost in clusters in Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, 11(1), 12350.
- Mondragón-Rodríguez, S., Cueva-Xolalpa, L., García-Carlos, C., Villaseñor-Zepeda, R., Orta-Salazar, E., Díaz-Cintra, S., Peña-Ortega, F., & Perry, G. (2021). Functional study in the young rTg4510 mouse model of tauopathy. *Alzheimer's & Dementia*, 17, e058539.
- Mondragón-Rodríguez, S., Perry, G., Zhu, X., Moreira, P. I., Acevedo-Aquino, M. C., & Williams, S. (2013). Phosphorylation of tau protein as the link between oxidative

- stress, mitochondrial dysfunction, and connectivity failure: implications for Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013(1), 940603.
- Mondragón-Rodríguez, S., Perry, G., Zhu, X., Moreira, P. I., & Williams, S. (2012). Glycogen Synthase Kinase 3: A Point of Integration in Alzheimer's Disease and a Therapeutic Target? *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2012(1), 276803.
- Mondragón-Rodríguez, S., Salas-Gallardo, A., González-Pereyra, P., Macías, M., Ordaz, B., Peña-Ortega, F., Aguilar-Vázquez, A., Orta-Salazar, E., Díaz-Cintra, S., Perry, G., & others. (2018). Phosphorylation of Tau protein correlates with changes in hippocampal theta oscillations and reduces hippocampal excitability in Alzheimer's model. *Journal of Biological Chemistry*, 293(22), 8462–8472.
- Mondragón-Rodríguez, S., Trillaud-Doppia, E., Dudilot, A., Bourgeois, C., Lauzon, M., Leclerc, N., & Boehm, J. (2012). Interaction of endogenous tau protein with synaptic proteins is regulated by N-methyl-D-aspartate receptor-dependent tau phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry*, 287(38), 32040–32053.
- Morin, J.-P., Cerón-Solano, G., Velázquez-Campos, G., Pacheco-López, G., Bermúdez-Rattoni, F., & Díaz-Cintra, S. (2016). Spatial memory impairment is associated with intraneural amyloid- β immunoreactivity and dysfunctional Arc expression in the hippocampal-CA3 region of a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 51(1), 69–79.
- Muralidar, S., Ambi, S. V., Sekaran, S., Thirumalai, D., & Palaniappan, B. (2020). Role of tau protein in Alzheimer's disease: The prime pathological player. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1599–1617.
- Naseri, N. N., Wang, H., Guo, J., Sharma, M., & Luo, W. (2019). The complexity of tau in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 705, 183–194.
- Nicolas, M., & Hassan, B. A. (2014). Amyloid precursor protein and neural development. *Development*, 141(13), 2543–2548.
- Oddo, S., Caccamo, A., Kitazawa, M., Tseng, B. P., & LaFerla, F. M. (2003). Amyloid deposition precedes tangle formation in a triple transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 24(8), 1063–1070. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2003.08.012>
- Oddo, S., Caccamo, A., Shepherd, J. D., Murphy, M. P., Golde, T. E., Kaye, R., Metherate, R., Mattson, M. P., Akbari, Y., & LaFerla, F. M. (2003). Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular A β and synaptic dysfunction. *Neuron*, 39(3), 409–421.
- Pchitskaya, E., & Bezprozvanny, I. (2020). Dendritic spines shape analysis—classification or clusterization? Perspective. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 12, 31.
- Pearson, H. A., & Peers, C. (2006). Physiological roles for amyloid β peptides. *The Journal of Physiology*, 575(1), 5–10.
- Piskorowski, R. A., & Chevaleyre, V. (2012). Synaptic integration by different dendritic compartments of hippocampal CA1 and CA2 pyramidal neurons. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 69, 75–88.
- Puzzo, D., Privitera, L., Leznik, E., Fa, M., Staniszewski, A., Palmeri, A., & Arancio, O. (2008). Picomolar amyloid- β positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 28(53), 14537–14545.
- Puzzo, D., Privitera, L., & Palmeri, A. (2012). Hormetic effect of amyloid-beta peptide in synaptic plasticity and memory. *Neurobiology of Aging*, 33(7), 1484–e15.
- Qiu, C., Kivipelto, M., & Von Strauss, E. (2009). Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 11(2), 111–128.
- Roberson, E. D., Halabisky, B., Yoo, J. W., Yao, J., Chin, J., Yan, F., Wu, T., Hamto, P., Devidze, N., Yu, G.-Q., & others. (2011). Amyloid- β /Fyn-induced synaptic,

- network, and cognitive impairments depend on tau levels in multiple mouse models of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 31(2), 700–711.
- Roberson, E. D., Scarce-Levie, K., Palop, J. J., Yan, F., Cheng, I. H., Wu, T., Gerstein, H., Yu, G.-Q., & Mucke, L. (2007). Reducing endogenous tau ameliorates amyloid β -induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science*, 316(5825), 750–754.
- Roy, D. S., Arons, A., Mitchell, T. I., Pignatelli, M., Ryan, T. J., & Tonegawa, S. (2016). Memory retrieval by activating engram cells in mouse models of early Alzheimer's disease. *Nature*, 531(7595), 508–512.
- Roy, D. S., Kitamura, T., Okuyama, T., Ogawa, S. K., Sun, C., Obata, Y., Yoshiki, A., & Tonegawa, S. (2017). Distinct neural circuits for the formation and retrieval of episodic memories. *Cell*, 170(5), 1000–1012.
- Runge, K., Cardoso, C., & De Chevigny, A. (2020). Dendritic spine plasticity: function and mechanisms. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 12, 36.
- Scheff, S. W., Price, D. A., Schmitt, F. A., DeKosky, S. T., & Mufson, E. J. (2007). Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology*, 68(18), 1501–1508.
- Sharma, P., Srivastava, P., Seth, A., Tripathi, P. N., Banerjee, A. G., & Shrivastava, S. K. (2019). Comprehensive review of mechanisms of pathogenesis involved in Alzheimer's disease and potential therapeutic strategies. *Progress in Neurobiology*, 174, 53–89.
- Sims, R., Hill, M., & Williams, J. (2020). The multiplex model of the genetics of Alzheimer's disease. *Nature Neuroscience*, 23(3), 311–322.
- Spires-Jones, T., & Knaflo, S. (2012). Spines, Plasticity, and Cognition in Alzheimer's Model Mice. *Neural Plasticity*, 2012(1), 319836.
- Spruston, N. (2008). Pyramidal neurons: dendritic structure and synaptic integration. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(3), 206–221.
- Tahami Monfared, A. A., Byrnes, M. J., White, L. A., & Zhang, Q. (2022). Alzheimer's disease: epidemiology and clinical progression. *Neurology and Therapy*, 11(2), 553–569.
- Vaz, M., & Silvestre, S. (2020). Alzheimer's disease: Recent treatment strategies. *European Journal of Pharmacology*, 887, 173554.
- Wang, Y., & Mandelkow, E. (2016). Tau in physiology and pathology. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(1), 22–35.
- Weber, J. P., Andrásfalvy, B. K., Polito, M., Magó, Á., Ujfalussy, B. B., & Makara, J. K. (2016). Location-dependent synaptic plasticity rules by dendritic spine cooperativity. *Nature Communications*, 7(1), 11380.
- Witter, M. (2012). Hippocampus. In *The mouse nervous system* (pp. 112–139). Elsevier.
- Xu, B., He, Y., Liu, L., Ye, G., Chen, L., Wang, Q., Chen, M., Chen, Y., & Long, D. (2022). The effects of physical running on dendritic spines and amyloid-beta pathology in 3xTg-AD male mice. *Aging and Disease*, 13(4), 1293.
- Yang, H. D., Lee, S. B., Young, L. D., & others. (2016). History of Alzheimer's disease. *Dementia and Neurocognitive Disorders*, 15(4), 115–121.
- Ye, H., Han, Y., Li, P., Su, Z., & Huang, Y. (2022). The role of post-translational modifications on the structure and function of tau protein. *Journal of Molecular Neuroscience*, 72(8), 1557–1571.
- Zhang, H., Wu, L., Pchitskaya, E., Zakharova, O., Saito, T., Saido, T., & Bezprozvanny, I. (2015). Neuronal store-operated calcium entry and mushroom spine loss in amyloid precursor protein knock-in mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 35(39), 13275–13286.
- Zhang, L., Chen, C., Mak, M. S. H., Lu, J., Wu, Z., Chen, Q., Han, Y., Li, Y., & Pi, R.

(2020). Advance of sporadic Alzheimer's disease animal models. *Medicinal Research Reviews*, 40(1), 431–458.