

## RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una **enfermedad neurodegenerativa de aparición tardía, curso progresivo e irreversible**, y que constituye la principal causa de demencia en la población mundial. El **aumento de la prevalencia e incidencia** de esta patología hace de gran interés conocer los factores de riesgo que influyen en ella. Uno de ellos es el estrés, una situación predominante debido a nuestro estilo de vida actual, y cuya presentación de forma prolongada (crónica) parece influir en diversas características de la enfermedad. Por este motivo, este trabajo busca **comprender cómo afecta al estrés crónico** a varios niveles en animales modelo de esta enfermedad, algo muy útil para la concienciación social de nuevos hábitos de vida más saludables.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa de aparición tardía, progresiva e irreversible, siendo la **principal causa de demencia y uno de los grandes retos sanitarios del siglo XXI** (Scheltens et al., 2016). Esta enfermedad se presenta típicamente con un deterioro cognitivo amnésico prominente, pero **también puede manifestarse como un deterioro cognitivo no amnésico**, y se caracteriza neuropatológicamente por la **presencia de depósitos de amiloide  $\beta$  ( $A\beta$ ) y proteína Tau**. La presentación de EA en forma de dificultades en la memoria a corto plazo es algo muy común, si bien también puede darse el deterioro en funciones ejecutivas, procesamiento visoespacial y discurso expresivo (Knopman et al., 2021).

En términos epidemiológicos, en 2018 la *Alzheimer's Disease International* estimó una **prevalencia de demencia de 50 millones de personas en todo el mundo, algo que se prevé que se triplique en 2050**. Estos datos han concienciado a la comunidad científica de la importancia de **conocer y comprender los factores de riesgo** asociados a esta enfermedad (Holtzman et al., 2011).

Uno de ellos es el **estrés crónico**, una respuesta natural prolongada de nuestro cuerpo frente a cambios adversos o exigentes en nuestro entorno, desarrollada como medida para afrontar y superar los desafíos que comprometen nuestro bienestar (McEwen, 2005).

El efecto del estrés crónico en la EA parece deberse, según muchos estudios, en gran parte a la **intervención de la microglía, un elemento clave mediando la respuesta del cerebro y la conducta frente al estrés** (Bisht et al., 2018). Esto hace de gran interés conocer el papel de la microglía en este proceso patológico, analizando la cantidad de este tipo celular (con ayuda del marcador microglial Iba1) y su estado de activación.

## MÉTODOS

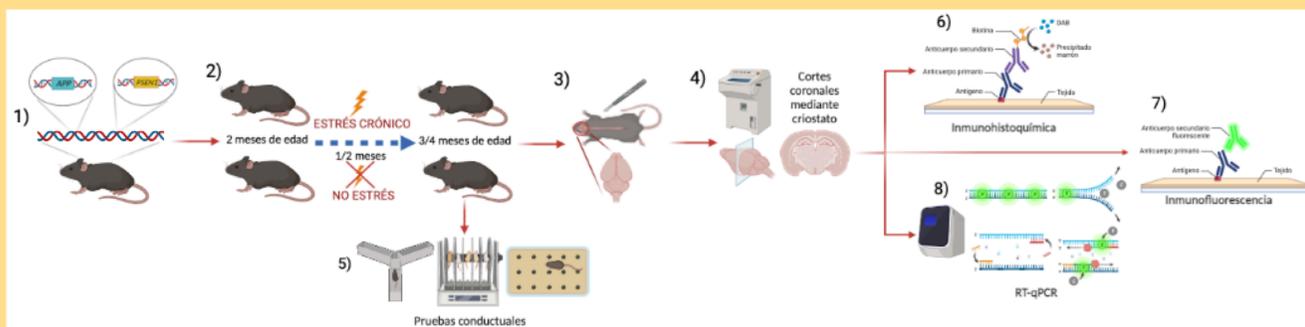


Figura 1. Metodología: 1) Modelo murino de Alzheimer, 2) Protocolo de estrés crónico, 3) Extracción del cerebro, 4) Obtención de cortes coronales, 5) Pruebas conductuales, 6) Tinción por inmunohistoquímica, 7) Tinción por inmunofluorescencia, 8) Análisis expresión génica por RT-qPCR.

En este estudio se emplearon ratones de dos genotipos diferentes: uno carente de mutaciones (WT) y otro con mutaciones que permiten la obtención de un modelo de la EA (APP). Algunos de estos animales fueron sometidos a un **protocolo de estrés crónico variable**, en que se presentan a los sujetos estímulos estresores variados durante un periodo de uno o dos meses (estrés crónico). Tanto a los animales estresados como a los que no lo están se les evalúa mediante **pruebas conductuales**. Posteriormente se sacrifican para obtener su cerebro, que se utilizará en **técnicas de biología molecular**.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

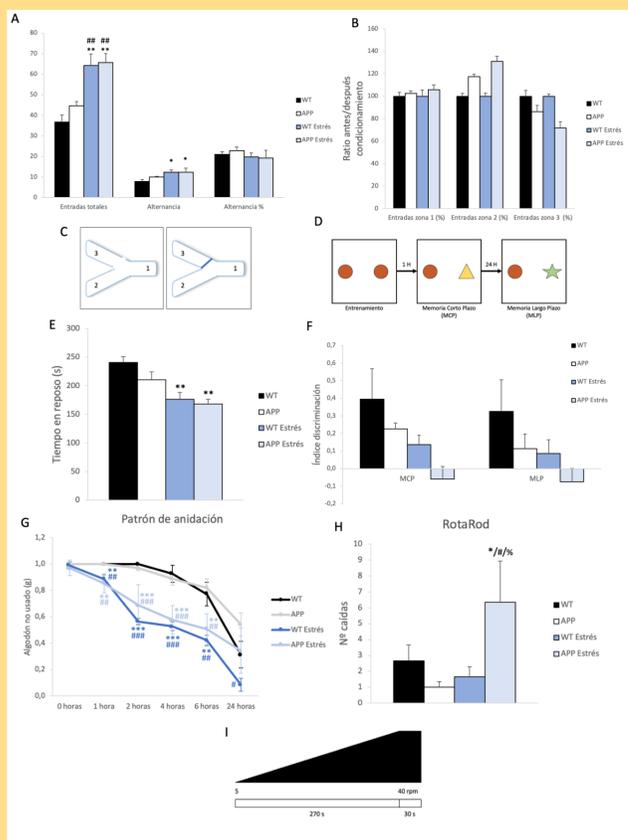


Figura 2. Pruebas conductuales a 3 meses: Parámetros medidos en el laberinto en Y (A,B) y protocolo seguido (C). Parámetros medidos en la prueba de reconocimiento de objeto novedoso (E, F) y protocolo seguido (D). Estudio del patrón de anidación (G). Número de caídas en ensayo de aprendizaje locomotor (H) y protocolo seguido (I). Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) respecto al grupo WT (\*), APP (#) y WT Estrés (%).

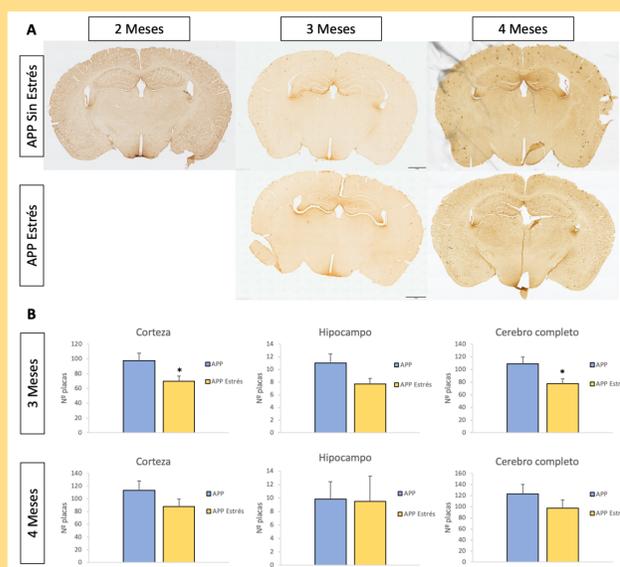


Figura 3. Recuento de placas  $A\beta$ . Imágenes tinción inmunohistoquímica frente a  $A\beta$  (A) y cuantificación número de placas (B). Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) respecto al grupo APP (\*).

Los resultados expuestos hacen pensar que la **hipótesis clásica de la cascada amiloide queda en cuestión** en edades tempranas, apuntando en una dirección diferente en la que el elemento clave en los efectos de la patología  $A\beta$  es el **papel desempeñado por la microglía**. La correcta funcionalidad de estas células se ve comprometida por el estrés crónico, lo que se traduce en un **descenso del fenotipo microglial neuroprotector DAM**, que no podrá agrupar los oligómeros de  $A\beta$ , los elementos realmente tóxicos, bajo la forma de placas. Éstos quedan libres y se acumulan en el parénquima cerebral, provocando daños neuronales que en última instancia terminarán produciendo **degeneración neuronal**, y traduciéndose en **alteraciones conductuales en dominios como el aprendizaje locomotor**. Por lo tanto, este estudio sugiere que el estrés puede ser un punto clave en el inicio y posterior desarrollo de la EA.

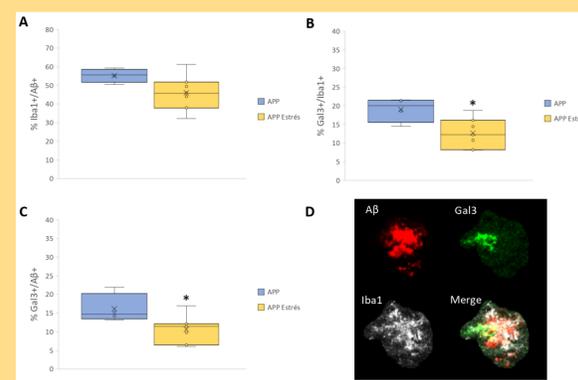


Figura 4. Estudio microglía asociada a placa. Porcentaje de colocalización señal Iba1+ $A\beta$ + (A), señal Gal3+Iba1+ (B) y señal Gal3+ $A\beta$ + (C). Imágenes inmunofluorescencia del canal de placa  $A\beta$ , Gal3, microglía (Iba1) y combinación de los canales (merge). Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) respecto al grupo APP (\*).

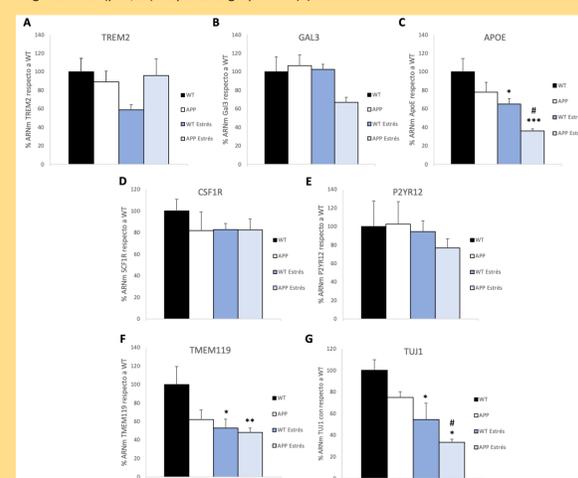


Figura 5. Cuantificación de la expresión génica a 3 meses por RT-qPCR. Estudio de genes indicativos de microglía DAM (A-C), microglía homeostática (D-F) y daño neuronal (G). Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) respecto al grupo WT (\*) y APP (#).

## CONCLUSIONES

- El efecto sumatorio del estrés crónico y el genotipo APPxPS1 conlleva **déficits en el aprendizaje locomotor**, lo que se manifiesta en el número de caídas en el RotaRod.
- En otras pruebas conductuales se observan alteraciones provocadas por el estrés, mientras que el genotipo APPxPS1 parece no influir. Estas alteraciones **validan nuestro modelo de estrés crónico variable**.
- El estrés crónico provoca un **descenso del número de placas de  $A\beta$  en corteza** en animales de 3 meses, algo que no se observa en hipocampo.
- En cuanto a la microglía, tanto el genotipo como el estrés crónico provocan un **descenso de la microglía homeostática**. Además, el estrés conlleva un **descenso del fenotipo microglial DAM** en animales APPxPS1.
- El estrés crónico produce un **aumento del daño neuronal** en animales APPxPS1, medido por TUJ1.
- Nuestros resultados sugieren que el estrés conlleva un **funcionamiento inadecuado de la microglía**, lo que produce un descenso de placas de  $A\beta$ , considerados como un elemento protector frente al efecto tóxico de los oligómeros de  $A\beta$  libres, y un aumento del daño neuronal que se traduce en fallos en el aprendizaje locomotor.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bisht K, Sharma K, Tremblay MÈ. Chronic stress as a risk factor for Alzheimer's disease: Roles of microglia-mediated synaptic remodeling, inflammation, and oxidative stress. *Neurobiol Stress* 2018;9:9–21.
- Holtzman DM, Morris JC, Goate AM. Alzheimer's disease: the challenge of the second century. *Sci Transl Med* 2011;3.
- Knopman DS, Amieva H, Petersen RC, Chételat G, Holtzman DM, Hyman BT, et al. Alzheimer disease. *Nat Rev Dis Prim* 2021;7:1–21.
- McEwen BS. Stressed or stressed out: What is the difference? *J Psychiatry Neurosci* 2005;30:315.
- Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, de Strooper B, Frisoni GB, Salloway S, et al. Alzheimer's disease. *Lancet* 2016;388:505–17.

## FINANCIACIÓN

