



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

EFFECTO DEL PÉPTIDO BETA AMILOIDE SOBRE EL *STATUS*
EPILEPTICUS Y LAS CRISIS ESPONTÁNEAS

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA:

LIC. EN PSIC. BENJAMÍN VILLASANA SALAZAR

TUTOR PRINCIPAL:

DR. JOSÉ FERNANDO PEÑA ORTEGA

DEPARTAMENTO DE NEUROBIOLOGÍA DEL DESARROLLO Y NEUROFISIOLOGÍA – INB

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

DR. JORGE BOSCH BAYARD

DEPARTAMENTO DE NEUROBIOLOGÍA CONDUCTUAL Y COGNITIVA – INB

DR. LUIS CONCHA LOYOLA

DEPARTAMENTO DE NEUROBIOLOGÍA CONDUCTUAL Y COGNITIVA – INB

CAMPUS JURQUILLA-UNAM, JUNIO 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Circuitos Neuronales (C01) del Departamento de Neurobiología del Desarrollo y Neurofisiología del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. José Fernando Peña Ortega.

A lo largo de la Maestría conté con una beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT; número de becario: 587113).

Este trabajo de tesis contó con el financiamiento del CONACyT con los proyectos 117, 235789, 237570, 246888 y 181323, de la DGAPA-UNAM con el proyecto IN200715 y de la Cátedra Marcos Moshinsky.

“The more I explored the mysteries of brain oscillators and neuronal functions, the more I realized that the fundamental ideas (some which I thought were genuinely mine) have already been expressed, often repeatedly. Many times the ideas have come up in studying systems other than the brain, or they were expressed in a different context. But they existed. The deeper I ventured into the problems, the further back in time I had to travel to discover the origin of thoughts.”

György Buzsáki, *The rhythms of the brain*

“Cualquier esfuerzo resulta ligero con el hábito”

Tito Livio

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá y a Alejandro Santiago, por sus consejos y apoyo para salir adelante durante la realización de la maestría y sobre todo por creer en mí y en mi proyecto de ser investigador.

A mi papá y a mi hermana, por mantenerse a mi lado a pesar de la distancia y de las largas ausencias.

A Rebeca, por alentarme cada día a ser mejor, por contagiarme de su entusiasmo por la ciencia y por estar siempre presente.

A mis amigos y compañeros de laboratorio: Polet, Jon, Benito, Keyla, Chema, Arturo, Karla, Josué, Siddhartha, Fanny, Víctor, David, Martín, Perla y Anahí.

A los que ya no están en el laboratorio: Lalo, Ernesto, Lupita y Kenia.

Al Dr. Peña, por el empeño y criticismo científico que lo caracterizan y que reflejan su gran pasión por la investigación científica. También por las enseñanzas y la orientación que me brindó durante la realización de esta tesis.

A los miembros de mi comité tutorial, los doctores Luis Concha Loyola y Jorge Bosch Bayard, por la asesoría y el apoyo que me brindaron durante el desarrollo de esta tesis.

A la Dra. Luisa Lilia Rocha Arrieta y al Dr. Cesar Santana Gómez del Departamento de Farmacobiología del CINVESTAV sede Sur, por su orientación sobre las cosas que no vienen en los *papers* sobre el modelo de litio/pilocarpina.

A la Dra. Deisy Gasca Martínez de la Unidad de Análisis Conductual del Instituto de Neurobiología de la UNAM, por su apoyo brindado en los experimentos conductuales.

Al MVZ. José Martín García Servín y a la Dra. Alejandra Castillo León del Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, por la atención y el cuidado brindado a los animales de experimentación.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser la cuna del pensamiento crítico (académico y cultural) en México. ¡Por la educación pública y gratuita!

ÍNDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
LISTA DE ABREVIATURAS	6
ANTECEDENTES.....	8
GENERALIDADES DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER (EA).....	8
ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS, NEUROQUÍMICAS Y MICROESTRUCTURALES EN LA EA	11
ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS EN LA EA.....	11
ALTERACIONES NEUROQUÍMICAS Y MICROESTRUCTURALES EN LA EA	16
EFECTO DEL PÉPTIDO BETA AMILOIDE (βA_{1-42}) SOBRE LA ACTIVIDAD DE LOS CIRCUITOS NEURONALES.....	22
ESTUDIOS CLÍNICOS	22
ESTUDIOS EXPERIMENTALES.....	23
CRISIS EPILÉPTICAS EN LA EA.....	29
DEFINICIÓN DE EPILEPSIA	29
REPORTES CLÍNICOS QUE RELACIONAN A LA EPILEPSIA CON LA EA ..	36
MANIFESTACIONES DE ACTIVIDAD EPILEPTIFORME EN LOS MODELOS TRANSGÉNICOS DE LA EA.....	37
JUSTIFICACIÓN.....	40
HIPÓTESIS.....	41
OBJETIVOS.....	41
GENERAL	41
ESPECÍFICOS.....	41
MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
ANIMALES	42
OLIGOMERIZACIÓN DEL βA_{1-42}	42
ADMINISTRACIÓN INTRACISTERNAL DE OLIGÓMEROS DEL βA_{1-42} Y CIRUGÍA ESTEREOTÁXICA	42
INDUCCIÓN DE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA Y EL <i>STATUS EPILEPTICUS</i> (SE) CON EL MODELO DE LITIO/PILOCARPINA	43
REGISTRO ELECTROGRÁFICO DURANTE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA Y EL SE	43

DETECCIÓN DE LA APARICIÓN DE LAS CRISIS ESPONTÁNEAS Y RECURRENTES (CER).....	43
INDUCCIÓN DE ACTIVIDAD CONVULSIVA CON PENTILENETETRAZOL (PTZ)	44
EXTRACCIÓN DE REBANADAS DE HIPOCAMPO VENTRAL.....	44
REGISTRO ELECTROFISIOLÓGICO DURANTE LA INDUCCIÓN DE ACTIVIDAD EPILEPTIFORME CON 4-AMINOPIRIDINA (4AP) <i>IN VITRO</i>	44
ANÁLISIS DE DATOS.....	45
ACTIVIDAD CONVULSIVA GENERALIZADA Y EL SE	45
ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA HIPOCAMPAL ESPONTÁNEA Y DURANTE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA GENERALIZADA Y EL SE	45
ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA POBLACIONAL DEL HIPOCAMPO <i>IN VITRO</i>	46
ACTIVIDAD CONVULSIVA INDUCIDA CON PTZ	46
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	46
RESULTADOS.....	47
EFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA Y EL SE INDUCIDOS CON LITIO/PILOCARPINA.....	47
EFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA ESPONTÁNEA DEL HIPOCAMPO	48
EFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DURANTE LA PRIMERA CRISIS GENERALIZADA TÓNICO-CLÓNICA (CGTC) INDUCIDA CON LITIO/PILOCARPINA	49
EFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DURANTE EL INICIO DEL SE INDUCIDO CON LITIO/PILCOARPINA.....	50
EFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DURANTE EL SE INDUCIDO CON LITIO/PILCOARPINA	51
EFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA ESPONTÁNEA DE CAMPO DEL HIPOCAMPO DE RATAS EPILEPTICAS <i>IN VITRO</i>	52
EFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DE ANIMALES EPILEPTICOS DURANTE LA INDUCCIÓN DE ACTIVIDAD EPILEPTIFORME CON 4AP <i>IN VITRO</i>	53
EFECTO DE LA APLICACIÓN AGUDA DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DE ANIMALES EPILEPTICOS DURANTE LA INDUCCIÓN DE ACTIVIDAD EPILEPTIFORME CON 4AP <i>IN VITRO</i>	54

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA INDUCIDA CON PTZ.....	55
DISCUSIÓN.....	57
CONCLUSIONES.....	67
Anexo 1.....	68
EFFECTO CRÓNICO DE LA INYECCIÓN INTRACISTERNAL E INTRAHIPOCAMPAL DEL βA_{1-42} SOBRE LA MEMORIA A LARGO PLAZO.....	68
Anexo 2.....	70
EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA ESPONTÁNEA DEL HIPOCAMPO <i>IN VITRO</i> DE ANIMALES QUE NO DESARROLLARON EL SE NI LAS CER.....	70
Anexo 3.....	72
EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DURANTE LA ACTIVIDAD EPILEPTIFORME INDUCIDA CON 4AP <i>IN VITRO</i> DE ANIMALES QUE NO DESARROLLARON EL SE NI LAS CER.....	72
Anexo 4.....	74
EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD EPILEPTIFORME INDUCIDA CON 4AP EN REBANADAS DE HIPOCAMPO DE ANIMALES INYECTADOS CON OLIGÓMEROS DEL βA_{1-42} QUE NO DESARROLLARON EL SE NI LAS CER.....	74
Anexo 5.....	76
EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA INDUCIDA CON PTZ A LAS UNA, TRES Y CINCO SEMANAS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DEL βA	76
REFERENCIAS.....	78

RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la patología neurodegenerativa más común en la población adulta. Uno de los signos histopatológicos de la EA son las placas seniles, compuestas de depósitos extracelulares del péptido beta amiloide (βA_{1-42}). El aumento del βA_{1-42} soluble en el cerebro es considerado el biomarcador más sensible del proceso neuropatológico de la EA. El βA_{1-42} produce efectos deletéreos sobre la actividad de los circuitos neuronales, lo cual se ha asociado a las alteraciones celulares, estructurales, cognoscitivas y conductuales observadas durante el curso de la enfermedad. La aparición de crisis espontáneas y recurrentes (CER) en los pacientes con la EA ha sido observada desde los primeros casos reportados de la enfermedad. Los pacientes con la EA tienen mayor riesgo de desarrollar epilepsia, e incluso, la aparición de CER se ha relacionado con un mayor deterioro cognoscitivo y mayor riesgo de muerte. Los modelos transgénicos de la EA presentan una susceptibilidad alta para exhibir CER, además de mayor riesgo de muerte asociado a las CER y alteraciones microestructurales en los circuitos neuronales. A pesar de las evidencias clínicas y experimentales que relacionan el βA_{1-42} con la aparición de las CER en la EA, aún no es claro cuál es el efecto del βA_{1-42} sobre la actividad de los circuitos neuronales que subyace al aumento de la susceptibilidad para presentar epilepsia. Por lo anterior, el objetivo de esta tesis fue investigar el efecto de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la susceptibilidad para presentar actividad convulsiva inducida con dos modelos de actividad epileptiforme mecanísticamente diferentes y sobre la actividad electrográfica hipocampal, tanto *in vivo* como *in vitro*. Además, se investigó el efecto crónico de la administración de oligómeros del βA_{1-42} y de la aparición de las CER sobre la actividad electrográfica hipocampal antes y durante la inducción de actividad epileptiforme *in vitro*. Los resultados muestran que la administración intracisternal de oligómeros del βA_{1-42} disminuye la latencia para desarrollar el *status epilepticus* (SE) y aumenta el número de crisis generalizadas tónico-clónicas (CGTC) desde la primera CGTC hasta el inicio del SE inducido con litio/pilocarpina. La administración intracisternal de oligómeros del βA_{1-42} disminuyó el poder espectral de la actividad electrográfica espontánea del hipocampo y lo aumentó durante la primera CGTC, el inicio del SE y en el curso del SE inducidos con litio/pilocarpina *in vivo*. La actividad electrográfica espontánea de la capa piramidal del área CA1 del hipocampo de animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} que presentaron el SE y las CER, mostró una mayor potencia espectral, así como durante la inducción de actividad epileptiforme con 4-Aminopiridina (4AP) *in vitro*. Después de la aplicación aguda de oligómeros del βA_{1-42} , se observó una disminución del poder espectral de la actividad epileptiforme inducida con 4AP *in vitro*. Finalmente, la inyección intracisternal del βA_{1-42} generó una ligera disminución en la susceptibilidad para presentar crisis convulsivas generalizadas inducidas con pentilenetetrazol (PTZ), cinco semanas después de la administración del βA_{1-42} . En conclusión, el βA_{1-42} sensibiliza a los circuitos neuronales para desarrollar actividad convulsiva, posiblemente mediante la reconfiguración de los circuitos neuronales inhibitorios.

ABSTRACT

Alzheimer's Disease (AD) is the most common neurodegenerative disorder in the elderly. A key histopathological sign in AD are senile plaques, which are composed by extracellular deposits of amyloid beta peptide ($A\beta_{1-42}$). The increase of soluble $A\beta_{1-42}$ in the brain is the most sensitive biomarker of the neuropathological process in AD. $A\beta_{1-42}$ produces deleterious effects on neural network activity, which is associated to cellular, structural, cognitive and behavioral disturbances. The presence of spontaneous recurrent seizures (SRS) in AD patients has been observed since the early AD cases reported. AD patients have more risk to develop epilepsy, even the presence of SRS is related to a greater cognitive decline and to a greater death risk. Several transgenic animal models of AD also exhibit SRS, greater seizures-associated death risk and a variety of microstructural disturbances in neural networks. Despite the clinical and experimental evidences suggesting a link between $A\beta_{1-42}$ and SRS, the effect of $A\beta_{1-42}$ on neural networks activity that underlies the increased susceptibility to develop epilepsy remains uncertain. Consequently, the goal of this thesis was to investigate the effect of $A\beta_{1-42}$ oligomers application on seizure activity induced by two mechanistically different epileptiform activity models, and on hippocampal electrographic activity *in vivo* and *in vitro*. Moreover, the effects of the combination of chronic $A\beta_{1-42}$ oligomers application and the presence of SRS on hippocampal electrographic activity was also tested before and during the epileptiform activity induced *in vitro*. The results showed that $A\beta_{1-42}$ oligomers application reduces the latency to reach the *status epilepticus* (SE) and augments the number of tonic-clonic generalized seizures (TCGS) from the beginning of TCGS to the beginning of SE induced by the lithium/pilocarpine model. The intracisternal application of $A\beta_{1-42}$ oligomers reduced the hippocampal electrographic activity spectral power and increased it during the first TCGS, as well as during the beginning and the stable-state of SE induced by the lithium/pilocarpine model. The electrographic activity of the CA1 hippocampal area of animals injected with $A\beta_{1-42}$ oligomers which exhibit the SE and SRS, showed an increased spectral power, as well as during the induction of epileptiform activity elicited by 4-Aminopyridine (4AP) *in vitro*. After the bath application of $A\beta_{1-42}$ oligomers, the epileptiform activity spectral power was reduced. Finally, βA_{1-42} oligomers intracisternal application produced a mild reduction in pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizures probability, five weeks after the $A\beta_{1-42}$ injection. In conclusion, we found that $A\beta_{1-42}$ sensitizes neural networks to develop seizure activity, possibly by the reconfiguration of inhibitory neuronal networks.

LISTA DE ABREVIATURAS

4AP	4-Aminopiridina
AICD	<i>Amyloid Precursor Protein Intracellular Domain</i> (Dominio Intracelular de la Proteína Precursora de Amiloide)
APP	<i>Amyloid Precursor Protein</i> (Proteína Precursora de Amiloide)
APPLP1	<i>Amyloid Precursor Protein Like Protein 1</i> (Proteína Tipo Proteína Precursora de Amiloide 1)
APPLP2	<i>Amyloid Precursor Protein Like Protein 2</i> (Proteína Tipo Proteína Precursora de Amiloide 2)
CER	Crisis Espontáneas y Recurrentes
CGTC	Crisis Generalizadas Tónico-Clónicas
CRAN1	<i>Regulator of Calcineurin 1</i> (Regulador de Calcineurina 1)
DZP	Diazepam
EA	Enfermedad de Alzheimer
EAAT1	<i>Excitatory Amino Acid Transporter 1</i> (Transportador de Aminoácidos Excitadores 1)
EAAT2	<i>Excitatory Amino Acid Transporter 2</i> (Transportador de Aminoácidos Excitadores 2)
EEG	Electroencefalograma
ELT	Epilepsia del Lóbulo Temporal
FFT	<i>Fast Fourier Transform</i> (Transformada Rápida de Fourier)
GSK3 β	<i>Glycogen Synthase Kinase 3β</i> (Cinasa de la Glucógeno Sintasa 3 β)
HFIP	1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol
HFO	<i>High Frequency Oscillations</i> (Oscilaciones de Alta Frecuencia)
IDE	<i>Insulin Degrading Enzyme</i> (Enzima Degradadora de Insulina)
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
ILAE	<i>International League Against Epilepsy</i> (Liga Internacional Contra la Epilepsia)
IRM	Imágenes por Resonancia Magnética
IRMf	Imágenes por Resonancia Magnética funcional
KA	<i>Kainic Acid</i> (Ácido Kaínico)
LCR	Líquido Cefalorraquídeo
LCRam	Líquido Cefalorraquídeo artificial modificado
LTP	<i>Long Term Potentiation</i> (Potenciación a Largo Plazo)
MAP	<i>Microtubule Associated Proteins</i> (Proteínas Asociadas a los Microtúbulos)
MCI	<i>Mild Cognitive Impairment</i> (Alteración Cognitiva Leve)
MMP-2	<i>Matrix Metalloproteinase 2</i> (Metaloproteasa de la Matriz 2)
MMP-9	<i>Matrix Metalloproteinase 9</i> (Metaloproteasa de la Matriz 9)
MMSE	<i>Mini Mental State Examination</i> (Mini Prueba del Estado Mental)

Nav 1.1	<i>Sodium Channel Voltage Gated type 1.1</i> (Canal de Sodio Sensible a Voltaje tipo 1.1)
Nav 1.6	<i>Sodium Channel Voltage Gated type 1.6</i> (Canal de Sodio Sensible a Voltaje tipo 1.6)
NEP	Neprilisina
NO	<i>Nitric Oxide</i> (Óxido Nítrico)
ONF	Ovillos Neurofibrilares
OSA	<i>Obstructive Sleep Apnea</i> (Apnea Obstruictiva del Sueño)
PSN1	Presenilina 1
PSN2	Presenilina 2
PTZ	Pentilenetetrazol
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> (Especies Reactivas de Oxígeno)
SE	<i>Status Epilepticus</i> (Estado Epiléptico)
SPECT	<i>Single Photon Emission Computed Tomography</i> (Tomografía Computarizada por Emisión de Fotón Único)
TEP	Tomografía por Emisión de Positrones
TLR	<i>Toll Like Receptor</i> (Receptor Tipo Toll)
TNF α	<i>Tumor Necrosis Factor α</i> (Factor de Necrosis Tumoral α)
βA_{1-42}	Péptido β -Amiloide

ANTECEDENTES

GENERALIDADES DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER (EA)

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurológica crónica y degenerativa, cuyo signo clínico principal es la pérdida significativa de uno o más de los siguientes dominios cognoscitivos: atención, función ejecutiva, aprendizaje, memoria, lenguaje, percepción o cognición social (Organización Mundial de la Salud, 2013; APA, 2014; AA, 2015a; 2015b). La EA es el tipo de demencia más común en el mundo (Organización Mundial de la Salud, 2013), presentándose en aproximadamente el 60-70% de la población mundial con demencia (Organización Mundial de la Salud, 2013; AA, 2015b). La población mundial con la EA ascendía a 35.6 millones en el año 2010 (BUPA, 2013) y se ha estimado que ascenderá a 65.7 millones en el año 2030 y a 115.4 millones en el año 2050 (BUPA, 2013; AA, 2015a). En México, la población con demencia ascendía a 621,000 personas en el año 2010 (BUPA, 2013) y se calcula que en el año 2030 ascenderá a 1,437,000 personas y a 3,195,000 en el año 2050 (Libre-Rodríguez et al., 2008; BUPA, 2013; Gutiérrez-Robledo & Arrieta-Cruz, 2014). Este incremento de la población con demencia del 414% entre los años 2010 y 2050 es debido al aumento exponencial estimado de la población senil (Libre-Rodríguez et al., 2008; Braak et al., 2011; Manrique-Espinoza et al., 2013; BUPA, 2013; Organización Mundial de la Salud, 2013; Gutiérrez-Robledo & Arrieta-Cruz, 2015).

La EA conlleva repercusiones socioeconómicas importantes que representan una carga económica en México y el mundo (Gutiérrez-Robledo & Arrieta-Cruz, 2015; Organización Mundial de la Salud, 2015). El costo mundial de la EA asciende a más de 600 mil millones de dólares anuales (Organización Mundial de la Salud, 2013; 2015). En México, el costo total de las demencias asciende a 6157 dólares *per capita* (BUPA, 2013). La EA representa una gran carga económica para las instituciones de salud, las familias y los cuidadores de las personas con la EA en países en vías de desarrollo, por lo que es considerada una prioridad de salud pública (Organización Mundial de la Salud, 2013).

Por otro lado, la EA tiene un impacto significativo sobre la calidad de vida global de las personas que la padecen y de sus familiares (Baquero et al., 2009; Millenaar et al., 2015). La EA afecta principalmente a la autopercepción del estado funcional y cognoscitivo, al cuidado personal y a la capacidad para realizar objetivos (Baquero et al., 2009), además de que presenta una alta comorbilidad con trastornos de ansiedad y depresión (Gutiérrez-Robledo & Arrieta-Cruz, 2014).

Los criterios diagnósticos de la EA, señalados en el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales 5 (DSM-5, por sus siglas en inglés) (APA, 2014), contempla los siguientes puntos:

- a) Evidencia de una mutación genética causante de la EA en los antecedentes familiares o en pruebas genéticas (opcional).

- b) Declive cognoscitivo:
 - a. Evidencia clara de un declive de la memoria y del aprendizaje, y por lo menos de otro dominio cognoscitivo (por ejemplo, el lenguaje, las funciones ejecutivas, la personalidad/el comportamiento, la ejecución visomotora, etcétera).
 - b. Declive progresivo, gradual y constante de la capacidad cognoscitiva sin mesetas prolongadas.
 - c. Ausencia de evidencia de una etiología mixta (por ejemplo cualquier otra enfermedad neurodegenerativa, neurológica o cerebrovascular que contribuya al declive cognoscitivo).

Los casos que presentan el primer criterio clínico se diagnostican como EA probable (APA, 2014), familiar o de inicio temprano (McKhann et al., 2011; AA, 2015b). Estos casos se presentan en un pequeño porcentaje (<10%) de la población con la EA (AA, 2015a; Cacacc et al., 2016). Estos pacientes desarrollan la EA como resultado de una mutación genética heredable y exhibiendo los síntomas cognoscitivos antes de los 65 años de edad (McKhann et al., 2011; AA, 2015b; Cacacc et al., 2016).

Aquellos casos en donde no se cumple el primer criterio clínico, se diagnostican como EA posible (APA, 2014), espontánea o de inicio tardío (McKhann et al., 2011; AA, 2015b). Estos casos no presentan una causa evidente y suelen desarrollar los síntomas cognoscitivos después de los 65 años de edad (McKhann et al., 2011; AA, 2015b).

La historia natural de la EA se ha clasificado en tres etapas clínicas (Jack et al., 2010; Sperling et al., 2011; Carrillo et al., 2013; Mar et al., 2015): preclínica, prodrómica y demencial. La clasificación de los pacientes dentro de cada etapa clínica es efectuada a partir de la presencia de biomarcadores (Sperling & Johnson, 2013), como son la disminución del péptido β -amiloide (βA_{1-42}) y el incremento de la proteína τ fosforilada en el líquido cefalorraquídeo (LCR); la presencia de depósitos fibrilares del βA en el cerebro, detectada mediante la Tomografía por Emisión de Positrones (TEP) y la Tomografía Computarizada por Emisión de Fotón Único (SPECT, por sus siglas en inglés); la presencia de atrofia cerebral, principalmente en estructuras del lóbulo temporal mesial, como el hipocampo y la corteza entorrinal, medida mediante Imágenes por Resonancia Magnética (IRM); y la pérdida de la conectividad funcional, principalmente en una red cortical conocida como la red neuronal por defecto (*default mode network*, en inglés), medida a partir de Imágenes por Resonancia Magnética funcional (IRMf) (Sperling & Johnson, 2013, Oukoloff et al., 2015). No obstante, la principal herramienta para la clasificación de los pacientes dentro de cada etapa clínica es efectuada de acuerdo al nivel del deterioro cognoscitivo presentado, medido a partir de pruebas neuropsicológicas, como la Mini Prueba del Estado Mental (MMSE, por sus siglas en inglés) (Harrison et al., 2007; Creavin et al., 2016)

(figura 1). Es de importancia resaltar que estas alteraciones forman parte de un continuo en el proceso patológico de la EA, observándose un deterioro cada vez mayor en cada una de las etapas del proceso patológico.

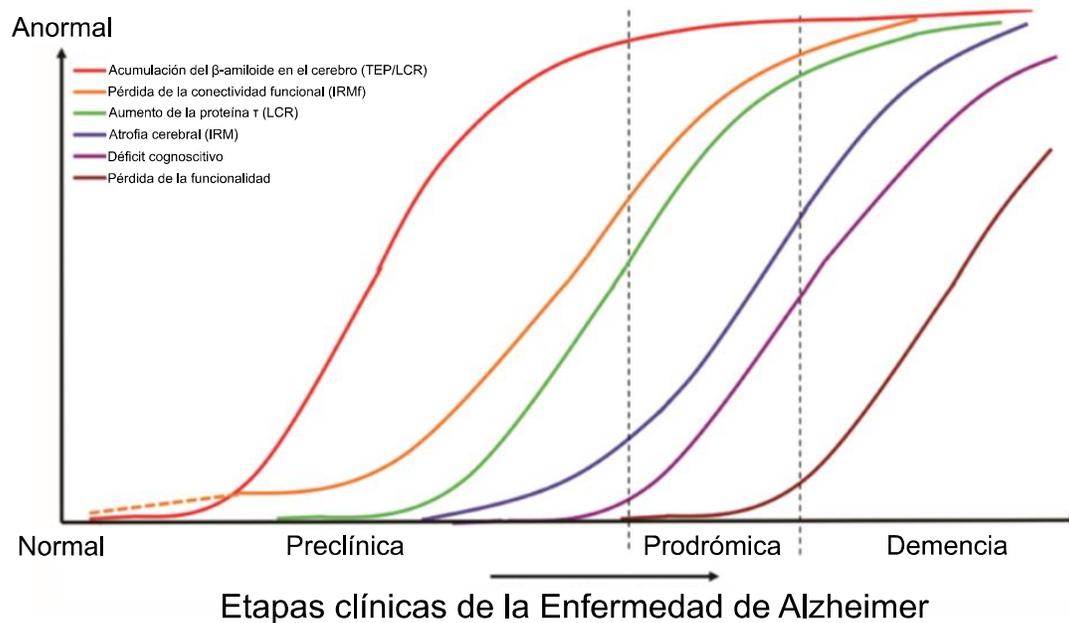


Figura 1. Modelo hipotético de la dinámica de los biomarcadores en la historia natural de la EA. Los biomarcadores de la EA incluyen la acumulación de depósitos fibrilares del βA en el cerebro, pérdida de la conectividad funcional, aumento de la proteína τ en el LCR, atrofia cerebral, alteraciones cognoscitivas y pérdida clínicamente significativa del funcionamiento. Modificado de Sperling & Johnson (2013).

La etapa preclínica es un periodo en el cual ya ha comenzado el proceso patológico de la EA, pero aún no hay evidencia de deterioro cognoscitivo (Jack et al., 2010; Sperling & Johnson, 2013). En esta etapa, ya es posible observar la disminución en la concentración del βA_{1-42} en el LCR (Martorana et al., 2015; Blennow et al., 2016), así como depósitos fibrilares del βA_{1-42} en el cerebro mediante TEP (Ji et al., 2015; Oukoloff et al., 2015), principalmente en estructuras del lóbulo temporal mesial (Ji et al., 2015, Babulal et al., 2016). Hasta ahora, estos biomarcadores son los más sensibles para detectar las alteraciones tempranas de la EA en pacientes asintomáticos (Sperling & Johnson, 2013, Wood, 2016) y es por ello que se ha propuesto que la acumulación del βA es un evento clave en la etiología de la EA (Sperling et al., 2011).

La etapa prodrómica o de alteración cognoscitiva leve (MCI, por sus siglas en inglés), es el tiempo en donde se presenta un declive en alguna de las funciones cognoscitivas (NIA, 2015), siendo la memoria episódica la primera función cognoscitiva más afectada (Sperling et al., 2011), no obstante, estas alteraciones no intervienen en la funcionalidad de las personas (Jack et al., 2010; NIA, 2015). En esta etapa es posible detectar un aumento en la concentración de la proteína τ en el LCR (Jack et al., 2010; Blennow et al., 2016) y atrofia en estructuras del

lóbulo temporal mesial, como el hipocampo y las cortezas entorrinal y perirrinal mediante IRM (Appel et al., 2009; Mormino et al., 2009; Jack et al., 2010). Además, en esta etapa, ya es notoria la pérdida de la conectividad funcional en varias redes neuronales mediante IRMf, entre las que destacan la red de la memoria episódica (Sperling et al., 2011), la red de la memoria semántica (Gardini et al., 2015) y la red neuronal por defecto (Sperling et al., 2011; Wang et al., 2013; Gardini et al., 2015).

En la etapa de demencia, ocurre un deterioro en múltiples dominios cognoscitivos (Sperling et al., 2010; Carrillo et al., 2013), incluyendo la memoria, el lenguaje y las funciones ejecutivas (Aguirre-Acevedo et al., 2016). Por otro lado, en esta etapa también se observan alteraciones conductuales, como la aparición de trastornos de ansiedad, depresión, alteración del ciclo vigila-sueño, alteraciones afectivas y agresividad verbal y física (Vermeiren et al., 2013). Juntas, estas variaciones cognoscitivas y conductuales afectan el funcionamiento global de las personas con la EA (Sánchez-de Machado et al., 2007; Jack et al., 2010). En esta etapa, las pruebas neuropsicológicas para evaluar la severidad del deterioro cognoscitivo (Harrison et al., 2007; Sperling & Johnson, 2013; Creavin et al., 2016), como la MMSE (Creavin et al., 2016), muestran un deterioro severo.

ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS, NEUROQUÍMICAS Y MICROESTRUCTURALES EN LA EA

La progresión patológica de la EA es el resultado de una serie de alteraciones histopatológicas, neuroquímicas y microestructurales en el cerebro (López & DeKosky, 2003; Sperling et al., 2011; AA, 2015a; 2015b; Selkoe & Hardy, 2016). Estas alteraciones son de carácter progresivo y ocurren principalmente en el hipocampo y en la neocorteza temporal (López & DeKosky, 2003; Creavin et al., 2016; Mann, Yates & Marcyniuk, 1985; Braak & Braak, 1991; Nedelska et al., 2015), que son estructuras ampliamente involucradas en la memoria (Sperling et al., 2010; Knierim, 2015).

ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS EN LA EA

Las alteraciones histopatológicas en la EA son aquellas observadas de forma *post mortem* en cerebros de pacientes que tuvieron diagnóstico probable de la EA (Joachim et al., 1989; Braak & Braak, 1991; Braak et al., 2011; Nedelska et al., 2015). Actualmente es posible detectar estos correlatos *in vivo*, mediante la TEP y la SPECT (Ji et al., 2015; Oukoloff et al., 2015).

Estas alteraciones fueron descritas por primera vez por Alois Alzheimer en 1907 (Möller & Graeber, 1998), e incluyen principalmente a las denominadas placas seniles y a los ovillos neurofibrilares (ONF) (Möller & Graeber, 1998), que junto con otros marcadores de neurodegeneración, como la atrofia hipocampal, la pérdida neuronal y la pérdida de sinapsis (Jack et al., 2010; Scheff et al., 2011), son considerados como marcadores *post mortem* de la severidad de la EA (López

& DeKosky, 2003; Jack et al., 2010). Estos marcadores histopatológicos serán descritos a continuación.

PLACAS SENILES

Las placas seniles son depósitos extracelulares en el tejido nervioso, compuestos por agregados fibrilares del β A (Braak & Braak, 1991; Growing et al., 1994; Braak & Del Tredici, 2004) (figura 2). Las placas seniles se presentan principalmente en estructuras del lóbulo temporal mesial, como la neocorteza temporal y el hipocampo (Mann, Yates & Marcyniuk, 1985; Braak & Braak, 1991; Jellinger, et al., 1991).

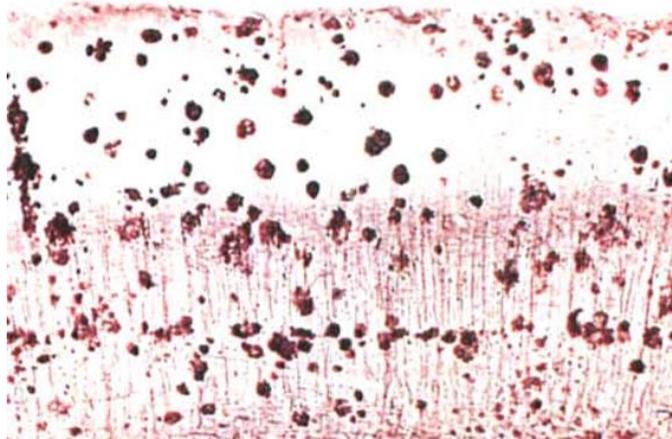


Figura 2. Corte histológico del área CA1 del hipocampo en donde se observan placas seniles teñidas con la técnica de Campbell-Switzer. Nótese que las placas se ubican de forma difusa en el corte histológico. Tomado de Braak & Braak (1991).

La proporción de placas seniles aumenta con la edad (Braak et al., 2011), manifestando la siguiente secuencia de aparición: primero en estructuras del lóbulo temporal mesial, principalmente el hipocampo, la corteza entorrinal y la neocorteza temporal (Pearson et al., 1985; Jellinger, et al., 1991). Posteriormente, las placas seniles aparecen en las cortezas extratemporales y de asociación, para después presentarse en todo el cerebro (Braak et al., 2011). En la neocorteza, las placas seniles se ubican en mayor proporción alrededor de las neuronas piramidales de las capas 3 y 5 (Mann, Yates & Marcyniuk, 1984), mientras que en el hipocampo, las placas seniles se ubican en mayor proporción sobre las neuronas piramidales del área CA1 (Jellinger, et al., 1991).

En la década de los 80's, se determinó que las placas seniles están constituidas principalmente, por aglomerados de un péptido conformado por las cadenas de 1-40, de 1-42 (Glennner & Wong, 1984; Masters et al., 1985) o de 17-42 (Glennner & Wong, 1984), de los aminoácidos de un péptido al que posteriormente se denominó β A (Masters et al., 1985).

Contrario a lo que se creía desde el caso descrito por Alois Alzheimer en 1907 (Pearson et al., 1985; Mann, Yates & Marcyniuk, 1985; Joachim, Morris & Selkoe, 1989; Braak & Braak, 1991; Möller & Graeber, 1998), la proporción de placas seniles en tejidos *post mortem* no son un buen correlato del declive cognoscitivo presentado por los pacientes con la EA antes de morir (Lue et al., 1999; Sperling et al., 2011; Carrillo et al., 2013). Esta afirmación deriva de la observación de placas seniles en cerebros *post mortem* de personas sin declive cognoscitivo alguno (Price et al., 2009; Sperling et al., 2013; Selkoe & Hardy, 2016). Sin embargo, hoy en día, mediante diversos métodos que detectan de forma indirecta la acumulación del $\beta_{A_{1-42}}$ en el cerebro, como la PET y la SPECT (Sperling & Johnson, 2013; Oukoloff et al., 2015), se ha determinado que la acumulación del $\beta_{A_{1-42}}$ en el cerebro, aunque no necesariamente en placas seniles, es el biomarcador que mejor predice el estado clínico de las personas con diagnóstico probable de la EA (Koivunen et al., 2008; Sperling & Johnson, 2013), inclusive en etapas preclínicas (Ji et al., 2015; Oukoloff et al., 2015).

OVILLOS NEUROFIBRILARES

Los ONF son depósitos intracelulares de la proteína τ en su forma hiperfosforilada (figura 3) (DeKosky, 2002; López & DeKosky, 2003). Los ONF son la forma más común de lesión intracelular, presentándose en una variedad de patologías que incluyen a la esclerosis lateral amiotrófica, a la enfermedad de Parkinson, a la enfermedad de Pick y a la EA (Delacourte & Blüee, 2000), así como durante el envejecimiento normal (Ball, 1977).

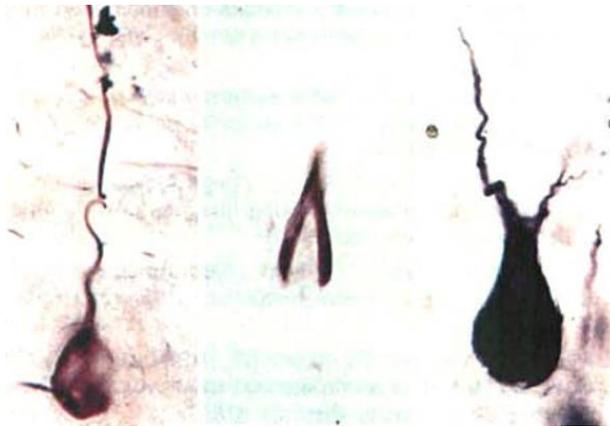


Figura 3. Ovillos neurofibrilares en neuronas del hipocampo teñidos con la técnica de Gallyas. Nótese que los ovillos neurofibrilares se ubican de forma intracelular y que abarcan la totalidad de la célula. Tomado de Braak & Braak (1991).

La proteína τ pertenece a la familia de Proteínas Asociadas a los Microtúbulos (MAP, por sus siglas en inglés), cuyo rol fisiológico principal es la estabilización de los microtúbulos, lo que permite el ensamble de los microtúbulos y el transporte intracelular (Delacourte & Blüee, 2000; Nisbet et al., 2015). En condiciones fisiológicas, la proteína τ interactúa con otras proteínas MAP, particularmente con heterodímeros de la α y β tubulinas, para ensamblar a los microtúbulos y regular el

transporte intracelular (Nisbet et al., 2015). En el cerebro adulto, la proteína τ se encuentra en mayor proporción en el axón y en el soma de las neuronas y en menor grado en el núcleo y en las dendritas (Liu & Götz, 2013). La proteína τ también se encuentra expresada en astrocitos y oligodendrocitos, principalmente en condiciones patológicas, como la parálisis supranuclear progresiva, la degeneración gangliónica corticobasal, la enfermedad de Pick y la EA (Chin & Goldman, 1996).

En la EA, la proteína τ se encuentra en un estado hiperfosforilado (Nisbet et al., 2015), lo que le permite autoensamblarse y formar oligómeros, fibrillas y eventualmente, ONF (Nisbet et al., 2015). El resultado de la agregación de la proteína τ en su estado hiperfosforilado es la desestabilización del ensamble de los microtúbulos, resultando en alteraciones en el transporte intracelular (Nisbet et al., 2015). La agregación de la proteína τ en su estado hiperfosforilado ocasiona alteraciones estructurales y funcionales en las mitocondrias, desencadenando el aumento en los niveles de calcio intracelular (DuBoff, Feany & Götz, 2013) y el estrés oxidativo (DuBoff, Feany & Götz, 2013), teniendo como consecuencia la apoptosis celular (Lloret et al., 2015).

Se han hipotetizado varios mecanismos moleculares por los que la proteína τ adquiere su estado hiperfosforilado (Nisbet et al., 2015; Lloret et al., 2015). Algunos autores han señalado que la hiperfosforilación de la proteína τ es inducida indirectamente por el βA_{1-42} en su estado soluble (Deshpande et al., 2006; Grueninger et al., 2010; Nisbet et al., 2015; Lloret et al., 2015; Selkoe & Hardy, 2016). El βA_{1-42} soluble tiende a depositarse en algunos organelos celulares, como el retículo endoplásmico, el aparato de Golgi y la mitocondria (Pagani & Eckert, 2011). En la mitocondria, el βA_{1-42} afecta la actividad de varias enzimas de la cadena transportadora de electrones, como el complejo IV, resultando en la sobreproducción de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) (Pagani & Eckert, 2011; DuBoff et al., 2013; Lloret et al., 2015). El estrés oxidativo crónico que desencadena la sobreproducción de ROS, conduce a la inhibición del Regulador de Calcineurina 1 (CRAN1, por sus siglas en inglés), permitiendo la fosforilación de la proteína τ mediante la activación de varias cinasas, como la Cinasa de la Glucógeno Sintasa 3 β (GSK3 β , por sus siglas en inglés) (Lloret et al., 2011). Por otro lado, el estrés oxidativo crónico también desencadena la activación de la MAP cinasa p38, que es un activador de la fosforilación de τ (Lloret et al., 2011; 2015).

En la EA, los ONF tienen un orden de aparición estereotipado (Braak et al., 2011). Comienzan a aparecer en las dendritas y somas de las neuronas de algunos núcleos del tallo cerebral, principalmente en el *locus coeruleus* (Braak & Del Tredici, 2004), para posteriormente observarse de forma progresiva en las neuronas piramidales del hipocampo y de las cortezas temporal mesial, entorrinal, frontal, insular, de asociación y sensoriales primarias (Delacourte & Blüee, 2000; Braak & Del Tredici, 2004; Braak et al., 2011). En la neocorteza, los ONF se ubican en mayor proporción en las neuronas piramidales de las capas 2 y 3

(Pearson et al., 1985). En los cerebros *post mortem* de pacientes diagnosticados con EA probable, la cantidad de ONF aumenta con la edad en todo el cerebro (Braak et al., 2011), no obstante, no parecen reflejar el estado cognoscitivo de las personas diagnosticadas con EA probable al momento de morir (Lue et al., 1999, Sperling et al., 2013).

OTRAS ALTERACIONES MACROESTRUCTURALES EN LA

EA

En los cerebros de pacientes diagnosticados con la EA probable, analizados *post mortem* o mediante IRM, se observa disminución en el peso del cerebro (Mann, Yates & Marcyniuk, 1985), en el grosor de la corteza cerebral (Mann, Yates & Marcyniuk, 1985) y en el volumen cerebral (Mann, Yates & Marcyniuk, 1985; Dhikav & Anand, 2007; Mueller et al., 2010; Sperling & Johnson, 2013). Estas alteraciones macroestructurales se han observado en mayor medida en estructuras temporales, como el hipocampo, el complejo amigdalino y la corteza entorrinal (Elgh et al., 2005; Appel et al., 2009; Sperling & Johnson, 2013; Nedelska et al., 2015). No obstante, las mismas se observan en todo el cerebro (Mann, Yates & Marcyniuk, 1985).

La disminución del volumen hipocampal, o atrofia hipocampal, puede ser observada desde etapas presintomáticas de la EA mediante IRM (Sperling & Johnson, 2013), y aumenta conforme la severidad de la patología progresa (Elgh et al., 2005). Es por ello que la atrofia hipocampal es considerada un biomarcador de la progresión de la EA (Elgh et al., 2005) (figura 4).

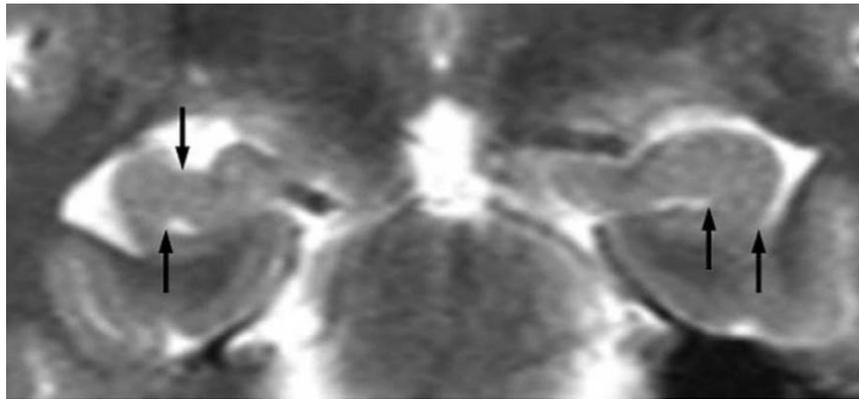


Figura 4. Imagen por resonancia magnética del hipocampo de un paciente con EA probable. Las flechas de la izquierda señalan el segmento entre el surco hipocampal y el cuerno temporal. Las flechas de la derecha señalan el grosor del hipocampo de forma perpendicular al cuerpo hipocampal. Nótese la atrofia del hipocampo izquierdo. Tomado de Elgh y colaboradores (2005).

Actualmente, estas alteraciones macroestructurales son consideradas como el evento final de los efectos citotóxicos del βA_{1-42} durante el curso natural de la EA (Jack et al., 2010; Nedelska et al., 2015; Selkoe & Hardy, 2016).

ALTERACIONES NEUROQUÍMICAS Y MICROESTRUCTURALES EN LA EA

Las alteraciones histopatológicas o macroestructurales en la EA, descritas anteriormente, son el resultado de cambios neuroquímicos y microestructurales inducidos principalmente por la sobreproducción del βA_{1-42} soluble (DeKosky, 2002; López & DeKosky, 2003; Coria-Balanzat, 2006). La alteración neuroquímica principal en la EA es el procesamiento anormal del βA (Hardy & Higgs, 1992; Hardy & Selkoe, 2002; Selkoe & Hardy, 2016). El proceso neuropatológico que desencadena la sobreproducción del βA_{1-42} se ha modelado en la llamada hipótesis de la cascada amiloide (Hardy & Higgs, 1992; Hardy & Selkoe, 2002; Selkoe & Hardy, 2016), la cual incluye una serie de cambios neuroquímicos y microestructurales en el cerebro, que incluyen la pérdida de las sinapsis, la inducción de astrocitosis y microgliosis, así como la neurodegeneración (Hardy & Selkoe, 2002; Selkoe & Hardy, 2016). Las alteraciones relacionadas al βA_{1-42} se describen a continuación.

PROCESAMIENTO ANORMAL DEL PÉPTIDO β -AMILOIDE

La generación del βA resulta de la hidrólisis de una proteína transmembranal llamada Proteína Precursora de Amiloide (APP, por sus siglas en inglés) (Weeson et al., 2011). La APP es miembro de una familia de proteínas transmembranales identificada en muchas especies, como el *C. elegans*, la mosca *Drosophila*, el pez cebra y la rana *Xenopus Laevis* (Zheng & Koo, 2011). Esta familia de proteínas se encuentra expresada ampliamente en el cerebro (Zheng & Koo, 2011), y está conformada por la APP, la Proteína 1 Tipo APP (APPLP1, por sus siglas en inglés), y la Proteína 2 Tipo APP (APPLP2, por sus siglas en inglés) (Zheng & Koo, 2011; Nhan, Chiang & Koo, 2015). Estas proteínas comparten varias secuencias de aminoácidos, pero la secuencia del βA sólo se encuentra en la APP (Zheng & Koo, 2011).

El rol fisiológico de la APP en condiciones no patológicas no es del todo conocido (Nhan, Chiang & Koo, 2015); sin embargo, se sabe que la APP participa en la formación y mantenimiento de las sinapsis y en la facilitación de la plasticidad sináptica y la división celular (Zheng & Koo, 2011; Nhan, Chiang & Koo, 2015). La expresión de la APP en la línea celular B103, la cual no expresa APP endógenamente, condujo a la protección contra la toxicidad inducida por el βA o por glutamato (Schubert & Behl, 1993), lo que ha llevado a pensar que la APP desempeña una función neuroprotectora en contra de la citotoxicidad del βA y el glutamato (Zheng & Koo, 2011; Nhan, Chiang & Koo, 2015)

El procesamiento de la APP es dividido en dos vías, la vía amiloidogénica y la vía no-amiloidogénica, que hacen referencia a la vía que conlleva a la producción del βA y a la que no, respectivamente (figura 5) (Zheng & Koo, 2011; Nhan, Chiang & Koo, 2015).

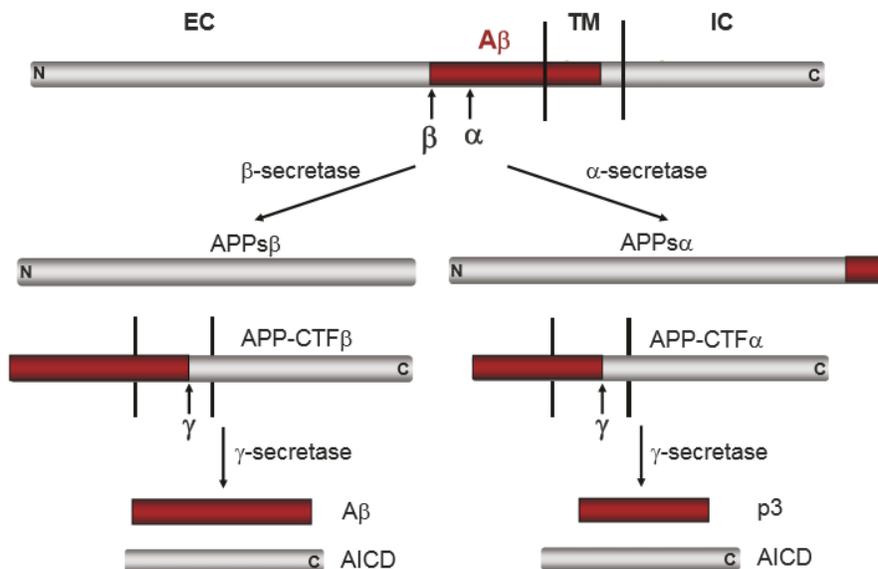


Figura 5. Procesamiento amiloidogénico y no-amiloidogénico de la APP. En la parte superior se encuentra la APP en su porción extracelular (EC), transmembranal (TM) e intracelular (IC). Las secretasas β y α hidrolizan a la APP formando α APP-soluble y β APP-soluble, respectivamente. A su vez, la γ -secretasa escinde a la β APP-soluble y a la α APP-soluble para formar los péptidos β A y AICD, y p3 y AICD, respectivamente. Tomado de Zheng y Koo (2011).

En la vía no-amiloidogénica, la APP es escindida por la acción de la α -secretasa, produciendo los péptidos α APP-soluble y C83 (Nhan, Chiang & Koo, 2015). A su vez, el α APP-soluble es escindido por la γ -secretasa generando el β A de cadena corta (17-42 aminoácidos) llamado p3 (debido a su masa atómica, que es de 3 kDa) y un polipéptido citoplasmático llamado Dominio Intracelular de Notch (AICD, por sus siglas en inglés) (Nhan, Chiang & Koo, 2015). Los péptidos producidos en la vía no-amiloidogénica son considerados benéficos para el funcionamiento neuronal, ya que se han relacionado con efectos tróficos (Zheng & Koo, 2011; Zheng & Joo, 2011). Sin embargo, el péptido p3 es un componente de las placas seniles (Gowing et al., 1994; Zheng & Koo, 2011), que se ha asociado con efectos citotóxicos y proinflamatorios (Nhan, Chiang & Koo, 2015).

Por otro lado, en la vía amiloidogénica, la APP es escindida por la β -secretasa (Hardy & Higgs, 1992; Hardy & Selkoe, 2002; Selkoe & Hardy, 2016), produciendo los péptidos β APP-soluble y C99 (Karran, Mercken & De Strooper, 2011; Weeson et al., 2011; Ow & Dunstan, 2014). Posteriormente, un complejo de proteínas conocido como γ -secretasa, que incluye a la Presenilina 1 (PSEN1, por sus siglas en inglés), y a la Presenilina 2 (PSEN2, por sus siglas en inglés), actúa sobre el β APP-soluble para producir los péptidos solubles βA_{1-40} ó βA_{1-42} y el péptido AICD (Gowing et al., 1994; Karran, Mercken & De Strooper, 2011; Zheng & Koo, 2011; Weeson et al., 2011; Ow & Dunstan, 2014). Los péptidos producidos en la vía amiloidogénica, específicamente el péptido citosólico AICD y los péptidos solubles β APP y β A, se han relacionado con una serie de eventos citotóxicos que incluyen

la apoptosis, la degeneración axonal, la sobreproducción del βA y la hiperfosforilación de la proteína τ (Zheng & Koo, 2011). Se ha propuesto que estos eventos citotóxicos son el resultado de la interacción de los péptidos AICD, βAPP y βA con diversas moléculas, tanto en la membrana plasmática (Lloret et al., 2015), como en el citoplasma (Lloret et al., 2015). Ya sea de manera directa o indirecta estos péptidos activan a la cinasa GSK-3 β (Zheng & Koo, 2011), al receptor de neurotrofina p75 (Nhan, Chiang & Koo, 2015) y a la caspasa Jcasp (Nhan, Chiang & Koo, 2015), los cuales han sido asociados con actividad proapoptótica (Nhan, Chiang & Koo, 2015).

En los pacientes con la EA familiar, el procesamiento de la APP se lleva a cabo preferencialmente mediante la vía amiloidogénica y ésto puede ser causado por mutaciones en alguno de los genes que codifican para las proteínas que intervienen en el metabolismo del βA (Weeson et al., 2011). Las mutaciones más comúnmente asociadas a la EA familiar se encuentran en los genes que codifican para la PSEN1, la PSEN2 y varias mutaciones en el gen de la APP (Coria-Balanzat, 2006; Weeson et al., 2011; Cacacc, Sleegers & Van Broeckhoven, 2016). Todas estas mutaciones conllevan al aumento del βA soluble en el espacio extracelular (Lue et al., 1999; Kamenetz et al., 2003). Una vez en el espacio extracelular, el βA soluble tiende a agregarse con otras moléculas del βA (Ow & Dunstan, 2014; Cacacc, Sleegers & Van Broeckhoven, 2016), formando dímeros, trímeros y oligómeros, hasta agregarse en placas seniles, en donde el βA adquiere su forma insoluble (Karran, Mercken & De Strooper, 2011).

Los niveles elevados de oligómeros del βA_{1-42} soluble se correlacionan con el estado clínico de la EA (Lue et al., 1999; Koivunen et al., 2008; Sperling & Johnson, 2013; Jang & Chung, 2016). En estudios *post mortem*, la concentración del βA_{1-42} soluble se correlaciona con la pérdida de las sinapsis y con el estado clínico de los pacientes diagnosticados con EA probable (Lue et al., 1999; Näslund et al., 2000). Esto se ha corroborado en pacientes vivos con la EA probable, en donde la concentración del βA_{1-42} soluble en LCR disminuye conforme aumenta el declive cognoscitivo (Sperling et al., 2011), incluso desde la etapa preclínica (Ji et al., 2015; Oukoloff et al., 2015). Es por ello, que la acumulación del βA_{1-42} en el cerebro es considerado el biomarcador más sensible a la progresión de la EA (Sperling et al., 2011; Selkoe & Hardy, 2016).

HIPÓTESIS DE LA CASCADA AMILOIDE

La hipótesis de la cascada amiloide, inicialmente postulada por Hardy y Higin (1992), y posteriormente modificada por Hardy y Selkoe (2002), postula que la sucesión de procesos patológicos en el curso temporal de la EA es iniciada por el incremento de oligómeros del βA_{1-42} en el cerebro (figura 6).

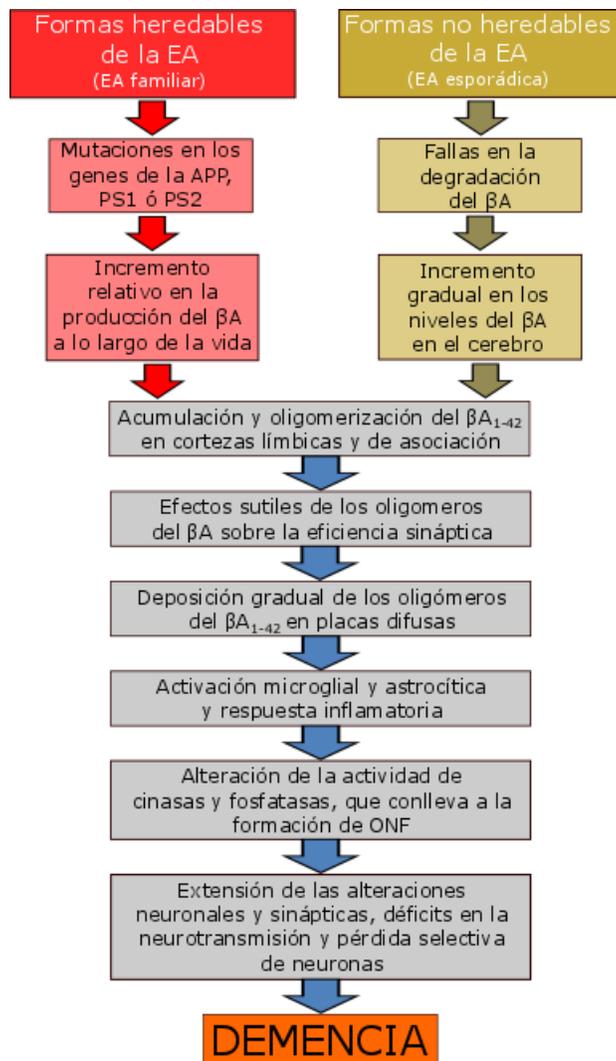


Figura 6. Secuencia de las alteraciones cerebrales más significativas por las que cursa la EA, propuesta por la hipótesis de la cascada amiloide. Modificado de Selkoe & Hardy (2016).

De acuerdo a la hipótesis de la cascada amiloide, el proceso patológico de la EA comienza con un evento desencadenante que aumenta la producción del βA_{1-42} (Hardy & Selkoe, 2002; Selkoe & Hardy, 2016). En la EA familiar, la mutación de los genes que codifican para la APP, la PS1 y/o la PS2 son el evento desencadenante de la sobreproducción del βA_{1-42} (Karran, Mercken & De Strooper, 2011). Por otro lado, en la EA esporádica, no se sabe cómo es iniciada la sobreproducción del βA_{1-42} (Selkoe & Hardy, 2016). Sin embargo, se ha hipotetizado que algunas alteraciones de la salud a lo largo de la vida de estas personas tienen una influencia significativa sobre la aparición de la EA (Daulatzai, 2015). Los principales problemas de salud relacionados con la aparición de la EA esporádica incluyen a la obesidad, a las dietas hipercalóricas, a la desnutrición, a la falta de sueño, al consumo de alcohol, al sedentarismo, a alteraciones respiratorias, como la Apnea Obstructiva del Sueño (OSA, por sus siglas en

inglés) (Daulatzai, 2015; Musiek, Xiong & Holtzman, 2015), y a factores ambientales, como los niveles altos de contaminación (Calderón-Garcidueñas et al., 2004; Underwood, 2017). Todas estas alteraciones de la salud tienen efectos crónicos sobre el sistema nervioso central, como la degeneración de las neuronas y las células gliales (Daulatzai, 2015; Musiek, Xiong & Holtzman, 2015), las respuestas inflamatorias (Daulatzai, 2015), la isquemia (Daulatzai, 2015), el estrés oxidativo (Daulatzai, 2015), la atrofia hipocámpal y el incremento del βA_{1-42} en el cerebro (Daulatzai, 2015; Musiek, Xiong & Holtzman, 2015).

Posterior al evento desencadenante de la sobreproducción del βA_{1-42} soluble, éste tiende a liberarse al espacio extracelular al ocurrir actividad sináptica (Cirrito et al., 2005), principalmente en estructuras mesiales del lóbulo temporal (Bero et al., 2011), para posteriormente agregarse hasta formar placas seniles (Selkoe & Podlisny, 2002; Tu et al., 2014). En las fases intermedias del proceso de agregación, se generan los oligómeros del βA_{1-42} soluble que interactúan con múltiples proteínas gliales, vasculares y neuronales (Selkoe & Hardy, 2016), conllevando a la disfunción de estas células y a la neurodegeneración (Selkoe & Hardy, 2016).

En cerebros *post mortem* de personas diagnosticadas con la EA posible, se presenta una astrogliosis marcada cerca de las placas seniles (Avila-Muñoz & Arias, 2014), así como depósitos intracelulares del βA en astrocitos y cambios morfológicos en los mismos (Nagele et al., 2003). Los astrocitos, ante la exposición a oligómeros del βA_{1-42} soluble, liberan moléculas proinflamatorias, como la Interleucina 1 β (IL-1 β), el Óxido Nítrico (NO, por sus siglas en inglés) y el Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α , por sus siglas en inglés) (Avila-Muñoz & Arias, 2014), lo que contribuye a la neurodegeneración en la EA.

En condiciones fisiológicas, el βA es degradado por los astrocitos mediante la actividad de tres enzimas: la Neprilisina (NEP), la Enzima Degradadora de Insulina (IDE, por sus siglas en inglés) y la Metaloproteasa de la Matriz 9 (MMP-9, por sus siglas en inglés) (Avila-Muñoz & Arias, 2014). En modelos transgénicos de la EA que sobreproducen el βA_{1-42} , se ha observado que los niveles de la NEP se encuentran reducidos en los astrocitos (Apelt et al., 2003). Además, se observa una reducción en los Transportadores de Aminoácidos Excitadores 1 y 2 (EAAT1 y EAAT2, por sus siglas en inglés) (Karran, Mercken & De Strooper, 2011), lo que sugiere que, en la EA, los astrocitos promueven la acumulación del βA extracelular (Avila-Muñoz & Arias, 2014), así como el aumento del glutamato disponible en el espacio extrasináptico (Tu et al., 2014).

Por otro lado, el βA también tiene efectos sobre las células microgliales (Avila-Muñoz & Arias, 2014; Doens & Fernández, 2014; Xu, He & Bai, 2015). En condiciones fisiológicas, la microglía regula la cantidad del βA_{1-42} extracelular mediante la fagocitosis del péptido (Doens & Fernández, 2014; Xu, He & Bai, 2015). En la EA, la microglía libera proteínas proinflamatorias (Doens & Fernández, 2014; Xu, He & Bai, 2015), que incluyen a la IL-1 β , a la interleucina 6

(IL-6), a la interleucina 8 (IL-8), al $\text{TNF}\alpha$, a las ROS y a las especies reactivas de nitrógeno, induciendo apoptosis mediante la activación de la caspasa 3 (Xu, He & Bai, 2015). La interacción de los oligómeros del βA_{1-42} con la microglía se establece a través de varios receptores microgliales, entre los que destacan los Receptores Tipo Toll 2 y 4 (TLR2 y TLR4, por sus siglas en inglés), los receptores *scavenger* tipo 1 y los receptores CD14, CD36 y CD47 (Liu et al., 2012; Xu, He & Bai, 2015; Heppner et al., 2015; Zuroff et al., 2017)

En cerebros *post mortem* de pacientes diagnosticados con la EA probable, las placas seniles y los ONF se ubican también en los vasos sanguíneos cerebrales (Merlini, Wanner & Nitsch, 2016), produciendo alteraciones en la estructura y función de la barrera hematoencefálica (Xu, He & Bai, 2015; Merlini, Wanner & Nitsch, 2016). En modelos transgénicos de la EA, se observa que el músculo liso que reviste a las paredes de los vasos sanguíneos se encuentra adelgazado en el hipocampo, en una forma dependiente de la edad (Merlini, Wanner & Nitsch, 2016). Lo anterior, parece ser producido por la interacción del βA_{1-42} con las metaloproteasas de la matriz MMP2 y MMP9 (Merlini, Wanner & Nitsch, 2016), provocando la reducción de la oxigenación cerebral y posteriormente isquemia cerebral (Scuteri et al., 2011).

La interacción de los oligómeros del βA_{1-42} con las neuronas se lleva a cabo principalmente a través de su acoplamiento a los receptores nicotínicos $\alpha 7$ y a los glutamatérgicos NMDA (Karran, Mercken & De Strooper, 2011), así como mediante la formación de poros en la membrana plasmática de las neuronas (Nisbet et al., 2015). Esta interacción desencadena una cascada de eventos citotóxicos que incluyen a la elevación del calcio intracelular (DuBoff, Feany & Götz, 2013; Gavello et al., 2016), a la internalización de los receptores glutamatérgicos tipo AMPA (Tu et al., 2014), a la despolimerización de la F-actina (Nisbet et al., 2015), a la fosforilación de la proteína τ (Nisbet et al., 2015) y a su posterior agregación en ONF (Tu et al., 2014; Nisbet et al., 2015).

El paso final postulado por la hipótesis de la cascada amiloide incluye la reducción de las sinapsis y la muerte neuronal por apoptosis (Tu et al., 2014; Selkoe & Hardy, 2016). En los cerebros *post mortem* de personas diagnosticadas con la EA probable, se observa una marcada reducción de las sinapsis y muerte neuronal por apoptosis (Koliastos et al., 2006; Perez-Cruz et al., 2011; Scheff et al., 2011; Scheff et al., 2015; Mufson et al., 2015; Tu et al., 2014). Ambos son marcadores de neurodegeneración y se relacionan con el declive cognoscitivo de los pacientes al momento de su muerte (Tu et al., 2014). Además, estos marcadores de neurodegeneración son observados en las mismas regiones cerebrales asociadas con este declive cognoscitivo, como las cortezas frontal, parietal, temporal y cingulada (Koliastos et al., 2006; Mueller et al. 2010), y en mayor medida, en el hipocampo (DeKosky, 2002; López & DeKosky, 2003; Koliastos et al., 2006; Coria-Balanzat, 2006; Mueller et al. 2010; Tu et al., 2011).

De acuerdo con la hipótesis de la cascada amiloide, los cambios neuroquímicos y microestructurales mencionados son la causa de las alteraciones en la función de los circuitos neuronales y en las funciones cognitivas características de los pacientes con la EA (Hardy & Selkoe, 2002; Karran, Mercken & De Strooper, 2011; Tu et al., 2014).

EFFECTO DEL PÉPTIDO BETA AMILOIDE (βA_{1-42}) SOBRE LA ACTIVIDAD DE LOS CIRCUITOS NEURONALES

Los mecanismos celulares por los que el βA_{1-42} tiene sus efectos neurotóxicos han sido extensivamente estudiado a nivel de las sinapsis y las neuronas individuales (Karran, Mercken & De Strooper, 2011; Tu et al., 2014; Lloret et al., 2015). Sin embargo, tomando en cuenta que las funciones cerebrales complejas, tales como la cognición, el lenguaje y la conciencia, son el resultado de la interacción entre múltiples circuitos neuronales (Escera, 2004; Buzsaki & Watson, 2012; Carrillo-Reid et al., 2016), entonces es preciso abordar el estudio de los efectos neurotóxicos del βA a partir de la dinámica de los circuitos neuronales (Herrmann & Demiralp, 2005; Peña et al., 2006; Sperling et al., 2010; Gleichmann & Mattson, 2010; D'Amelio & Rossini, 2012; Peña-Ortega, 2013; Chen et al., 2014; Moretti, 2014).

Los pacientes con la EA y los modelos experimentales de esta enfermedad cursan con actividad aberrante de los circuitos neuronales (D'Amelio & Rossini, 2012), la cual se ve reflejada en alteraciones del electroencefalograma (EEG) (Brenner, Reynolds & Ulrich, 1988; D'Amelio & Rossini, 2012), y de la conectividad funcional evaluada con el EEG y la IRMf (Calderón-González et al., 2004; Hermann & Demiralp, 2005; Moretti, 2014; Sperling et al., 2010; Gardini et al., 2015). Estas alteraciones se describen a continuación.

ESTUDIOS CLÍNICOS

Los pacientes con la EA exhiben alteraciones del EEG (D'Amelio & Rossini, 2012). La inspección visual del EEG de pacientes con la EA probable muestra un enlentecimiento difuso, comparado con las personas sanas (Brenner, Reynolds & Ulrich, 1988; Ezquerro et al., 1999; Amatniek et al., 2006). Este enlentecimiento difuso en los pacientes con la EA se relaciona con un aumento en las oscilaciones lentas en las bandas de frecuencia delta (1-4 Hz) y theta (4-8 Hz) (Brenner, Reynolds & Ulrich, 1988). Además, la frecuencia máxima de las derivaciones parasagitales del sistema 10-20 (C3-P3, P3-O1, C4-P4 y P4-O2), se encuentra disminuida en los pacientes con la EA probable (~10 Hz), comparados con personas sanas (~12 Hz). También se observa una disminución en la frecuencia del ritmo dominante de las derivaciones posteriores (P3-O1 y P4-O1) en los pacientes con la EA (~10 Hz) comparados con personas sanas (~9 Hz) (Brenner, Reynolds & Ulrich, 1988).

El análisis cuantitativo del EEG mediante la Transformada Rápida de Fourier (FFT, por sus siglas en inglés), es un método clásico para el análisis de señales

biomédicas (Urrestarazu & Iriarte, 2005). La FFT consiste en la descomposición de la señal del EEG en la distribución de la amplitud, o poder espectral, de cada uno de sus componentes de frecuencia (Urrestarazu & Iriarte, 2005; Buzsáki & Watson, 2012). Utilizando el análisis del EEG en el dominio de la frecuencia, se ha observado que los pacientes con la EA tienen menor poder espectral en las bandas de frecuencia alfa (8-13 Hz) y beta (13-20 Hz) y mayor poder espectral en las bandas delta (0.5-4 Hz) y theta (1-4 Hz), comparados con personas con MCI y con sujetos sanos (Bennys et al., 2001; Hatz et al., 2015). El aumento en la potencia espectral en las bandas delta y theta correlaciona con un peor desempeño cognoscitivo, reflejado en puntajes bajos en el MMSE, en tareas de aprendizaje y memoria verbal y visual, así como en la habilidad motora y la producción del lenguaje verbal (Bennys et al., 2001; Hatz et al., 2015). Por otro lado, estas alteraciones en el EEG son progresivas, observándose aumento de estas alteraciones en el EEG desde la etapa prodrómica que sigue aumentando hasta el diagnóstico de la EA (Poil et al., 2013).

Los pacientes con la EA también presentan alteraciones en la coherencia de la actividad cortical (Calderón-González et al., 2004; Hermann & Demiralp, 2005; Moretti, 2014). La coherencia del EEG es una medida de la asociación o del acoplamiento entre dos señales del EEG en el dominio de la frecuencia (Thatcher et al., 2004). Las personas con la EA, muestran una disminución de la coherencia cortical intra e interhemisféricas de forma difusa, en todas las bandas de frecuencia (Calderón-González et al., 2004; Hermann & Demiralp, 2005; Moretti, 2014).

Investigaciones con IRMf, han mostrado que los pacientes con la EA presentan menor conectividad funcional entre varias áreas cerebrales durante el estado de reposo (Allen et al., 2007; Chen et al., 2014; Joo, Lim & Lee, 2016). Lo mismo ocurre durante tareas de memoria (Sperling et al., 2010). Las estructuras que presentan mayor afectación en la conectividad funcional son el hipocampo y la corteza cerebral (Allen et al., 2007; Sperling et al., 2010; Qi et al., 2010; Chen et al., 2014). Comparados con personas sanas, los pacientes con la EA presentan menor conectividad funcional entre las cortezas frontal, prefrontal y parietal con regiones temporales, como el hipocampo y el giro parahipocampal (Chen et al., 2014). Por otro lado, estos pacientes también muestran mayor conectividad funcional entre estructuras temporales y varias áreas corticales, como las cortezas cingulada posterior, la frontal superior, la prefrontal dorsolateral, la frontal inferior y el giro paracentral (Sperling et al., 2010; Chen et al., 2014; Gardini et al., 2015), lo que sugiere la existencia de actividad compensatoria que también contribuye al deterioro cognoscitivo de los pacientes con la EA (Sperling et al., 2010; Gardini et al., 2015).

ESTUDIOS EXPERIMENTALES

El efecto del βA_{1-42} sobre la actividad de los circuitos neuronales se ha abordado experimentalmente utilizando una variedad de modelos transgénicos y no transgénicos que reproducen gran parte de la fisiopatología observada en los

pacientes con la EA (Peña-Ortega, 2013; Cavanaugh, Pippin & Barnard, 2014; Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015). La utilización de los modelos experimentales animales en la investigación científica básica surge de la necesidad de entender los mecanismos genéticos, moleculares, celulares, estructurales y conductuales que subyacen a las alteraciones presentadas en los pacientes con la EA, para permitir el desarrollo de tratamientos enfocados en prevenir o detener la progresión de la patología (Dewachter et al., 2000; Goate & Hardy, 2012; Cavanaugh, Pippin & Barnard, 2013; Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015).

Los modelos transgénicos de la EA son animales, principalmente ratones, que expresan alguna mutación genética que conlleva a la presentación de alteraciones similares a las que muestran los pacientes con la EA (Cavanaugh, Pippin & Barnard, 2013; Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015), como la sobreproducción del βA_{1-42} , la deposición de las placas seniles, los ONF, la astrogliosis, la atrofia cerebral y el deterioro cognoscitivo (figura 7) (Walker, 1997; Dewachter et al., 2000; Cavanaugh, Pippin & Barnard, 2013; Gurevicius, Lipponen & Tanila, 2013; Allemang-Grand et al., 2014). Las mutaciones genéticas que se asocian a los fenotipos tipo Alzheimer son muy variadas, por lo que existe una gran cantidad de modelos transgénicos de esta enfermedad (Dewachter et al., 2000; Cavanaugh, Pippin & Barnard, 2013). Gran parte de los modelos transgénicos de la EA contienen alguna mutación en el gen que codifica para la APP (Cavanaugh, Pippin & Barnard, 2013). El descubrimiento de tres mutaciones en el gen que codifica para la APP humana y que se asociaron con el desarrollo de la EA familiar, llevaron a su expresión en líneas de animales de laboratorio (Goate & Hardy, 2012; Cavanaugh, Pippin & Barnard, 2013). Estas mutaciones son la detectada en una familia de Suecia (K670N/M671L), la detectada en una familia de Londres (V717I) y la detectada en una familia de Indiana (V717F) (Goate & Hardy, 2012; Cavanaugh, Pippin & Barnard, 2013). Asimismo, existen animales transgénicos que expresan mutaciones en genes que codifican para otras proteínas asociadas al desarrollo de la EA, como la proteína τ , la PS1, la β secretasa y combinaciones de estas (Cavanaugh, Pippin & Barnard, 2013).

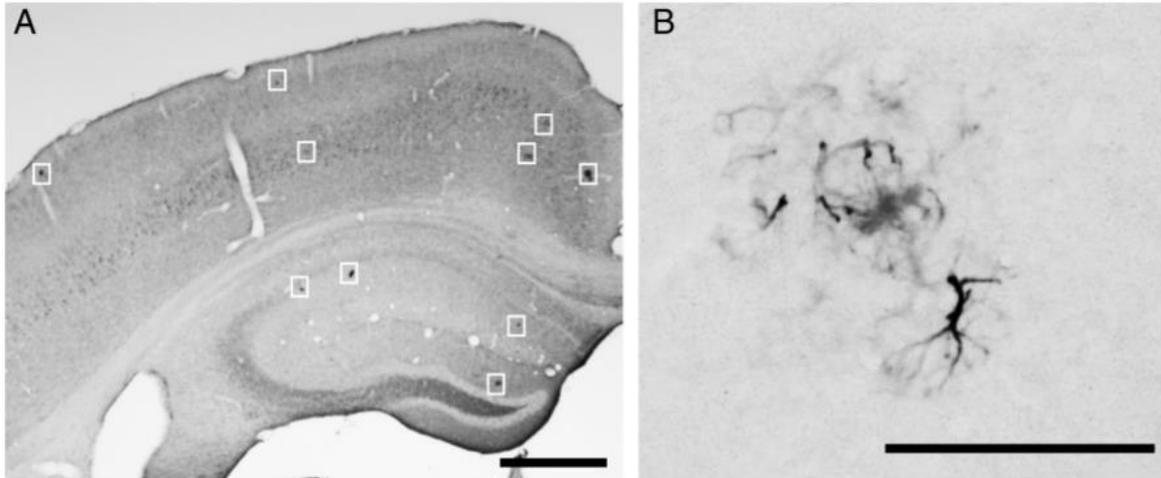


Figura 7. Corte coronal del hipocampo dorsal y de la neocorteza cerebral de un ratón transgénico APdE9 con 17 semanas de edad. A. Tinción de placas seniles difusas (cuadros) mediante el anticuerpo W02. Escala: 1.0 mm. B. Astrogliosis alrededor de las placas seniles, teñida con anticuerpos anti-GFAP y con Congo *red*. Escala: 100 μ m. Tomado de Gurevicius, Lipponen & Tanila (2013).

Los modelos transgénicos de la EA exhiben alteraciones electrográficas similares a las presentadas en los pacientes con la EA (Wang et al., 2002), que se encuentran asociadas con el aumento en la concentración del βA_{1-42} en estructuras del lóbulo temporal, como el hipocampo y la corteza entorrinal (Wang et al., 2002). Por ejemplo, se ha reportado que el poder espectral de la actividad oscilatoria espontánea se encuentra disminuida en estos animales (Wang et al., 2002; Weeson et al., 2011b; Platt et al., 2011; Verret et al., 2012; Siwek et al., 2015). Estas alteraciones electrográficas se han reportado principalmente en el hipocampo, el bulbo olfatorio, el tálamo y las cortezas prefrontal, frontal, parietal, motora primaria y piriforme (Wang et al., 2002; Weeson et al., 2011; Platt et al., 2011; Schneider et al., 2014; Siwek et al., 2015). Estos animales muestran un incremento en el poder espectral de las oscilaciones en las bandas de frecuencia subdelta (0.1-0.5 Hz) (Schneider et al., 2014), delta (0.5-5 Hz) y theta (5.9-8.5 Hz) (Platt et al., 2011; Gurevicius, Lipponen & Tanila, 2013; Born et al., 2014) y una disminución en las bandas de frecuencia alfa (9-14 Hz), beta (13-38 Hz) y gamma (>38 Hz) (Platt et al., 2011; Schneider et al., 2014).

Contrario a lo observado en pacientes con la EA, varios autores han reportado que los modelos experimentales de la EA también muestran un incremento en la excitabilidad de los circuitos neuronales, reflejado en un aumento del poder espectral en las bandas de frecuencia alfa (10-16 Hz), beta (14-23 Hz) y gamma (28-40 Hz), en una forma dependiente de la edad de los animales (Wang et al., 2002; Weeson et al., 2011; Verret et al., 2012; Gurevicius, Lipponen & Tanila, 2013). En este sentido, algunos autores han reportado que la banda theta (4-6 Hz) disminuye conforme aumenta la edad de estos animales (Wang et al., 2002; Weeson et al., 2011; Schneider et al., 2014; Siwek et al., 2015), mientras que otros autores han observado que esta banda de frecuencia aumenta (Born et al., 2014).

Por otro lado, estos animales muestran un aumento en la coherencia entre el bulbo olfatorio y la corteza piriforme, en las bandas de frecuencia beta (14-23 Hz) y gamma (28-40 Hz) (Weeson et al., 2011b). Este incremento del poder espectral en las bandas de frecuencia rápidas y el aumento en la conectividad de los circuitos neuronales, sugiere la existencia de actividad compensatoria que de alguna forma contribuye al deterioro cognoscitivo observado en los modelos transgénicos de la EA (Platt et al., 2011) y que son el reflejo de la reconfiguración de los circuitos neuronales hacia un estado de hiperexcitabilidad (Minkeviciene et al. 2009; Palop et al., 2007; Verret et al., 2012).

Adicionalmente, se ha observado que los modelos transgénicos de la EA tienen aumentada la duración, y disminuidos el poder espectral y la frecuencia dominante, del ritmo theta hipocampal tipo II sensible a atropina, evocado por la estimulación eléctrica del núcleo *pontis oralis* del tallo cerebral o por la estimulación sensorial en animales anestesiados con uretano (Siwek et al., 2015; Scott et al., 2016). El ritmo theta hipocampal es un patrón electrográfico que se ha asociado a una gran variedad de estados conductuales y cognoscitivos (O'Keefe & Nadel, 1978), entre los que destaca la codificación de la memoria espacial (Buzsáki, 2002), por lo que la alteración de este ritmo podría ser la causa del deterioro en la memoria y en el aprendizaje observados en los modelos transgénicos y no transgénicos de la EA (Gutiérrez-Lerma, Ordaz & Peña-Ortega, 2013).

En preparaciones *in vitro*, los modelos transgénicos de la EA muestran alteraciones en la excitabilidad de los circuitos neuronales, reflejándose en la inhibición de la Potenciación a Largo Plazo (LTP, por sus siglas en inglés) y de la facilitación por pulsos pareados en el hipocampo (Platt et al., 2011). Estos dos marcadores de plasticidad sináptica disminuyen conforme aumenta la edad de estos animales y se encuentran asociados al deterioro de la memoria y del aprendizaje observados en estos animales (Platt et al., 2011),

Las alteraciones electrográficas de los modelos transgénicos de la EA podrían estar relacionadas con la reconfiguración de los microcircuitos neuronales excitatorios (Minkeviciene et al. 2009; Palop et al., 2007; Verret et al., 2012; Palop & Mucke, 2016). A este respecto, mediante el uso de técnicas electrofisiológicas, se ha observado que las neuronas piramidales corticales e hipocampales de los modelos transgénicos de la EA muestran alteraciones en sus propiedades eléctricas pasivas, reflejado en una disminución de la capacitancia de su membrana celular (Tamagnini et al., 2015) y en una disminución del potencial de membrana en reposo (Minkeviciene et al. 2009), éste último relacionado con una mayor excitabilidad neuronal en respuesta a la estimulación presináptica (Minkeviciene et al. 2009). De la misma forma, algunas propiedades activas de la membrana de las neuronas se ven alteradas en los animales transgénicos de la EA (Tamagnini et al., 2015).

Aunado a lo anterior, las alteraciones electrográficas de los modelos transgénicos de la EA también podrían estar relacionadas con la reconfiguración de los

microcircuitos neuronales inhibitorios (Palop et al., 2007; Palop & Mucke, 2016), como se ha observado en el hipocampo de los modelos transgénicos de la EA, en donde se han reportado brotes ectópicos de axones de interneuronas GABAérgicas que expresan neuropéptido Y y calbindina en las fibras musgosas y en las células granulares del giro dentado (Palop et al., 2007; Verret et al., 2012). Asimismo se ha observado un incremento en la inmunoreactividad de subpoblaciones de interneuronas GABAérgicas que expresan calbindina, calretinina y parvalbúmina en el hipocampo (Verdaguer et al., 2015). Por otro lado, las interneuronas GABAérgicas inmunoreactivas a parvalbúmina muestran niveles reducidos del Canal de Sodio Dependiente de Voltaje tipo 1.1 (Nav 1.1, por sus siglas en inglés) y un aumento del Nav 1.6 (Wang et al., 2016), lo cual se relacionó con la disminución en el potencial de membrana en reposo (Verret et al., 2012; Wang et al., 2016), con la disminución de la amplitud y frecuencia de las corrientes postsinápticas excitatorias e inhibitorias de estas interneuronas (Verret et al., 2012; Wang et al., 2016) y con el incremento en la frecuencia de los potenciales de acción evocados por estimulación aferente en las neuronas piramidales (Wang et al., 2016).

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE OLIGÓMEROS DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA DE LOS CIRCUITOS NEURONALES EN PREPARACIONES *IN VITRO* E *IN VIVO*

La utilización de los modelos transgénicos de la EA para estudiar los mecanismos que subyacen a esta enfermedad presenta varias limitaciones, ya que no proveen de forma precisa la relación estructural y temporal entre la patología y las alteraciones conductuales, cognitivas y de circuitos neuronales específicos que presentan estos animales (Weeson et al., 2011). Para ello, se ha utilizado alternativamente la administración de oligómeros del βA_{1-42} directamente sobre el tejido nervioso para investigar sus efectos sobre la actividad eléctrica de los circuitos neuronales, la conducta y la cognición de los animales en preparaciones *in vitro* e *in vivo* (Peña et al., 2006; D'Amelio & Rossini, 2012; Peña-Ortega, 2013; Alvarado-Martínez, Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2013; Salgado-Puga, Prado-Alcalá & Peña-Ortega, 2015).

La aplicación *in vitro* de oligómeros del βA_{1-42} induce efectos depresores sobre la actividad oscilatoria poblacional (Balleza-Tapia et al., 2010; Peña et al., 2010; Alvarado-Martínez, Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2013). En rebanadas de hipocampo, la aplicación aguda del βA_{1-42} o del βA_{25-35} induce la reducción del poder espectral en la banda de 1-60 Hz, en una forma dependiente de la concentración del βA_{1-42} y de la edad de los animales, observándose mayor reducción de la potencia espectral conforme se aumenta la concentración del βA_{1-42} y la edad de los animales (Balleza-Tapia et al., 2010; Peña et al., 2010). En el bulbo olfatorio, la aplicación *in vitro* de oligómeros del βA_{1-42} produce la reducción del poder espectral de la capa granular en las bandas de frecuencia theta (2-12 Hz), beta (13-35 Hz) y gamma (35-50 Hz) (Alvarado-Martínez, Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2013). Este efecto es dependiente de la concentración del βA_{1-42}

aplicado (Alvarado-Martínez, Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2013). La aplicación *in vitro* de oligómeros del βA_{1-42} también induce la disminución de la frecuencia y amplitud de los potenciales postsinápticos espontáneos y de las oscilaciones subumbrales de las neuronas piramidales del área CA1 (Balleza-Tapia et al., 2010; Peña et al., 2010; Isla, Vázquez-Cuevas & Peña-Ortega, 2016). Adicionalmente, la aplicación del βA_{1-42} induce la reducción de neuronas coactivas durante la actividad espontánea (Peña et al., 2010), de la transmisión sináptica del hipocampo (Peña et al., 2010) y de la inhibición de la LTP, en rebanadas y en cultivos organotípicos de neuronas de hipocampo (Jo et al., 2011; Shipton et al., 2011). Inclusive, la aplicación de los péptidos βA_{25-35} o βA_{1-42} en rebanadas de hipocampo, a las que previamente se les indujo farmacológicamente actividad oscilatoria, resulta en la reducción del poder espectral de la actividad hipocampal, en la banda de frecuencia de 1-60 Hz (Adaya-Villanueva et al., 2010). Estos resultados indican que el efecto agudo del βA es deprimir la actividad espontánea de los circuitos neuronales, lo cual se relaciona con el enlentecimiento del EEG en las personas con la EA desde la etapa prodrómica de la enfermedad (Poil et al., 2013).

Curiosamente, la aplicación *in vitro* del βA_{1-42} en su estado fibrilar, pero no en su estado oligomérico, provoca una disminución del potencial de membrana en reposo y disminuye el umbral de despolarización de neuronas piramidales corticales (L2/L3) y de neuronas granulares del giro dentado en rebanadas de cerebro de ratones transgénicos que sobreexpresan el βA_{1-42} (Minkeviciene et al. 2009), además de inducir espigas poblacionales con mayor amplitud en respuesta a la estimulación presináptica (Minkeviciene et al. 2009), indicando que el βA_{1-42} también induce un aumento en la excitabilidad en los circuitos neuronales previamente expuestos al βA_{1-42} .

Por otro lado, la aplicación *in vivo* de oligómeros del βA_{1-42} de forma intracerebroventricular produce la inhibición de la LTP hipocampal *in vivo*, diez minutos después de la administración del βA (Walsh et al., 2002). Después de siete días de la administración uni y bilateral de los péptidos βA_{25-35} o βA_{1-42} , en el ventrículo lateral o en la cisterna magna, se observa la reducción de la potencia de la actividad espontánea del hipocampo y de la actividad theta hipocampal evocada por estímulos sensoriales, en ratas anestesiadas con uretano (Peña et al., 2010; Peña-Ortega & Bernal-Pedraza, 2012).

La administración *in vivo* del βA_{1-42} induce alteraciones cognitivas y conductuales. Tres semanas después de la administración intrahipocampal bilateral del βA_{1-42} , se observa un deterioro en la memoria contextual medida con la prueba de evitación inhibitoria, 48 horas después de la sesión de entrenamiento (Salgado-Puga, Prado-Alcalá & Peña-Ortega, 2015), lo que indica que el incremento en la concentración del βA_{1-42} en el cerebro es suficiente para inducir alteraciones en la memoria a largo plazo. Asimismo, tres semanas después de la administración intrahipocampal bilateral de oligómeros del βA_{1-42} , la conducta innata de enterramiento de los roedores se ve aumentada, lo que sugiere un aumento en

conductas tipo ansiosas (Salgado-Puga, Prado-Alcalá & Peña-Ortega, 2015). Por otro lado, la administración intrabulbar bilateral de oligómeros del βA_{1-42} produce la pérdida de la olfacción, a partir de la segunda semana de haberse administrado (Alvarado-Martínez, Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2013).

De la misma forma, la administración *in vivo* de oligómeros del βA_{1-42} no produce atrofia hipocampal (Salgado-Puga, Prado-Alcalá & Peña-Ortega, 2015), pero si la deposición del βA_{1-42} en agregados extracelulares que simulan placas seniles (Alvarado-Martínez, Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2013). Tres semanas después de la administración intrahipocampal bilateral del βA_{1-42} , no se observan alteraciones en el área de las capas piramidal y granular del hipocampo (Salgado-Puga, Prado-Alcalá & Peña-Ortega, 2015), indicando que la administración *in vivo* del βA no afecta la integridad hipocampal. Por otro lado, cuatro semanas después de la administración intrabulbar del βA_{1-42} , se observa la aparición de agregados extracelulares que simulan placas seniles, teñidas con Rojo de Tiazina (Alvarado-Martínez, Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2013). Como ya se mencionó, muchas de las alteraciones en los circuitos neuronales producidas por el βA pudieran derivar en la inducción de estados de hiperexcitabilidad que afectan la función normal de los mismos (Minkeviciene et al. 2009).

CRISIS EPILÉPTICAS EN LA EA

La aparición de crisis epilépticas en pacientes con la EA ha sido evidente desde los primeros pacientes descritos por el Dr. Alois Alzheimer (Möller & Graeber, 1998). Sin embargo, recientemente, las crisis epilépticas han comenzado a ser consideradas como un signo importante en la progresión de la patología de Alzheimer (Born, 2015; Hováth et al., 2016).

Antes de abordar los datos clínicos y experimentales que dieron lugar a la relación entre la epilepsia y la EA, se describirán las características clínicas y neuropatológicas de la epilepsia.

DEFINICIÓN DE EPILEPSIA

La epilepsia es una de las enfermedades neurológicas crónicas más comunes, presentándose en aproximadamente 50 millones de personas en el mundo (Organización Panamericana de la Salud, 2011; Organización Mundial de la Salud, 2016), y es uno de los problemas de salud pública internacional más importantes (Organización Panamericana de la Salud, 2011),

Clínicamente, la epilepsia es caracterizada por la manifestación de crisis espontáneas y recurrentes (CER) (Fisher et al., 2014). La aparición de una crisis espontánea aumenta el riesgo de exhibir otra crisis espontánea en 40-52% (Berg, 2010; Fisher et al., 2014), por lo que la ocurrencia de la primera crisis espontánea es un evento incluido en el desarrollo de CER de forma crónica, es decir, en el desarrollo de la epilepsia (Fisher et al., 2014; Pitkänen et al., 2015). En personas sanas, la incidencia de CER aumenta con la edad (Leppik et al., 2006; Cloyd et al.,

2006), y en mayor proporción, la etiología se encuentra asociada con accidentes cerebrovasculares, tumores de bajo grado y trastornos metabólicos (Verhaert & Scott, 2010; Assis et al., 2015).

Las manifestaciones clínicas y eléctricas de las CER varían en función del tipo de los circuitos neuronales implicados, del patrón de propagación y del grado de sincronización neuronal (Fisher et al., 2005; Berg, 2010). De acuerdo a las características clínicas y del EEG presentadas durante las CER, estas pueden ser clasificadas como parciales o como generalizadas (Berg, 2010).

Las CER parciales se caracterizan por tener un inicio restringido a un área cerebral particular, que puede propagarse a otras partes del cerebro durante la CER (de Boer, Mula & Sander, 2008). A su vez, un subgrupo de las crisis parciales son consideradas simples, cuando la actividad ictal se encuentra restringida a un área cerebral particular, presentando variaciones clínicas que incluyen la aparición de síntomas motores, percepciones sensoriales, síntomas autonómicos o psíquicos (Brailowsky, 1999; Berkovic, Engel & Pedley, 2008). Por otra parte, las crisis parciales se consideran complejas cuando, durante la crisis, ocurre la pérdida de la conciencia (Brailowsky, 1999; Marosi, 2008). Las crisis se consideran simples o complejas con generalización secundaria, cuando durante una crisis simple o compleja la actividad ictal se propaga a otras áreas cerebrales, manifestando crisis con componentes tónicos, clónicos y tónico-clónicos (Brailowsky, 1999; Berkovic, Engel & Pedley, 2008).

Las CER generalizadas tienen un sitio de origen ictal difuso, ocurriendo de forma sincrónica y simétrica en ambos hemisferios cerebrales (Brailowsky, 1999; Marosi, 2008). Las crisis generalizadas también son subdivididas en mioclónicas, por la aparición de sacudidas súbitas, breves y repentinas de uno o varios grupos musculares, llamadas mioclonías (Brailowsky, 1999; Marosi, 2008); en clónicas, cuando la crisis cursa con pérdida o alteración de la conciencia y mioclonías (Brailowsky, 1999; Marosi, 2008); en tónicas, por la aparición de la contracción repentina de uno o varios grupos musculares durante la crisis (Brailowsky, 1999; Marosi, 2008); en Tónico-Clónicas (CGTC), cuando se presentan de manera alternada periodos de extensión muscular y mioclonías durante una crisis (Brailowsky, 1999; Marosi, 2008); en atónicas, cuando ocurre la pérdida del tono muscular de uno o varios grupos musculares (Brailowsky, 1999; Marosi, 2008); y en crisis de ausencia, caracterizadas por episodios breves de interrupción de la conciencia sin cursar con signos motores durante la crisis (Brailowsky, 1999; Marosi, 2008; Berg, 2010).

En el transcurso de este año, se ha propuesto una nueva clasificación de las crisis epilépticas (Fisher, 2017), en la cual se le confiere mayor importancia al origen anatómico de las crisis y en la que se incluyen a las crisis de origen desconocido, para las cuales, como su nombre lo indica, no existe evidencia clínica que permita clasificar estas crisis como focales o como generalizadas. De cualquier forma, esta nueva clasificación de las crisis epilépticas aún se encuentra en revisión, por lo que no es motivo de discusión en el presente trabajo.

La prolongación de una crisis por al menos 30 minutos es llamada *status epilepticus* (SE) (Trinka, Brigo & Shorvon, 2016). El SE, conocido como la “máxima expresión de la epilepsia” (Clark & Prout, 1903), es una condición de emergencia médica, debido al alto riesgo de muerte asociado, de aproximadamente 36% en niños y en adultos mayores de 60 años (Bottaro et al., 2007; Cloyd et al., 2016; Trinka, Brigo & Shorvon, 2015). La Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE, por sus siglas en inglés), define al SE como “una condición resultante de una falla en los mecanismos responsables para la terminación de una crisis” (Trinka et al., 2015).

En pacientes epilépticos y en modelos experimentales de epilepsia, se ha observado que el SE tiene consecuencias a largo plazo, que incluyen muerte neuronal, atrofia hipocampal y alteraciones neuronales, electrográficas, conductuales, cognoscitivas y de la conectividad funcional (Turski et al., 1984; Cole, 2004; Di Bonaventura et al., 2009; Wang et al., 2012; Trinka et al., 2015; Trinka, Brigo & Shorvon, 2016).

En pacientes con epilepsia focal, el registro de las CER mediante electrodos intracraneales y SPECT, ha permitido observar que el sitio de origen ictal más común se encuentra en el lóbulo temporal (Rektor, Kuba & Brázdil, 2002; Blumenfeld et al., 2009; Kim et al., 2014), particularmente el hipocampo (Blumenfeld et al., 2009; Banerjee et al., 2009).

El proceso que da lugar al desarrollo de la epilepsia es llamado epileptogénesis (Pitkänen et al., 2015). La epileptogénesis es un proceso complejo en el que los circuitos neuronales incrementan progresivamente su susceptibilidad para presentar actividad ictal de forma permanente, a partir de un daño cerebral inicial y que eventualmente culmina en la ocurrencia de CER (figura 8) (Pitkänen & Lukasiuk, 2009; Pitkänen et al., 2015). La epileptogénesis suele dividirse arbitrariamente en tres etapas (Pitkänen et al., 2015): 1) el insulto cerebral inicial, 2) el periodo latente y 3) el periodo crónico.

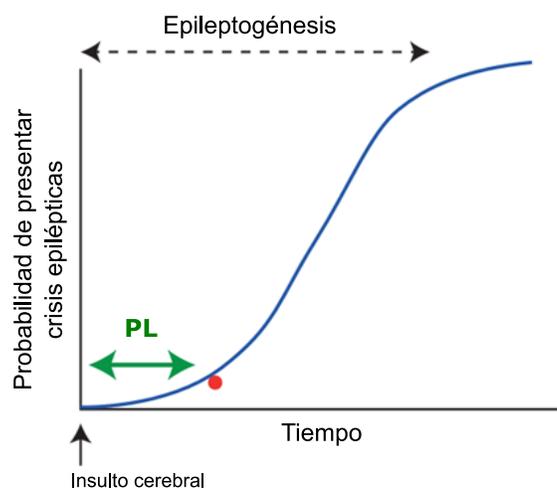


Figura 8. Representación gráfica del proceso de epileptogénesis. PL= Periodo Latente. El punto rojo indica la aparición de la primera crisis epiléptica. Modificado de Pitkänen y colaboradores (2015).

Los daños cerebrales comúnmente asociados al comienzo de la epileptogénesis son múltiples y difieren con el género, la edad, la raza y varios factores socioeconómicos de las personas que los padecen (Pitkänen & Sutula, 2002; Verhaert & Scott, 2006). Las etiologías usualmente asociadas con la aparición de la epilepsia incluyen a los traumatismos craneoencefálicos, a los accidentes cerebrovasculares, a las crisis febriles prolongadas, a los tumores de bajo grado, a las infecciones en el sistema nervioso central y al SE (Pitkänen & Sutula, 2002; Verhaert & Scott, 2006; Neligan & Shorvon, 2006), presentándose con mayor incidencia en los primeros años de vida y en la vejez (Linehan & Kerr, 2006). Comúnmente, al presentarse un daño cerebral, este es acompañado por crisis agudas, es decir, por crisis convulsivas que ocurren al mismo tiempo o en un periodo cercano al daño cerebral (Verhaert & Scott, 2006). Se ha hipotetizado, con base en investigaciones experimentales, que las crisis agudas son fundamentales para el desarrollo de la epilepsia (Leite, García-Cairasco & Cavalheiro, 2002), pues inducen la pérdida neuronal (Cavazos & Sutula, 1990; Cavazos, Das & Sutula, 1994) y cambios patológicos que dependen de la duración y severidad de las crisis (Turski et al., 1983; Turski et al., 1984; Brandt, Ebert & Löscher, 2004). Por lo anterior, es que el SE es una de las causas más frecuentes de epilepsia (Fisher, 1989; Heinemann & Holtkamp, 2010; Lévesque & Avoli, 2013).

El periodo entre el daño cerebral epileptogénico y la aparición de la primera crisis epiléptica espontánea es conocido como periodo latente (Pitkänen et al., 2015). Durante este periodo, que puede durar meses o años (Galanopoulou & Moshé, 2010), ocurren una serie de alteraciones anatomofuncionales en el cerebro, que progresivamente aumentan la susceptibilidad de los circuitos neuronales para presentar crisis espontáneas de forma crónica (Pitkänen & Lukasiuk, 2009; Pitkänen & Engel, 2014; Pitkänen et al., 2015). Desgraciadamente, las evidencias de la presencia de alteraciones neuropatológicas durante el periodo latente en

humanos son escasas (Bragin, Wilson & Engel, 2000; Rocha et al., 2007). Sin embargo, se han podido definir una gran variedad de procesos neuropatológicos mediante el uso de modelos experimentales de epileptogénesis (Leite, García-Cairasco & Cavalheiro, 2002; Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004; Curtis et al., 2010), principalmente con los modelos de *kindling* eléctrico (Goddard et al., 1969; Bertram, 2007) y los basados en la inducción del SE (Reddy & Kuruba, 2013; Pitkänen et al., 2015). Las alteraciones neuropatológicas que destacan durante el periodo latente, ocurren principalmente en estructuras mesiales del lóbulo temporal, como el hipocampo, la amígdala y las áreas corticales adyacentes (Pitkänen & Lukasiuk, 2009; Pitkänen & Engel, 2014). Estos cambios neuropatológicos incluyen a la pérdida celular (Cavazos & Sutula, 1990; Cavazos, Das & Sutula, 1994), a la reorganización sináptica y funcional de los circuitos neuronales (Lillis et al., 2015), a la neurogénesis (Smith et al., 2005), a la astrogliosis y microgliosis (Avignone et al., 2015; Itoh et al., 2016), a la reorganización de la matriz extracelular (Mizoguchi & Yamada, 2013), al daño de la barrera hematoencefálica (Itoh et al., 2016), a la angiogénesis (Itoh et al., 2016) y a la alteración de las propiedades intrínsecas de las neuronas (Mangan et al., 2000). Juntas, estas alteraciones contribuyen al aumento progresivo de la hiperexcitabilidad de los circuitos neuronales de forma permanente, culminando en la generación de CER (Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004; Pitkänen & Lukasiuk, 2009; Pitkänen & Engel, 2014; Pitkänen et al., 2015)

A partir del momento en el que aparece la primera crisis espontánea, estas incrementan progresivamente en frecuencia y severidad (Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004; Pitkänen & Lukasiuk, 2009; Pitkänen & Engel, 2014; Pitkänen et al., 2015). Este periodo es conocido como el periodo crónico de la epileptogénesis o como epilepsia *per se* (Pitkänen et al., 2015). En este punto, ya se encuentran consolidados los circuitos neuronales encargados de la generación de las CER (Bragin, Wilson & Engel, 2000). Sin embargo, las alteraciones neuropatológicas siguen estando presentes y en desarrollo, contribuyendo al fortalecimiento progresivo de las redes neuronales que generan la hiperexcitabilidad patológica (Bragin, Wilson & Engel, 2000; Pitkänen & Lukasiuk, 2009; Pitkänen & Engel, 2014; Pitkänen et al., 2015).

Experimentalmente se ha podido observar que los mecanismos neurofisiológicos responsables del surgimiento de las crisis y del desarrollo de la epilepsia son muy diversos (Avoli & Williamson, 1996), lo que sugiere que distintos mecanismos bioquímicos y fisiopatológicos son causantes de la aparición de las crisis (Leite, García-Cairasco & Cavalheiro, 2002). Es por ello, que de forma genérica se dice que la epilepsia es el resultado de un desbalance entre la excitación y la inhibición de los circuitos neuronales (Ackerman & Moshé, 2010). Se propone que la epilepsia se puede generar a partir del incremento en la excitabilidad de los circuitos neuronales y/o mediante la desinhibición de éstos (Avoli & Williamson, 1996; Engel & Schwartzkroin, 2006).

El estudio de los procesos celulares y moleculares que dan lugar al desbalance entre la inhibición y la excitación de los circuitos neuronales se ha abordado

mediante la utilización de modelos experimentales, en donde es posible inducir la actividad ictal de forma aguda o crónica (Fisher, 1989; Löscher, 1997), a través de la administración tópica o sistémica de fármacos convulsivantes o bien de estimulación eléctrica (Velisek, 2006; Zavala-Tecuapetla & López-Meraz, 2011), en preparaciones *in vivo* e *in vitro*. Los modelos experimentales de epilepsia reproducen una gran cantidad de características neuropatológicas que presentan los pacientes con epilepsia (Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004; Velisek, 2006; Curtis et al., 2010; Zavala-Tecuapetla & López-Meraz, 2011; Reddy & Kuruba, 2013), incluyendo las alteraciones histopatológicas, electrofisiológicas y conductuales (Morimoto, Fahnestock & Racine, 2004; Velisek, 2006; Curtis et al., 2010; Zavala-Tecuapetla & López-Meraz, 2011; Reddy & Kuruba, 2013).

La administración sistémica de pilocarpina, que es un agonista parcial de los receptores colinérgicos muscarínicos con mayor afinidad para los receptores M1 (Birdsall, 1977; Wang et al., 2003), es uno de los modelos experimentales más utilizados para estudiar los procesos involucrados en el desarrollo de la epilepsia (Cavalheiro et al., 2006; Velisek, 2006; Zavala-Tecuapetla & López-Meraz, 2011). Dependiendo de la dosis utilizada, la administración de pilocarpina induce la aparición de crisis convulsivas generalizadas y el desarrollo del SE, acompañados de alteraciones progresivas en el EEG, semejantes a lo observado en pacientes con Epilepsia del Lóbulo Temporal (ELT) (Cavalheiro, 1995; Cavalheiro et al., 2006; Velisek, 2006; Zavala-Tecuapetla & López-Meraz, 2011).

Para reducir los efectos adversos de la pilocarpina sobre los órganos periféricos, antes de su aplicación se administra un pretratamiento con cloruro de litio, 18 horas antes de la administración de la pilocarpina (Cavalheiro et al., 2006), así como de metilescopolamina (Wang et al., 2003), que es un antagonista no selectivo de los receptores muscarínicos de acetilcolina que no cruza la barrera hematoencefálica (Nargeot et al., 1982), 30 minutos antes de la administración de la pilocarpina (Turski et al., 1989). El pretratamiento con cloruro de litio permite disminuir la dosis utilizada de pilocarpina, favoreciendo la inducción farmacológica del SE y disminuyendo la tasa de mortalidad asociada a éste (Cavalheiro et al., 1995; Cavalheiro et al., 2006). El mecanismo por el cual el pretratamiento con cloruro de litio favorece la inducción del SE con pilocarpina aún es desconocido (Jope, Morrisett & Snead, 1986; Clifford et al., 1987; Müller et al., 2009). Sin embargo, se ha sugerido que la administración aguda de cloruro de litio estimula la síntesis y la liberación de acetilcolina *in vitro* (Jope, 1979), lo cual, en conjunto con el agonismo de los receptores muscarínicos por parte de la pilocarpina, facilita la excitabilidad neuronal de forma presináptica y reduce el umbral para el establecimiento de las crisis convulsivas (Evans, Zorumski & Clifford, 1990). Por otro lado, el pretratamiento con metilescopolamina reduce los efectos parasimpáticos periféricos que induce la administración de la pilocarpina (Wang et al., 2003), y que incluyen el incremento de la peristalsis gastrointestinal, de la salivación y del ritmo cardiaco, mediante el antagonismo no selectivo de los receptores muscarínicos de los órganos periféricos (Wang et al., 2003; Jakubik et al., 2014).

El modelo de litio/pilocarpina produce actividad convulsiva de forma gradual y estereotipada, presentándose inicialmente como automatismos orofaciales y posteriormente como crisis generalizadas tónico-clónicas y SE (Cavalheiro et al., 1995; Cavalheiro et al., 2006). Después de la inducción farmacológica del SE, se observa la aparición de CER en un periodo de 10 a 21 días (Cavalheiro et al., 1995; Cavalheiro et al., 2006).

Las alteraciones subsecuentes a la inducción del SE con litio/pilocarpina incluyen cambios estructurales en el hipocampo y otras áreas del lóbulo temporal, como pérdida neuronal, gliosis y remodelación de los circuitos neuronales (Turski et al., 1983; Turski et al., 1984; Cavalheiro et al., 1995; Druga et al., 2003; Buckmaster et al., 2002; do Nascimento et al., 2012).

Este modelo experimental de epilepsia permite el estudio de los procesos que subyacen a la epileptogénesis, desde la inducción del SE hasta la aparición de las CER (Cavalheiro et al., 2006; Velisek, 2006; Zavala-Tecuapetla & López-Meraz, 2011), con el beneficio de exhibir una tasa de mortalidad menor a la presentada en otros modelos experimentales de epilepsia, como el modelo de ácido kaínico (KA, por sus siglas en inglés) (Lévesque & Avoli, 2013); además de inducir CER en menor tiempo (Cavalheiro et al., 2006).

La aplicación sistémica de pentilinetetrazol (PTZ) es un modelo farmacológico de inducción aguda de crisis convulsivas y no convulsivas (Velísek, 2006), utilizado comúnmente para la evaluación de tratamientos anticonvulsivos (Velísek et al., 1992). El PTZ es un fármaco que induce actividad ictal a través del antagonismo no competitivo de los receptores GABA_A (Luszcki & Czuczwar, 2005), es decir, disminuyendo la inhibición de los circuitos neuronales. La administración de una dosis convulsiva de PTZ induce la aparición gradual y estereotipada de actividad convulsiva, que se observa como arresto conductual, movimientos orofaciales, mioclonías de los miembros anteriores, crisis generalizadas clónicas, tónicas y tónico-clónicas (Luszcki & Czuczwar, 2005). La progresión de las crisis convulsivas que induce el PTZ es similar a la progresión ictal en las personas con ELT (Velísek, 2006). La administración repetida de PTZ en dosis subconvulsivas es capaz de inducir la aparición del SE (Luttjohan, Fabene & van Luijtelaar, 2009) y de reducir la tasa de mortalidad asociada a las crisis (Luttjohan, Fabene & van Luijtelaar, 2009).

En preparaciones *in vitro*, la aplicación aguda de 4-Aminopiridina (4AP) induce la aparición de actividad electrográfica epileptiforme (Heinemann, Kann & Schuchmann, 2006; Peña & Alavez-Pérez, 2006). La 4AP es un bloqueador de las corrientes de potasio transitorias (Psarropoulou & Avoli, 1996; Peña & Alavez-Pérez, 2006). La aplicación de 4AP induce descargas recurrentes de alto voltaje, que pueden ser apreciadas en el hipocampo y en estructuras parahipocampales, como la corteza entorrinal (Avoli & Williamson, 1996), el subículo, la neocorteza temporal y la amígdala (Klueva et al., 2003). La actividad epileptiforme que se induce con este modelo comienza con periodos de descargas tipo ráfagas, que posteriormente dan lugar a episodios de descargas tónicas de alto voltaje

(Barbaroise & Avoli, 1997; Peña & Alavez-Pérez, 2006), similar a lo observado en pacientes con ELT (Avoli & Williamson, 1996). Actualmente, la aplicación de 4AP es uno de los modelos *in vitro* más utilizados para la evaluación de tratamientos anticonvulsivos (Heinemann, Kann & Schuchmann, 2006).

REPORTES CLÍNICOS QUE RELACIONAN A LA EPILEPSIA CON LA EA

Desde los reportes pioneros realizados por el Dr. Alois Alzheimer a principios del siglo XX, se observó que las personas con la EA desarrollan también CER (Möller & Graeber, 1998). Desde ese momento, los reportes sobre la ocurrencia de CER en pacientes con la EA fueron sólo anecdóticos y comúnmente limitados a descripciones de caso (Hauser et al., 1986). En la década de 1980, se comenzaron a publicar reportes enfocados en describir exclusivamente la ocurrencia de crisis convulsivas en poblaciones de pacientes con la EA (Hauser et al., 1986; Volicer, Smith & Volicer, 1995; Hesdorffer et al., 1996).

La incidencia y prevalencia de epilepsia en pacientes con la EA aún no es clara (Nicastro, Assal & Seeck, 2016), debido en gran medida a la forma en la que se ha evaluado la aparición de las CER en estos pacientes, que incluye el autorreporte solamente de los episodios convulsivos o cuestionarios hechos a los familiares de las personas con la EA, además de la falta de controles en algunos de estos estudios (Hauser et al., 1986; Hesdorffer et al., 1996; Armon et al., 2000; Amatniek et al., 2006; Irizarry et al., 2012; Sherzai et al., 2014; de Assis et al., 2104; Cheng et al., 2015). Sin embargo, tomando en cuenta lo anterior, se ha estimado que la epilepsia tiene una incidencia entre 6.9% y 17% en pacientes con la EA (Hauser et al., 1986; Amatniek et al., 2006; Irizarry et al., 2012; Sherzai et al., 2014; de Assis et al., 2014) y una prevalencia desde 9.6% hasta 17% (Hauser et al., 1986; Mendez et al., 1994). Además, las personas con la EA tienen de 6 a 10 veces más riesgo de presentar CER, comparado con el riesgo que tienen las personas cognoscitivamente sanas (Scarmeas et al., 2009; Assis et al., 2015). La EA es considerada la segunda etiología más común asociada con la epilepsia, en personas mayores a 75 años, después del accidente cerebrovascular (Hesdorffer et al., 1996; d'Orsi & Specchio, 2014; Assis et al., 2015; Aller-Alvarez et al., 2015). Algunos autores afirman que todos los pacientes con la EA cursan con al menos una crisis convulsiva en su vida (Rao et al., 2009).

Los pacientes con la EA de inicio temprano tienen 87 veces más riesgo de exhibir CER comparados con personas cognoscitivamente sanas (Born, 2015), mientras que las personas con la EA de inicio tardío tienen 4.3 veces más riesgo de padecer CER comparadas con personas cognoscitivamente sanas (Volicer, Smith & Volicer, 1995).

El tipo de CER que presentan los pacientes con la EA también son bastante variadas (Amatniek et al., 2006; Born, 2015; Sivaraaman & Vajjala, 2015; Lam et al., 2017), presentándose con mayor frecuencia las crisis parciales complejas secundariamente generalizadas (Assis et al., 2015), las CGTC (Assis et al., 2015;

Born, 2015; Sivaraaman & Vajjala, 2015), y, en menor proporción, las crisis parciales complejas (Amatniek et al., 2006; Assis et al., 2015) y el SE convulsivo (Armon, Peterson & Liwnicz, 2000; Assis et al., 2015) y no convulsivo (Armon, Peterson & Liwnicz, 2000; Bottaro et al., 2007; Lam et al., 2017). Por otro lado, las CER que presentan estos pacientes tienen un origen asociado a estructuras del lóbulo temporal (Vossel et al., 2013; Lam et al., 2017).

El declive cognoscitivo y el riesgo de muerte de los pacientes con la EA que presentan CER es mayor comparado con el de personas sanas (Volicer, Smith & Volicer, 1995; Amatniek et al., 2006; Bottaro et al., 2004; Picco et al., 2011; Sherzai et al., 2014; Born, 2015). En los pacientes con la EA, las CER ocurren antes o al rededor del diagnóstico de la EA (Volicer, Smith & Volicer, 1995; Picco et al., 2011; Sherzai et al., 2014), lo que sugiere que las CER podrían contribuir al deterioro patológico de la EA (Volicer, Smith & Volicer, 1995; Picco et al., 2011; Vossel et al., 2013).

Algunos de los factores que se han asociado al aumento del riesgo de padecer las CER en la EA incluyen la presencia de MCI (Amatniek et al., 2006; Picco et al., 2011; Sherzai et al., 2014; Born, 2015), de oscilaciones en el EEG con frecuencias menores a 8 Hz (Ezquerro et al., 1999; Amatniek et al., 2006; Bottaro et al., 2007; Born, 2015), de paroxismos en el EEG (Ezquerro et al., 1999; Amatniek et al., 2006; Bottaro et al., 2007; Rao et al., 2009; Picco et al., 2011; Irizarry et al., 2012) y de atrofia hipocámpal (Dhikav & Anand, 2007; Volicer, Smith & Volicer, 1995).

MANIFESTACIONES DE ACTIVIDAD EPILEPTIFORME EN LOS MODELOS TRANSGÉNICOS DE LA EA

Consistente con las observaciones en pacientes con la EA (Hauser et al., 1986; Volicer, Smith & Volicer, 1995; Hesdorffer et al., 1996), en los modelos transgénicos de esta enfermedad también se observa el desarrollo de CER convulsivas y no convulsivas (Westmark et al., 2008; Palop et al., 2009; Minkeviciene et al., 2009; Ziyatdinova et al., 2011; Yan et al., 2012; Born, 2015).

Los modelos transgénicos de la EA presentan CER convulsivas y no convulsivas en una forma dependiente de la edad, comparados con animales sin transgén alguno (figura 9) (Hunter et al., 2012). Estos animales también muestran mayor susceptibilidad para presentar crisis convulsivas inducidas eléctrica y farmacológicamente (Westmark et al., 2008; Hunter et al., 2012; Chan et al., 2015), así como mayor riesgo de muerte durante las crisis convulsivas (Westmark et al., 2008; Chan et al., 2015).

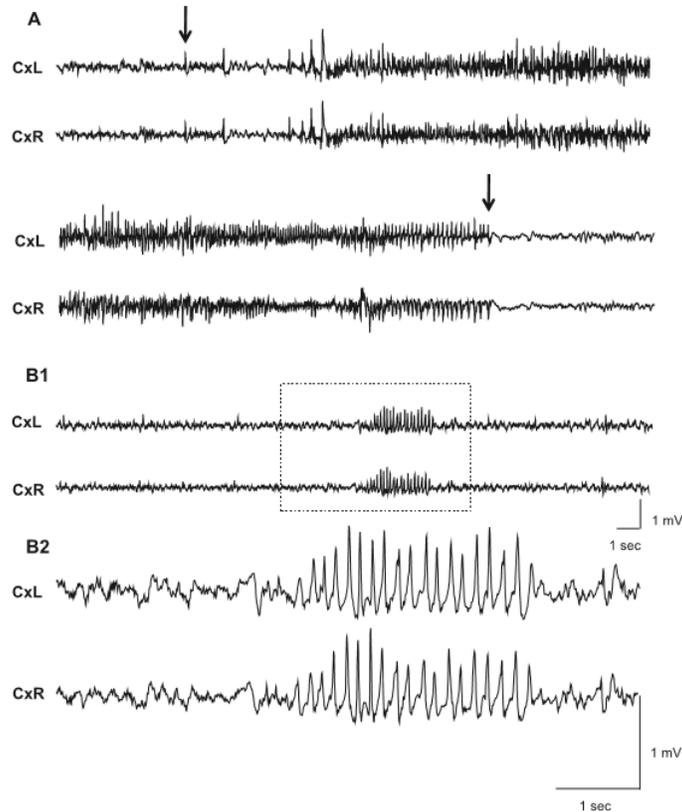


Figura 9. Ejemplos de actividad electrográfica epileptiforme de un ratón transgénico APdE9 con 25 semanas de edad. A. Crisis convulsiva espontánea con duración de 39 s. Las flechas indican el comienzo y el final de la crisis convulsiva. B1. Actividad epileptiforme no convulsiva con duración de 2.6 s. B2. Ampliación de la actividad epileptiforme del recuadro punteado de la figura B1. Abreviaturas: CxL, Corteza Frontal Izquierda; CxR, Corteza Frontal Derecha. Tomado de Ziyatdinova et al. (2011).

Por otro lado, los modelos transgénicos de la EA muestran marcadores electrográficos del proceso de epileptogénesis (Gurevicius, Lipponen & Tanila, 2012), particularmente un patrón patológico llamado Oscilaciones de Alta Frecuencia (HFO, por sus siglas en inglés) (Bragin et al., 2000). Este patrón electrográfico, cuya frecuencia oscila entre 80 y 600 Hz, aumenta de manera paralela al aumento en la susceptibilidad para presentar una CER, tanto en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal como en modelos experimentales de epilepsia (Bragin et al., 2000; Jones et al., 2015; Weiss et al., 2015).

Algunos autores han planteado que los modelos experimentales de la EA y los modelos experimentales de epilepsia comparten algunas alteraciones de los circuitos neuronales (Scharfman, 2012; Chin & Scharfman, 2013). Por ejemplo, los modelos experimentales de ambas patologías exhiben un incremento marcado de las fibras musgosas hacia la capa molecular interna del giro dentado (Palop et al., 2007). Asimismo, estos modelos muestran un incremento en la inmunoreactividad de subpoblaciones de interneuronas GABAérgicas en el hipocampo, entre las que se encuentran las que expresan calbindina, calretinina y parvalbúmina (Verdaguer

et al., 2015), así como esclerosis hipocampal (de Lanerolle & Lee, 2005; Escobar, 2007; Scharfman, 2012; Chin & Scharfman, 2013; Scott et al., 2016). Estos modelos también presentan una disminución de neuronas en estructuras del lóbulo temporal, como la amígdala, la corteza entorrinal y el hipocampo (Yan et al., 2012).

Aunado a lo anterior, la administración de fármacos antiepilépticos en diferentes modelos transgénicos de la EA y en pacientes con la enfermedad, disminuye las alteraciones moleculares, sinápticas, cognoscitivas e histopatológicas asociadas con la enfermedad (Qing et al., 2008; Ziyatdinova et al., 2011; Picco et al., 2011; Sanchez et al., 2012; Vossel et al., 2013; Tanaka et al., 2013; Zhang et al., 2014). Los fármacos antiepilépticos que han mostrado detener o retrasar las alteraciones patológicas de la EA son el ácido valpróico (Qing et al., 2008; Ziyatdinova et al., 2011), la lamotrigina (Zhang et al., 2014; Wu et al., 2015), el levetiracetam (Picco et al., 2011; Sanchez et al., 2012; Shi et al., 2013), el topiramato (Shi et al., 2013) y la carbamacepina (Ziyatdinova et al., 2011). Es interesante que fármacos con distintos blancos farmacológicos (Sánchez-Álvarez et al., 2015), tengan el mismo efecto benéfico sobre las alteraciones patológicas en la EA. A este respecto, varios autores han argumentado que los efectos benéficos de los fármacos antiepilépticos sobre las alteraciones neuropatológicas de los modelos transgénicos de la EA, no se conciben inhibiendo directamente la sobreproducción del β A, sino que se producen mediante la disminución aguda de la hiperexcitabilidad de los circuitos neuronales de estos animales (Ziyatdinova et al., 2011; Sanchez et al., 2012; Zhang et al., 2014), ya que al discontinuar el tratamiento con los fármacos antiepilépticos, retornan las alteraciones neuropatológicas (Ziyatdinova et al., 2015).

La inducción farmacológica de epilepsia en animales transgénicos de la EA produce un aumento de los marcadores neuropatológicos de la EA, particularmente las placas seniles y los ONF, en el hipocampo y áreas aledañas (Yan et al., 2012). La inducción farmacológica de epilepsia también produce mayor inmunoreactividad de la β -secretasa 1 (Yan et al., 2012b), sugiriendo que en la EA, la ocurrencia de las CER contribuye al deterioro progresivo en la patología tipo EA.

JUSTIFICACIÓN

Uno de los signos histopatológicos de la EA son las placas seniles, compuestas de depósitos extracelulares del βA_{1-42} . El aumento del βA_{1-42} soluble en el cerebro es considerado el biomarcador más sensible del proceso neuropatológico de la EA. El βA_{1-42} produce efectos deletéreos sobre la actividad de los circuitos neuronales, lo cual se ha asociado a las alteraciones celulares, estructurales, cognoscitivas y conductuales observadas durante el curso de la enfermedad.

La aparición de CER en los pacientes con la EA ha sido observada desde los primeros casos reportados de la enfermedad. Los pacientes con la EA tienen mayor riesgo de desarrollar epilepsia, e incluso, la aparición de CER se ha relacionado con un mayor deterioro cognoscitivo y mayor riesgo de muerte.

Los modelos transgénicos de la EA presentan una alta susceptibilidad para exhibir CER, además de un alto riesgo de muerte asociado a las CER y alteraciones microestructurales en los circuitos neuronales.

A pesar de las evidencias clínicas y experimentales de la relación entre el βA_{1-42} y la aparición de las CER en la EA, aún no es claro cuál es el efecto del βA_{1-42} sobre la actividad de los circuitos neuronales que conlleva al aumento de la susceptibilidad para presentar epilepsia.

Esta investigación se plantea determinar si el βA_{1-42} cambia la susceptibilidad para presentar actividad epileptiforme tanto *in vivo* como *in vitro*. Para ello, se caracterizó el efecto crónico de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica hipocámpal y sobre la susceptibilidad para presentar crisis convulsivas generalizadas y el SE inducidos con el modelo de litio/pilocarpina. Además, se describió el efecto crónico de la administración del βA_{1-42} sobre la actividad epileptiforme inducida con 4AP en preparaciones *in vitro*.

Posteriormente, se caracterizó el efecto crónico de la administración del βA_{1-42} sobre la susceptibilidad para presentar crisis convulsivas inducidas con el modelo de PTZ.

HIPÓTESIS

La administración de oligómeros del βA_{1-42} incrementará la susceptibilidad para presentar actividad epileptiforme tanto *in vivo* como *in vitro*.

OBJETIVOS

GENERAL

Caracterizar el efecto de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica hipocampal y sobre la susceptibilidad para presentar actividad epileptiforme, en preparaciones *in vivo* e *in vitro*.

ESPECÍFICOS

- Caracterizar el efecto de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la actividad convulsiva generalizada inducida con el modelo de litio/pilocarpina, tres semanas después de la administración del βA_{1-42} .
- Caracterizar el efecto de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica espontánea del hipocampo, tres semanas después de la administración del βA_{1-42} .
- Caracterizar el efecto de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica hipocampal durante la inducción de crisis convulsivas generalizadas y el SE, inducidos con el modelo de litio/pilocarpina, tres semanas después de la administración del βA_{1-42} .
- Caracterizar el efecto de la administración de oligómeros del βA_{1-42} y de la aparición de las CER sobre la actividad electrográfica espontánea del hipocampo, en preparaciones *in vitro*.
- Caracterizar el efecto de la administración de oligómeros del βA_{1-42} y de la aparición de las CER sobre la actividad electrográfica del hipocampo durante la actividad epileptiforme inducida con 4AP, en preparaciones *in vitro*.
- Caracterizar el efecto de la administración *in vitro* de oligómeros del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica del hipocampo durante la actividad epileptiforme inducida con 4AP en rebanadas de hipocampo de animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} que desarrollaron el SE y las CER.
- Caracterizar el efecto de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la susceptibilidad para presentar crisis convulsivas inducidas con PTZ, una, tres y cinco semanas después de la administración del βA_{1-42} .

MATERIALES Y MÉTODOS

ANIMALES

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, de 250-300 g de peso. Todos los animales se mantuvieron alojados individualmente en el cuarto 8 del Bioterio del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México-Campus Juriquilla, a una temperatura de 22°C y un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas, con acceso *ad libitum* al alimento y al agua.

OLIGOMERIZACIÓN DEL βA_{1-42}

El protocolo de oligomerización del βA_{1-42} se realizó siguiendo los protocolos de Klein (2002) y de Balleza-Tapia y colaboradores (2010). El βA_{1-42} (BACHEM) fue incubado con 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) a una concentración final del péptido de 1 mM, por 60 minutos, a temperatura ambiente. La solución final fue posteriormente evaporada a temperatura ambiente, para remover todo el HFIP durante un periodo de aproximadamente 18 horas. Posteriormente, el péptido fue resuspendido en una solución de DMSO (5 mM) al 100% y después se diluyó en medio F12 (sin rojo fenol), a una concentración final de 100 μM . Esta solución se incubó por 24 horas a 4-5 °C y se centrifugó a 14000 rpm a 4 °C durante 10 minutos. El sobrenadante fue alicuotado y usado directamente en los experimentos.

ADMINISTRACIÓN INTRACISTERNAL DE OLIGÓMEROS DEL βA_{1-42} Y CIRUGÍA ESTEREOTÁXICA

Los animales fueron anestesiados con una mezcla de ketamina (40 mg/kg) y xilazina (5 mg/kg). Posteriormente, los animales fueron instilados intracisternalmente con 1 nmol de oligómeros del βA_{1-42} (en 10 μl) o con su vehículo (10 μl de medio F12), utilizando una microjeringa de vidrio (20 μl , Hamilton Company) conectada a un microinyector mediante un tubo de polietileno. La velocidad de infusión (1 $\mu l/min$) fue controlada mediante una bomba de infusión (WPI, 220i). Después de la infusión, el microinyector permaneció por 10 minutos dentro de la cisterna magna para permitir la correcta difusión del βA_{1-42} o del vehículo y posteriormente los animales fueron suturados y retornados al Bioterio.

Dos semanas después de la administración intracisternal de oligómeros del βA_{1-42} o de vehículo, los animales fueron sometidos a una cirugía estereotáxica (Paxinos & Watson, 2005), en la que se implantó un electrodo bipolar en el área CA1 del hipocampo ventral derecho (AP: -4.8, L: 5.0, H: -6.5) y tornillos en el hueso frontal para el registro electrográfico monopolar, de forma epidural. Posteriormente, los animales fueron devueltos al Bioterio y tratados con antibiótico (Fluvicina) por 5 días.

INDUCCIÓN DE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA Y EL STATUS EPILEPTICUS (SE) CON EL MODELO DE LITIO/PILOCARPINA

Tres semanas después de la administración intracisternal de oligómeros del βA_{1-42} o del vehículo, los animales fueron tratados intraperitonealmente con cloruro de litio (127 mg/Kg, Sigma-Aldrich). 18 horas después, se les administró intraperitonealmente la pilocarpina (45 mg/Kg, Sigma-Aldrich) para inducir la actividad convulsiva y el SE (Clifford et al., 1987; Müller et al., 2009). Treinta minutos antes de aplicación de la pilocarpina, se les administró subcutáneamente bromuro de metilescopolamina (5 mg/Kg, Sigma-Aldrich), con la finalidad de reducir los efectos periféricos de la pilocarpina (Turski et al., 1983). Para reducir la mortalidad de los animales, dos horas después de haber iniciado el SE, se les administró intraperitonealmente diazepam (DZP) (5 mg/kg) y se colocaron en hielo durante 2 horas. Los animales permanecieron en recuperación durante 7 días en un cuarto con temperatura baja controlada (17-20°C) y con la administración de suplemento alimenticio (Ensure, 3 veces al día) e hidratación constante (10ml de Solución Salina dos veces al día) (Valle-Dorado et al., 2015). Posteriormente, los animales fueron almacenados de forma individual en el Bioterio.

REGISTRO ELECTROGRÁFICO DURANTE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA Y EL SE

Se realizaron registros de video-EEG de la actividad electrográfica basal durante una hora, antes de la administración de cloruro de litio. Posteriormente, los animales se registraron con video-EEG desde la administración de pilocarpina hasta 2 horas después de haber iniciado el SE. La señal electrográfica monopolar y bipolar de los electrodos epidurales en la corteza frontal y del hipocampo ventral respectivamente, fue amplificada y filtrada (pasa altas de 0.1 Hz y pasa bajas de 2000 Hz) utilizando un amplificador AC (modelo 1700, A-M Systems). La señal fue digitalizada (Digidata 1550 Digitizer, Molecular Devices) con una frecuencia de muestreo de 2000 Hz, mediante el programa Axoscope 10.6 (Axon Instruments). Los registros de video-EEG fueron almacenados en una computadora personal para su análisis *off-line*.

DETECCIÓN DE LA APARICIÓN DE LAS CRISIS ESPONTÁNEAS Y RECURRENTES (CER)

Diez días después de la inducción del SE, los animales se registraron con video-EEG, o sólo con video (en el caso de los animales que perdieron su implante durante el SE), durante 1-2 horas al día, hasta observar la aparición de las CER (~ 30 días posteriores al SE). La aparición de las CER se definió como la aparición de actividad convulsiva generalizada (estadios 4-5 de la escala de Racine, 1972), observada al menos en dos ocasiones (André et al., 2001; Williams et al., 2009). La señal electrográfica se registró y almacenó de manera idéntica a la descrita en la sección anterior.

INDUCCIÓN DE ACTIVIDAD CONVULSIVA CON PENTILENETETRAZOL (PTZ)

Una, tres y cinco semanas después de la inyección intracisternal de oligómeros del βA_{1-42} o de su vehículo, los animales fueron inyectados intraperitonealmente con PTZ (Sigma-Aldrich), disuelto en solución salina el día del experimento. Para la reducción de la mortalidad de los animales durante la inducción de las crisis convulsivas, estas fueron inducidas gradualmente, con una dosis inicial de 20 mg/kg y dosis posteriores de 10 mg/kg cada 15 minutos hasta que desarrollaron la primera CGTC con saltos violentos, de acuerdo al protocolo descrito por Luttjohan, Fabene & van Luijtelaaar (2009). Después, los animales fueron inyectados intraperitonealmente con DZP (5 mg/kg) para detener la actividad convulsiva. Posteriormente, los animales fueron eutanizados con una sobredosis de pentobarbital sódico (63 mg/kg) administrado de forma intraperitoneal.

EXTRACCIÓN DE REBANADAS DE HIPOCAMPO VENTRAL

Después de la aparición de las CER inducidas con el modelo de litio/pilocarpina, los animales fueron eutanizados con una sobredosis intraperitoneal de pentobarbital sódico (63 mg/kg, Cheminova) y perfundidos intracardiamente con líquido cefalorraquídeo artificial modificado (LCRam) frío, que contiene 238 mM de sucrosa, 3 mM de KCl, 2.5 mM de $MgCl_2$, 25 mM de $NaHCO_3$ y 30 mM de D-glucosa, con un pH de 7.4 y burbujeado con carbógeno (95% de O_2 y 5% de CO_2). Posteriormente, los animales fueron decapitados y los cerebros fueron removidos y colocados en LCRA frío que contiene 119 mM de NaCl, 3 mM de KCl, 1.5 mM de $CaCl_2$, 1 mM de $MgCl_2$, 25mM de $NaHCO_3$ y 30 mM de D-glucosa, con un pH de 7.4 y burbujeando con carbógeno (95% de O_2 y 5% de CO_2). El hemisferio cerebral izquierdo se montó en un bloque de agar con 30° de inclinación y se obtuvieron rebanadas del hipocampo ventral, a 400 μm de grosor con un vibrátomo (Microm HM 650 V, Thermo Scientific). Las rebanadas se dejaron recuperar en LCRA a temperatura ambiente, durante al menos 60 minutos antes de cualquier manipulación experimental.

REGISTRO ELECTROFISIOLÓGICO DURANTE LA INDUCCIÓN DE ACTIVIDAD EPILEPTIFORME CON 4-AMINOPIRIDINA (4AP) *IN VITRO*

Las rebanadas de hipocampo ventral se colocaron en una cámara de perfusión (32-34°C a 17-20 ml/min). Se colocó una micropipeta de vidrio (1-2 M Ω) rellena con LCRA sobre la capa piramidal del área CA1 del hipocampo y se registró la actividad espontánea de campo durante 50 minutos. Posteriormente, se añadió 4AP (100 μM) a la solución del baño durante 60 minutos. Esta concentración de 4AP induce la aparición de actividad epileptiforme persistente en la rebanada (Barbarosie & Avoli, 1997; Peña & Álvarez-Pérez, 2006). En presencia continua de 4AP, se añadieron oligómeros del βA_{1-42} (30 nM) a la solución del baño durante 60 minutos. En presencia continua de 4AP y del βA_{1-42} , se añadió lidocaína (1 mM) para verificar la naturaleza sináptica de los potenciales registrados (Peña et al.,

2002; 2010). Por último, se obtuvieron los pulsos de calibración de 50 μ V para la calibración del potencial de campo local. Los registros fueron almacenados de manera idéntica a la descrita en la sección anterior para su posterior análisis *off-line*.

ANÁLISIS DE DATOS

ACTIVIDAD CONVULSIVA GENERALIZADA Y EL SE

Para analizar el efecto de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la severidad de la actividad convulsiva generalizada y del SE, se analizaron las latencias para desarrollar la primera CGTC (estadio 5 de la escala de Racine, 1972) y el SE. El inicio del SE se definió como la actividad convulsiva generalizada (estadios 3-5 de la escala de Racine, 1972), sostenida por al menos 2 minutos (Valle-Dorado et al., 2015). Asimismo, se cuantificó la latencia para el inicio del SE a partir de la aparición de la primera CGTC, el número de CGTC desde la inyección de la pilocarpina hasta el desarrollo del SE, la frecuencia de las CGTC (CGTC por minuto) y el porcentaje de animales que desarrollaron el SE y que murieron durante el SE y en días posteriores.

ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA HIPOCAMPAL ESPONTÁNEA Y DURANTE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA GENERALIZADA Y EL SE

Se llevaron a cabo análisis del poder espectral de los registros electrográficos del hipocampo en condiciones basales, durante la primera CGTC, al inicio del SE y 2 horas después de haber iniciado el SE. Para ello, se seleccionaron ventanas de 2 minutos por cada condición utilizando el programa Clampfit 10.6 (Axon Instruments) y posteriormente se exportaron al programa MATLAB (R2014a, MathWorks, Inc.). Mediante una rutina personalizada, los trazos electrográficos fueron transformados al dominio del tiempo y de la frecuencia, en la banda de frecuencia de 1-200 Hz, utilizando la función *spectrogram*.

Los valores numéricos del poder espectral de la primera CGTC, la del inicio del SE y la observada 2 horas después del inicio del SE, se normalizaron con respecto a la condición basal, de la siguiente manera:

$$Potencia\ normalizada = \frac{Potencia}{Potencia\ Basal}$$

Después, los valores numéricos del poder espectral fueron agrupados y promediados en las siguientes bandas de frecuencia: 1-200 Hz, delta (1.5-4 Hz), theta (4-10 Hz), beta (10-30 Hz), gamma (30-80 Hz) y gamma rápida (80-200 Hz) (Buszáki & Watson, 2012).

ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA POBLACIONAL DEL HIPOCAMPO *IN VITRO*

Se llevó a cabo el análisis del poder espectral de 5 segmentos, de 5 segundos cada uno, espaciados 40 segundos el uno del otro, de los últimos 5 minutos de la condición basal, de los presentes durante la actividad epileptiforme inducida con 4AP y los observados posteriormente a la aplicación del βA_{1-42} . Por cada registro se ajustó la línea base sustrayendo la media de todo el trazo. El espectro de potencia se obtuvo mediante la FFT, con una ventana Hamming de 2048 puntos y una resolución espectral de 0.24 Hz, utilizando el programa Clampfit 10.6 (Axon Instruments).

El poder espectral de los registros en presencia de 4AP y βA_{1-42} , se normalizó con respecto a la condición basal, de la siguiente forma:

$$Potencia\ normalizada = \frac{Potencia}{Potencia\ Basal}$$

Posteriormente, los valores numéricos del poder espectral se agruparon y promediaron en las siguientes bandas de frecuencia: 1-200 Hz, delta (1.5-4 Hz), theta (4-10 Hz), beta (10-30 Hz), gamma (30-80 Hz) y gamma rápida (80-200 Hz) (Buszáki & Watson, 2012).

ACTIVIDAD CONVULSIVA INDUCIDA CON PTZ

La evaluación de la actividad convulsiva inducida con PTZ se llevó a cabo mediante la cuantificación de la latencia de aparición de cada uno de los siguientes estadios conductuales (Luttjohan, Fabene & van Luijelaar, 2009): estadio 1, arresto conductual repentino; estadio 2, masticaciones y movimientos de las vibrisas; estadio 3, mioclonías del cuello; estadio 4, crisis clónicas en posición de canguro; estadio 5, CGTC con pérdida de la postura; y estadio 6, CGTC con saltos violentos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Antes de realizar las comparaciones estadísticas, los datos fueron sometidos a las pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov y D'Agostino & Pearson, para evaluar la normalidad de su distribución. Posteriormente, debido a la naturaleza de los datos (sin distribución normal), estos fueron analizados mediante las pruebas no paramétricas U de Mann-Whitney, Kruskal-Wallis seguido de la prueba *post hoc* de Dunn, y mediante la prueba exacta de Fisher y la prueba Log-rank (Mantel-Cox). Los datos fueron analizados mediante el programa Prism 5 (GraphPad Software, Inc) y se presentaron como la media \pm error estándar de la media. Se consideraron significativas las diferencias con $p \leq 0.05$.

RESULTADOS

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA Y EL SE INDUCIDOS CON LITIO/PILOCARPINA

Se administró litio/pilocarpina para inducir actividad convulsiva en los grupos Control (n=29) y βA (n=28). Se cuantificaron las latencias para desarrollar la primera CGTC y el inicio del SE, la latencia para el inicio del SE a partir de la primera CGTC, el número de CGTCs a partir de la primera CGTC hasta el inicio del SE y el número de CGTCs por minuto a partir de la primera CGTC hasta el inicio del SE. Además, se midió la proporción de animales que desarrollaron el SE, que murieron durante este y que sobrevivieron 30 días posteriores al SE (figura 10).

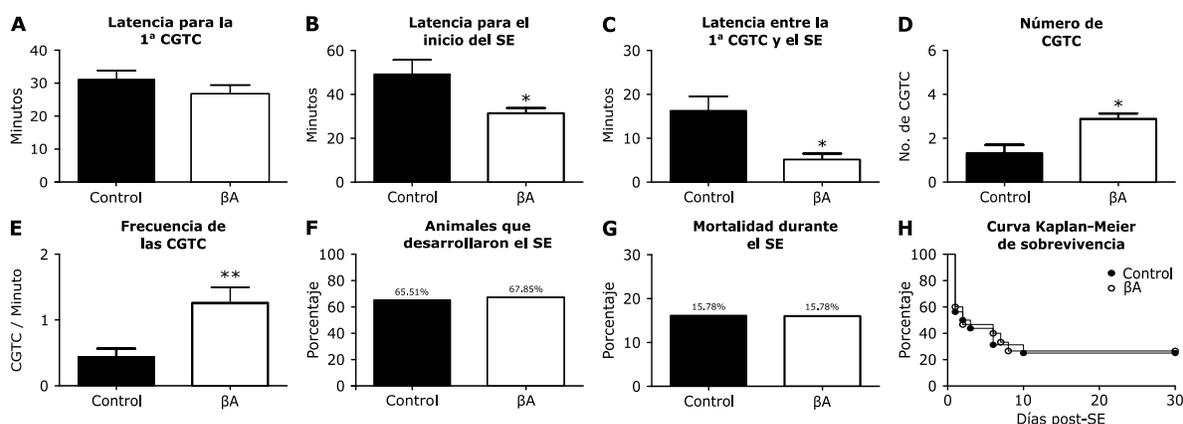


Figura 10. Efecto crónico del βA_{1-42} sobre la inducción de CGTCs y sobre el SE inducidos con litio/pilocarpina en los grupos inyectados con vehículo (n=19; en negro) y con el βA (n=19; en blanco). A. Latencia para desarrollar la primera CGTC a partir de la inyección de pilocarpina. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. B. Latencia para desarrollar el SE a partir de la inyección con pilocarpina. Se observó que el grupo βA tuvo menor latencia para desarrollar el SE. C. Latencia para desarrollar el SE a partir de la primera CGTC. Se observó que el grupo βA tuvo menor latencia para desarrollar el SE a partir de la primera CGTC. D. Número de CGTCs desde la inyección de pilocarpina hasta el inicio del SE. Se observó que el grupo βA tuvo un mayor número de CGTCs desde la inyección de pilocarpina hasta el inicio del SE. E. Frecuencia de las CGTCs desde la inyección de pilocarpina hasta el inicio del SE. Se observó que el grupo βA tuvo un número mayor de CGTCs por minuto desde la inyección de pilocarpina hasta el inicio del SE. F. Proporción de animales que desarrollaron el SE. No se observaron diferencias significativas entre los grupos Control (19/29) y βA (19/28). G. Porcentaje de animales que murieron durante SE. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. * y ** denotan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control y βA ($p \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$, respectivamente; Prueba U de Mann-Whitney).

Los animales tratados con el βA_{1-42} no mostraron diferencias estadísticamente significativas con el grupo Control, en la latencia para desarrollar la primera CGTC inducida con litio/pilocarpina (26.14 ± 2.57 min, n=15 y 28.71 ± 2.09 min, n=17,

respectivamente; $p > 0.1$; $U = 93.5$; figura 10A). El grupo βA mostró menor latencia para desarrollar el SE (31.39 ± 2.22 min, $n = 15$), a partir de la administración de pilocarpina, comparado con el grupo Control (45.71 ± 5.65 min, $n = 17$; $p = 0.04$; $U = 75$; figura 10B). Asimismo, se observó que los animales tratados con el βA_{1-42} mostraron menor latencia para desarrollar el SE a partir de la primera CGTC (5.14 ± 1.16 min, $n = 15$), comparado con el grupo Control (17 ± 4.81 min, $n = 17$; $p = 0.02$; $U = 70$; figura 10C). El número de CGTCs, desde la primera CGTC hasta el inicio del SE, fue mayor en el grupo βA (2.76 ± 0.47 , $n = 15$), comparado con el grupo Control (1.63 ± 0.24 , $n = 17$; $p = 0.03$, $U = 106$; figura 10D). El número de CGTCs por minuto, desde la primera CGTC hasta el inicio del SE, fue mayor en el grupo βA (1.18 ± 0.36 CGTCs/min, $n = 15$), comparado con el grupo Control (0.30 ± 0.07 CGTCs/min, $n = 17$; $p = 0.006$; $U = 50.5$; figura 10E).

La proporción de animales que desarrollaron el SE no fue estadísticamente diferente entre los grupos Control (19/29) y βA (19/28; $p > 0.1$; Prueba exacta de Fisher; figura 10F). Tampoco se encontraron diferencias significativas ni en la proporción de animales que murieron durante el SE entre los grupos Control (3/19) y βA (3/19; $p > 0.1$; Prueba exacta de Fisher; figura 10G), ni en la proporción de animales que sobrevivieron en los días posteriores al SE ($p > 0.1$; Prueba Log-Rank; figura 10H).

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA ESPONTÁNEA DEL HIPOCAMPO

Tres semanas después del tratamiento con oligómeros del βA_{1-42} , el poder espectral de la actividad electrográfica espontánea del hipocampo se ve disminuido en estos animales (figura 11A).

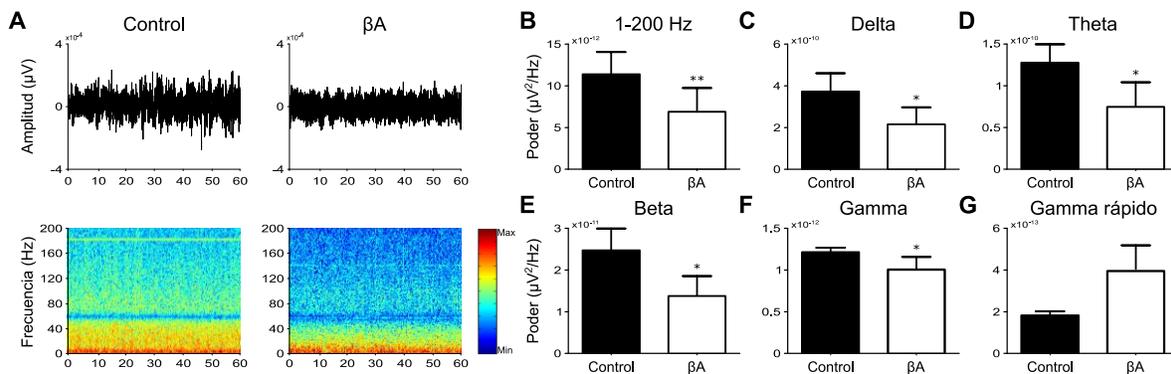


Figura 11. Efecto crónico del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica espontánea del hipocampo. A. Trazos y espectrogramas representativos de los grupos Control ($n = 14$) y βA ($n = 14$). Poder espectral promedio de las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (B), delta (1-4 Hz) (C), theta (4-10 Hz) (D), beta (10-30 Hz) (E), gamma (30-80 Hz) (F) y gamma rápido (80-200 Hz) (G). Se observó menor poder espectral en el grupo βA en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz, delta, theta, beta y gamma, comparado con el grupo Control. * y ** denotan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control y βA ($p \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$, respectivamente; Prueba U de Mann-Whitney).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el poder espectral de los grupos Control (n=14) y β A (n=14), en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz ($11 \times 10^{-12} \pm 3 \times 10^{-12}$ y $7 \times 10^{-12} \pm 3 \times 10^{-12}$ $\mu\text{V}^2/\text{Hz}$, respectivamente; $p=0.008$; $U=30$), delta ($3.74 \times 10^{-10} \pm 1.06 \times 10^{-10}$ y $2.18 \times 10^{-10} \pm 8.5 \times 10^{-11}$ $\mu\text{V}^2/\text{Hz}$, respectivamente; $p=0.02$; $U=37$), theta ($1.3 \times 10^{-10} \pm 2.8 \times 10^{-11}$ y $0.8 \times 10^{-10} \pm 3.8 \times 10^{-11}$ $\mu\text{V}^2/\text{Hz}$, respectivamente; $p=0.01$; $U=31$), beta ($2.5 \times 10^{-11} \pm 5 \times 10^{-12}$ y $1.3 \times 10^{-11} \pm 6 \times 10^{-12}$ $\mu\text{V}^2/\text{Hz}$, respectivamente; $p=0.01$; $U=30$) y gamma ($1.25 \times 10^{-12} \pm 4.23 \times 10^{-14}$ y $1.02 \times 10^{-12} \pm 3.22 \times 10^{-13}$ $\mu\text{V}^2/\text{Hz}$, respectivamente; $p=0.04$; $U=41$). En contraste, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la banda de frecuencia gamma rápido ($1.82 \times 10^{-13} \pm 1.67 \times 10^{-14}$ y $4.002 \times 10^{-13} \pm 1.33 \times 10^{-13}$ $\mu\text{V}^2/\text{Hz}$, respectivamente; $p>0.1$; $U=65$).

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DURANTE LA PRIMERA CRISIS GENERALIZADA TÓNICO-CLÓNICA (CGTC) INDUCIDA CON LITIO/PILOCARPINA

Posterior a la administración de pilocarpina, los animales de los grupos Control y β A presentaron actividad ictal convulsiva y electrográfica. Durante la primera CGTC (estadio 5 de la escala de Racine, 1972) inducida con litio/pilocarpina, los animales tratados con el βA_{1-42} presentaron un mayor incremento del poder espectral normalizado de la actividad electrográfica hipocampal (figura 12A).

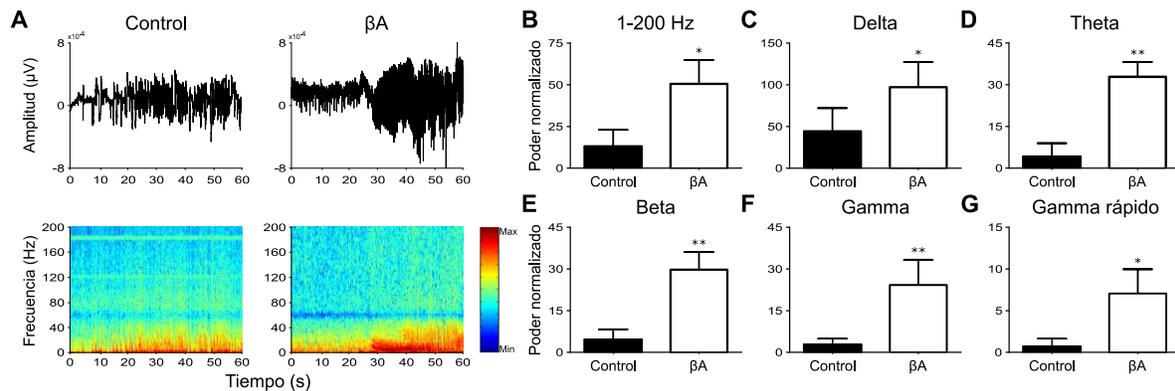


Figura 12. Efecto crónico del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica del hipocampo durante la primera CGTC inducida con litio/pilocarpina. A. Trazos y espectrogramas representativos de los grupos Control (n=8) y βA (n=9) durante la primera CGTC (estadio 5 de la escala de Racine, 1972). Poder espectral normalizado contra el registro basal, en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (B), delta (1-4 Hz) (C), theta (4-10 Hz) (D), beta (10-30 Hz) (E), gamma (30-80 Hz) (F) y gamma rápido (80-200 Hz) (G). Se observó un mayor incremento en la potencia espectral normalizada de la actividad electrográfica hipocampal en el grupo βA durante la primera CGTC, en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz, delta, theta, beta, gamma y gamma rápido, comparado con el grupo Control. * y ** denotan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control y βA ($p<0.05$ y $p<0.01$, respectivamente; Prueba U de Mann-Whitney).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el poder espectral normalizado de los grupos Control (n=8) y βA (n=9), en las bandas de frecuencia

de 1-200 Hz (14.79 ± 10.17 y 50.25 ± 49.74 % de la basal, respectivamente; $p=0.02$; $U=5$), delta (44.50 ± 37.98 y 99.32 ± 49.64 % de la basal, respectivamente; $p=0.03$; $U=6$), theta (4.72 ± 2.01 y 34.18 ± 6.06 % de la basal, respectivamente; $p=0.001$; $U=0$), beta (4.18 ± 2.62 y 30.52 ± 7.63 % de la basal, respectivamente; $p=0.004$; $U=2$), gamma (3.10 ± 2.03 y 24.44 ± 11.55 % de la basal, respectivamente; $p=0.007$; $U=3$) y gamma rápido (1.623 ± 0.8012 y 7.402 ± 3.263 % de la basal, respectivamente; $p=0.03$; $U=6$).

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DURANTE EL INICIO DEL SE INDUCIDO CON LITIO/PILCOARPINA

Posterior a la primera CGTC, la actividad convulsiva aumentó gradualmente hasta que los animales de los grupos Control y βA presentaron crisis convulsivas generalizadas de forma continua (estadios 3-5 de la escala de Racine, 1972), estableciéndose así el SE. Durante el inicio del SE inducido con litio/pilocarpina, los animales tratados con el βA_{1-42} presentaron un mayor incremento del poder espectral normalizado de la actividad electrográfica hipocampal (figura 13A).

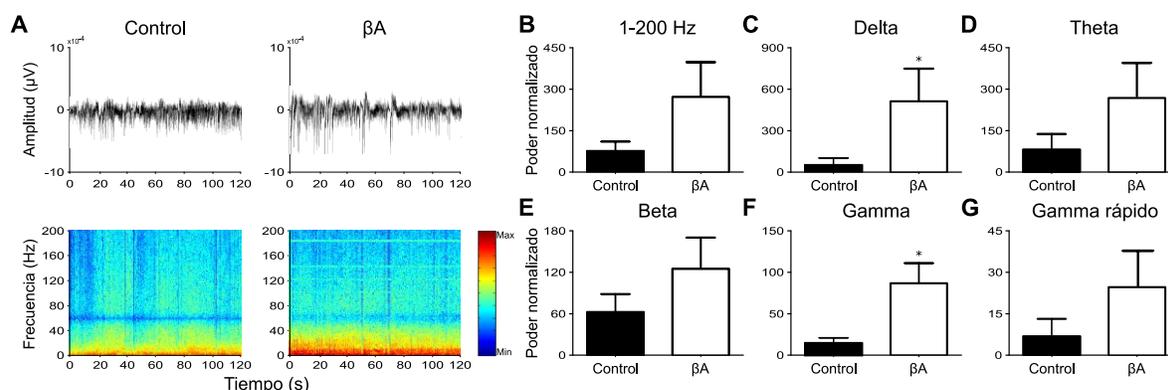


Figura 13. Efecto crónico del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica del hipocampo durante el inicio del SE inducido con litio/pilocarpina. A. Trazos y espectrogramas representativos de los grupos Control (n=8) y βA (n=9) durante el inicio del SE. Poder espectral normalizado contra el registro basal, en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (B), delta (1-4 Hz) (C), theta (4-10 Hz) (D), beta (10-30 Hz) (E), gamma (30-80 Hz) (F) y gamma rápido (80-200 Hz) (G). Se observó un mayor incremento en la potencia espectral normalizada de la actividad electrográfica hipocampal en el grupo βA durante el establecimiento del SE, en las bandas de frecuencia delta y gamma, comparado con el grupo Control. * denota diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control y βA ($p \leq 0.05$; Prueba U de Mann-Whitney).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el poder espectral normalizado de los grupos Control (n=8) y βA (n=9), en las bandas de frecuencia delta (64.17 ± 37.15 y 510.2 ± 256.9 % de la basal, respectivamente; $p=0.01$; $U=9$) y gamma (18.31 ± 6.68 y 78.92 ± 27.42 % de la basal, respectivamente; $p=0.03$; $U=12$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (66.28 ± 31.24 y 271.8 ± 14.7 % de la basal, respectivamente; $p=0.0603$; $U=14$), theta (86.86 ± 50.57 y 265.8 ± 148.9 % de la

basal, respectivamente; $p > 0.1$; $U = 17$), beta (64.16 ± 23.55 y 128.1 ± 42.76 % de la basal, respectivamente; $p > 0.1$; $U = 19$) y gamma rápido (7.64 ± 4.58 y 24.18 ± 12.94 ; $p = 0.0603$; $U = 14$).

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DURANTE EL SE INDUCIDO CON LITIO/PILCOARPINA

Dos horas después de haberse establecido el SE inducido con litio/pilocarpina, el grupo βA ($n = 9$) mostró mayor incremento de la potencia espectral comparado con el grupo Control ($n = 8$) (figura 14A).

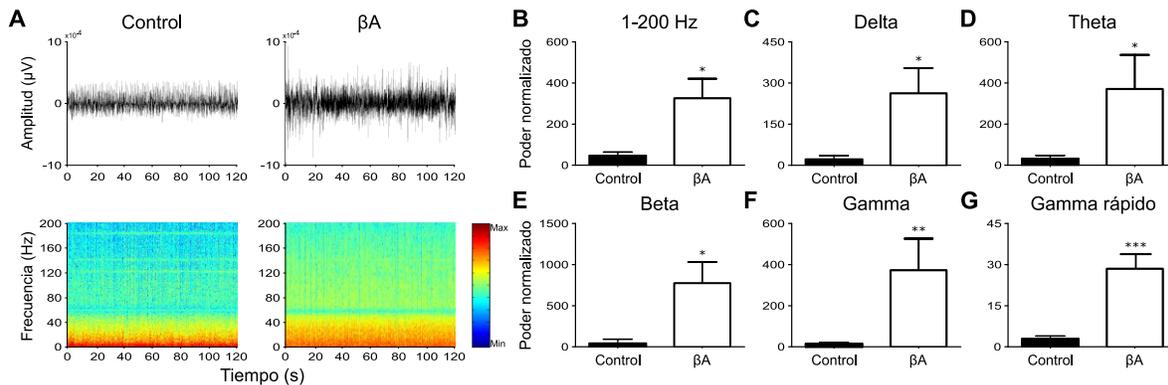


Figura 14. Efecto crónico del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica del hipocampo durante el SE inducido con litio/pilocarpina. A. Trazos y espectrogramas representativos de los grupos Control ($n = 8$) y βA ($n = 9$) durante el SE. Poder espectral normalizado contra el registro basal, en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (B), delta (1-4 Hz) (C), theta (4-10 Hz) (D), beta (10-30 Hz) (E), gamma (30-80 Hz) (F) y gamma rápido (80-200 Hz) (G). Se observó un mayor incremento en la potencia espectral normalizada de la actividad electrográfica hipocampal en el grupo βA durante el establecimiento del SE, en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz, delta, theta, beta, gamma y gamma rápido, comparado con el grupo Control. *, ** y ** denotan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control y βA ($p < 0.05$, $p < 0.01$ y $p < 0.001$, respectivamente; Prueba U de Mann-Whitney).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el poder espectral normalizado de los grupos Control ($n = 8$) y βA ($n = 9$), en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (45.20 ± 71.12 y 318.3 ± 130.9 % de la basal, respectivamente; $p = 0.05$; $U = 9$), delta (34.88 ± 14.13 y 256.7 ± 111.7 % de la basal, respectivamente; $p = 0.02$; $U = 7$), theta (49.27 ± 22.18 y 385.1 ± 143.5 % de la basal, respectivamente; $p = 0.02$; $U = 7$), beta (65.52 ± 24.58 y 707.9 ± 280.2 % de la basal, respectivamente; $p = 0.03$; $U = 8$), gamma (9.14 ± 3.40 y 373 ± 159.5 % de la basal, respectivamente; $p = 0.004$; $U = 3$) y gamma rápido (3.03 ± 0.98 y 28.06 ± 8.49 % de la basal, respectivamente; $p = 0.0006$; $U = 0$).

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA ESPONTÁNEA DE CAMPO DEL HIPOCAMPO DE RATAS EPILÉPTICAS *IN VITRO*

Una vez que los animales de los grupos Control y βA que desarrollaron el SE, presentaron CER, se obtuvieron rebanadas de cerebro y se llevaron a cabo registros de la actividad espontánea de campo de la capa piramidal del área CA1 del hipocampo ventral. El grupo de animales tratados con el βA_{1-42} mostró mayor poder espectral, comparado con el grupo control (figura 15A).

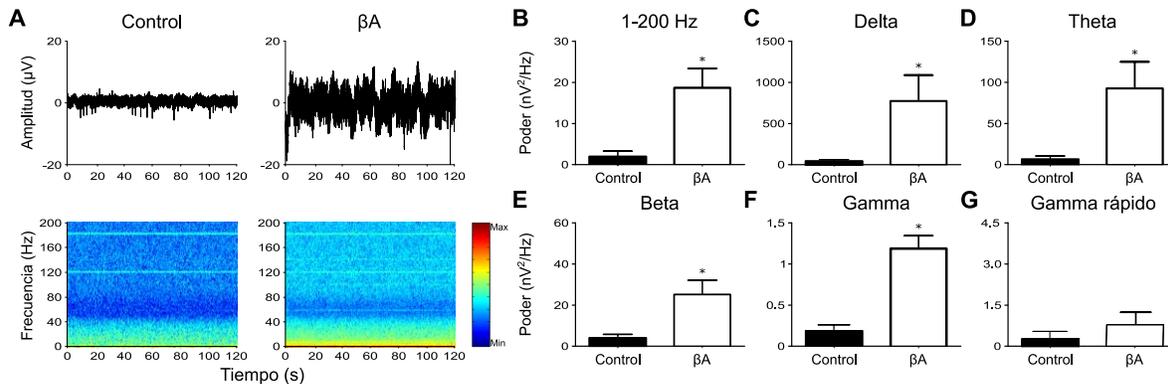


Figura 15. Efecto crónico del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica de campo del hipocampo de ratas epilépticas *in vitro*. A. Trazos y espectrogramas representativos de la actividad espontánea de campo del área CA1 del hipocampo de ratas epilépticas de los grupos Control (n=8) y βA (n=9) en condiciones basales. Poder espectral promedio de las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (B), delta (1-4 Hz) (C), theta (4-10 Hz) (D), beta (10-30 Hz) (E), gamma (30-80 Hz) (F) y gamma rápido (80-200 Hz) (G). Se observó mayor poder espectral de la actividad electrográfica hipocámpal en el grupo βA en condiciones basales, en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz, delta, theta, beta y gamma, comparado con el grupo Control. * denota diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control y βA ($p \leq 0.05$, Prueba U de Mann-Whitney).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el poder espectral de los grupos Control (n=7) y βA (n=13), en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (1.21 ± 0.76 y 18.50 ± 5.53 nV²/Hz, respectivamente; $p=0.006$; U=10), delta (28.95 ± 25.5 y 772.5 ± 278.7 nV²/Hz, respectivamente; $p=0.004$; U=9), theta (6.84 ± 5.12 y 97.67 ± 45.17 nV²/Hz, respectivamente; $p=0.003$; U=8) y beta (2.65 ± 1.47 y 25.22 ± 7.17 nV²/Hz, respectivamente; $p=0.003$; U=8) y gamma (0.21 ± 0.11 y 0.12 ± 0.20 nV²/Hz, respectivamente; $p=0.002$; U=6). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la banda de frecuencia gamma rápido (0.38 ± 0.24 y 0.83 ± 0.54 ; $p > 0.1$; U= 28).

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DE ANIMALES EPILÉPTICOS DURANTE LA INDUCCIÓN DE ACTIVIDAD EPILEPTIFORME CON 4AP *IN VITRO*

En las mismas rebanadas descritas en la sección anterior, después de la administración de 4AP (100 μ M) a la perfusión, se observó la aparición de espigas poblacionales de gran amplitud (\sim 50-100 μ V) en el registro de la actividad electrográfica de la capa piramidal del área CA1 del hipocampo de ratas epilépticas de los grupos Control (n=4) y βA (n=5) (figura 16A).

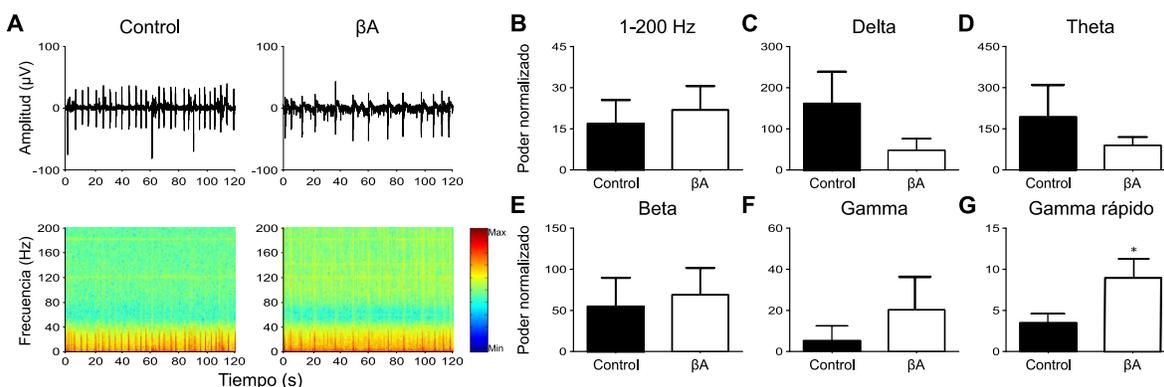


Figura 16. Efecto crónico del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica de campo del hipocampo de ratas epilépticas durante la inducción de actividad epileptiforme con 4AP *in vitro* (ambos grupos fueron sometidos a la aplicación de 4AP). A. Trazos y espectrogramas representativos de la actividad de campo del área CA1 del hipocampo de ratas epilépticas de los grupos Control (n=4) y βA (n=5) durante la actividad epileptiforme inducida con 4AP. Poder espectral normalizado con respecto al registro basal, de las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (B), delta (1-4 Hz) (C), theta (4-10 Hz) (D), beta (10-30 Hz) (E), gamma (30-80 Hz) (F) y gamma rápido (80-200 Hz) (G). Se observó mayor poder espectral de la actividad electrográfica hipocampal en el grupo βA durante la actividad epileptiforme inducida con 4AP, en la banda de frecuencia gamma rápido, comparado con el grupo Control. * denota diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control y βA ($p \leq 0.05$; Prueba U de Mann-Whitney).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el poder espectral de la actividad epileptiforme inducida por 4AP en los grupos Control (n=4) y βA (n=5) en la banda de frecuencia gamma rápido (3.22 ± 1.43 y 8.37 ± 2.51 % de la basal, respectivamente; $p=0.03$; $U=2$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (16.33 ± 80.90 y 19.47 ± 9.79 % de la basal, respectivamente; $p > 0.1$; $U=8$), delta (161.4 ± 103.3 y 43.75 ± 19.9 % de la basa, respectivamente; $p > 0.1$; $U=9$), theta (178.8 ± 153.1 y 64.4 ± 5.64 % de la basal, respectivamente; $p > 0.1$; $U=10$), beta (52.74 ± 41.35 y 65.87 ± 39.52 % de la basal, respectivamente; $p > 0.1$; $U=7$) y gamma (5.03 ± 2.01 y 20.8 ± 17.74 % de la basal, respectivamente; $p > 0.1$; $U=10$).

EFFECTO DE LA APLICACIÓN AGUDA DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DE ANIMALES EPILEPTICOS DURANTE LA INDUCCIÓN DE ACTIVIDAD EPILEPTIFORME CON 4AP *IN VITRO*

Una hora posterior a la administración de 4AP (100 μM), se agregó el βA_{1-42} (30 nM) a la perfusión. En ambos grupos experimentales, se observó que la aplicación aguda del βA_{1-42} induce una disminución de la amplitud de la actividad epileptiforme inducida con la 4AP, en el registro de la actividad electrográfica de campo de la capa piramidal del área CA1 del hipocampo de ratas epilépticas, de los grupos Control (n=4) y βA (n=5; figura 17A, comparar con figura 16).

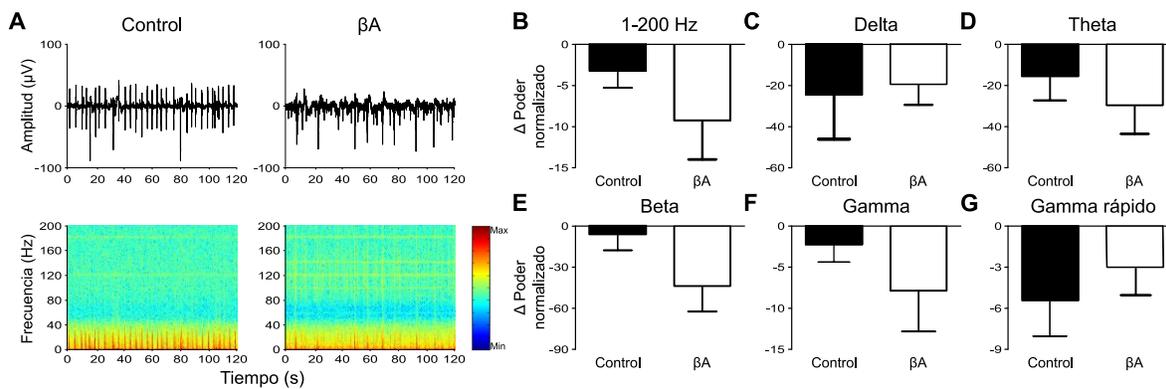


Figura 17. Efecto *in vitro* de la administración aguda del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica de campo del hipocampo de ratas epilépticas durante la inducción de actividad epileptiforme con 4AP (ambos grupos fueron sometidos a la aplicación de 4AP y del βA_{1-42}). A. Trazos y espectrogramas representativos de la actividad de campo del área CA1 del hipocampo de ratas epilépticas de los grupos Control (n=4) y βA (n=5), posterior a la aplicación aguda del βA_{1-42} durante la actividad epileptiforme inducida con 4AP. Δ del poder espectral normalizado con respecto a la condición 4AP, de las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (B), delta (1-4 Hz) (C), theta (4-10 Hz) (D), beta (10-30 Hz) (E), gamma (30-80 Hz) (F) y gamma rápido (80-200 Hz) (G). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la actividad electrográfica hipocámpal entre los grupos Control y βA ($p > 0.05$; Prueba U de Mann-Whitney).

Una vez establecida la inhibición de la actividad epileptiforme inducida por la aplicación aguda del βA_{1-42} (comparar figuras 16 y 17), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la actividad entre los grupos Control (n=4) y βA (n=5), en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (4.18 ± 1.70 y 3.68 ± 1.23 % del basal, respectivamente; $p > 0.1$; U=7), delta (124.7 ± 121.8 y 20.3 ± 12.72 % del basal, respectivamente; $p > 0.1$; U=5), theta (11.93 ± 3.93 y 23.91 ± 12.31 % del basal, respectivamente; $p > 0.1$; U=7), beta (6.29 ± 3.53 y 6.15 ± 1.72 % del basal, respectivamente; $p > 0.1$; U=7), gamma (1.78 ± 0.35 y 1.61 ± 0.44 % del basal, respectivamente; $p > 0.1$; U=7) y gamma rápido (1.27 ± 0.21 y 2.71 ± 0.95 % del basal, respectivamente; $p > 0.1$; U=4).

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA INDUCIDA CON PTZ

Finalmente, en otros grupos de animales inyectados intracisternalmente con el βA_{1-42} o con su vehículo, se indujeron crisis convulsivas mediante la administración de pentilenetetrazol, una, tres y cinco semanas posteriores a la administración del βA_{1-42} (figura 18).

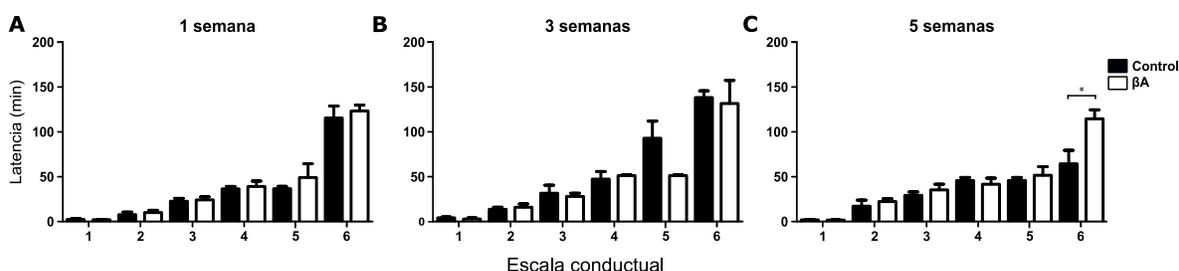


Figura 18. Latencias para desarrollar los estadios conductuales de la escala de actividad convulsiva propuesta por Luttjohan y colaboradores (2009), después de (A) una ($n=5$ por grupo), (B) tres ($n=7$ por grupo) y (C) cinco ($n=5$ por grupo) semanas de la administración del péptido βA_{1-42} o de su vehículo. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la latencia para desarrollar el estadio 6 (CGTC + saltos violentos) en la semana 5 después de la administración del βA_{1-42} o de su vehículo, en donde el grupo βA presentó una latencia mayor. * denota diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$; Prueba U de Mann-Whitney).

Una semana después de la administración de oligómeros del βA_{1-42} o de su vehículo (figura 18A), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control ($n=5$) y βA ($n=5$) en la latencia para desarrollar los estadios conductuales descritos por Luttjohan y colaboradores (2009): estadio 1 (2.4 ± 1.16 y 2 ± 0.44 min, respectivamente; $p > 0.1$; $U=10.5$), estadio 2 (7.8 ± 2.74 y 10.71 ± 2.49 min, respectivamente; $p > 0.1$; $U=12$), estadio 3 (22.8 ± 3.12 y 24.2 ± 3.44 min, respectivamente; $p > 0.1$; $U=10$), estadio 4 (36.6 ± 2.65 y 39.2 ± 5.99 min, respectivamente; $p > 0.1$; $U=12$), estadio 5 (36.8 ± 2.57 y 49.2 ± 15.33 min, respectivamente; $p > 0.1$; $U=12.5$) y estadio 6 (115.8 ± 13.29 y 123.5 ± 3.75 min, respectivamente; $p > 0.1$; $U=8$).

Tres semanas después de la administración de oligómeros del βA_{1-42} o de su vehículo (figura 18B), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control ($n=7$) y βA ($n=7$) en la latencia para desarrollar los estadios conductuales descritos por Luttjohan y colaboradores (2009): estadio 1 (3.71 ± 0.64 y 2.42 ± 0.81 min, respectivamente; $p > 0.1$; $U=13$), estadio 2 (13.57 ± 3.01 y 15.2 ± 3.54 min, respectivamente; $p > 0.1$; $U=14.5$), estadio 3 (25.43 ± 7.11 y 23.71 ± 3.006 min, respectivamente; $p > 0.1$; $U=22.5$), estadio 4 (40.14 ± 6.95 y 44.86 ± 4.90 min, respectivamente; $p > 0.1$; $U=19.5$), estadio 5 (76.14 ± 14.87 y 44.86 ± 4.90 min, respectivamente; $p > 0.07$; $U=12.5$) y estadio 6 (131.6 ± 7.09 y 125.3 ± 24.53 min, respectivamente; $p > 0.1$; $U=6.5$).

Cinco semanas después de la administración de oligómeros del βA_{1-42} o de su vehículo (figura 18C), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control (n=5) y βA (n=5) en la latencia para desarrollar los estadios conductuales descritos por Luttjohan y colaboradores (2009): estadio 1 (1.75 ± 0.47 y 1.5 ± 0.28 min, respectivamente; $p > 0.1$; U=7), estadio 2 (16.25 ± 6.49 y 21.25 ± 3.06 min, respectivamente; $p > 0.1$; U=6), estadio 3 (27.75 ± 3.66 y 33.5 ± 6.03 min, respectivamente; $p > 0.1$; U=7), estadio 4 ($43.5.14 \pm 3.17$ y 39.5 ± 6.53 min, respectivamente; $p > 0.1$; U=5) y estadio 5 (43.5 ± 3.17 y 49 ± 9.24 min, respectivamente; $p > 0.1$; U=7). En contraste, se observó que el grupo βA presentó una mayor latencia para presentar el estadio 6 (61.33 ± 14.33 y 109 ± 9.53 min, respectivamente; $p = 0.03$; U=0), comparado con el grupo Control.

DISCUSIÓN

En esta tesis se investigó el efecto de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la susceptibilidad para presentar actividad convulsiva inducida con dos modelos de actividad epileptiforme mecanísticamente diferentes y sobre la actividad electrográfica hipocampal, tanto *in vivo* como *in vitro*. Además, se investigó el efecto crónico de la administración de oligómeros del βA_{1-42} y de la aparición de las CER sobre la actividad electrográfica hipocampal antes y durante la inducción de actividad epileptiforme *in vitro*.

Tres semanas después de la administración intracisternal de oligómeros del βA_{1-42} , los animales desarrollaron el SE de forma más rápida a partir de la primera CGTC y presentaron un número mayor de CGTCs durante la inducción de actividad convulsiva con el modelo de litio/pilocarpina. Estos resultados comprueban cierta nuestra hipótesis y están acordes con lo reportado en los pacientes con la EA y en diferentes modelos transgénicos de la enfermedad, en donde se ha observado una susceptibilidad mayor para presentar el SE (Armon, Peterson & Liwnicz, 2000; Bottaro et al., 2007; Hommet et al., 2007; Tanaka et al., 2013; Assis et al., 2015; Horváth et al., 2016) y la presencia de crisis convulsivas generalizadas con mayor frecuencia y severidad (Hauser et al., 1986; Hessdorfer et al., 1996; Amatriek et al., 2006; Westmark et al., 2008; Hunter et al., 2012; Cheng et al., 2015; Horváth et al., 2016), comparados con sujetos sanos o con animales silvestres, respectivamente.

Sin embargo, el aumento en la susceptibilidad para desarrollar actividad convulsiva en los animales inyectados con el βA_{1-42} no se observa en todos los aspectos de la misma, pues estos animales no mostraron diferencias en la susceptibilidad para desarrollar las CGTCs ni en la mortalidad asociada al SE, comparados con los animales inyectados con vehículo. Estos resultados están en contra con lo reportado en los pacientes con la EA en las etapas prodrómica o demencial y con diferentes modelos transgénicos de la enfermedad, en donde se ha observado una mayor susceptibilidad para presentar las CGTCs (Hessdorfer et al., 1996; Hommet et al., 2007; Westmark et al., 2008; Hunter et al., 2012; Irizarry et al., 2012; Aller-Alvarez et al., 2015; Chan et al., 2015) y mortalidad mayor asociada a las crisis convulsivas (Hauser et al., 1986; Westmark et al., 2008; Chan et al., 2015), comparados con sujetos sanos o con animales silvestres, respectivamente. Esta discrepancia en los resultados podría deberse a las diferencias en las alteraciones neuropatológicas presentes en los pacientes con la EA y en los modelos transgénicos de la misma, comparados con los animales inyectados con el βA_{1-42} ; pues se ha determinado que si bien los pacientes con la EA y los modelos transgénicos de la misma cursan con una elevación del βA_{1-42} en el cerebro (Westmark et al., 2008; Picco et al., 2011; Hunter et al., 2012; d'Orsi & Specchio, 2014), también exhiben una marcada atrofia hipocampal (Armon, Peterson & Liwnicz, 2000; Picco et al., 2011; d'Orsi & Specchio, 2014; Aller-Alvarez et al., 2015; Yan et al., 2012), mayor deposición de placas seniles (Armon, Peterson & Liwnicz, 2000; Yan et al., 2012) y de ONF (Armon, Peterson & Liwnicz,

2000; Yan et al., 2012), pérdida neuronal (Armon, Peterson & Liwnicz, 2000; Yan et al., 2012) y un marcado cambio en los circuitos neuronales asociados al declive cognoscitivo (Hesdorffer et al., 1996; Armon, Peterson & Liwnicz, 2000; Picco et al., 2011; Irizarry et al., 2012; Vossel et al., 2013; d'Orsi & Specchio, 2014; Aller-Alvarez et al., 2015). Juntas, estas alteraciones podrían potenciar los efectos patológicos de la agregación de los oligómeros del βA_{1-42} sobre la susceptibilidad para desarrollar las CGTCs y sobre la mortalidad asociada a las crisis convulsivas, que si bien se observan en los pacientes con la EA y en los modelos transgénicos de la misma (Palop & Mucke, 2009; Scharfman, 2012; Born, 2015), no se observan en nuestro modelo experimental. De hecho, antes de la inducción de actividad convulsiva, la medición del desempeño cognoscitivo de los animales inyectados intracisternalmente con oligómeros del βA_{1-42} (n=5) no se ve alterada (Figura complementaria 1), comparada con animales inyectados intracisternalmente con vehículo que tampoco muestran deterioro cognoscitivo (n=7) o con animales inyectados de forma bilateral en el hipocampo con 800 pmoles de oligómeros del βA_{1-42} que si muestran deterioro cognoscitivo. Esta observación sugiere que los efectos proconvulsivos del βA_{1-42} reportados en este trabajo de tesis podrían asociarse con los efectos del βA_{1-42} en etapas preclínicas de la EA y, es por ello, que no se lograron reproducir la totalidad de las observaciones llevadas a cabo en los pacientes con la EA en etapas prodrómicas o demenciales, o en los modelos transgénicos de la enfermedad (Palop & Mucke, 2009; Scharfman, 2012; Born, 2015).

Los animales inyectados intracisternalmente con oligómeros del βA_{1-42} presentaron menor actividad espontánea hipocampal en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz, delta, theta, beta y gamma, tres semanas después de la administración del βA_{1-42} . Lo anterior, concuerda con las observaciones llevadas a cabo en pacientes con la EA, quienes muestran un enlentecimiento difuso y progresivo del EEG (Brenner, Reynolds & Ulrich, 1988; Ezquerra et al., 1999; Amatniek et al., 2006; D'Amelio & Rossini, 2012; Poil et al., 2013). De la misma manera, las oscilaciones hipocampales se encuentran disminuidas en diferentes modelos transgénicos de la EA (Wang et al., 2002; Weeson et al., 2011b; Platt et al., 2011; Verret et al., 2012; Siwek et al., 2015; Scott et al., 2016). Así mismo, la aplicación *in vitro* e *in vivo* de oligómeros del βA_{1-42} reduce la actividad oscilatoria hipocampal (Balleza-Tapia et al., 2010; Peña et al., 2010; Peña-Ortega & Bernal-Pedraza, 2012; Alvarado-Martínez, Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2013). Algunos autores han correlacionado esta hipoactividad en el EEG con el riesgo de padecer epilepsia en los pacientes con la EA (Ezquerra et al., 1999; Amatniek et al., 2006; Bottaro et al., 2007; Born, 2015), así como con un desempeño cognoscitivo reducido (Bennys et al., 2001; Hatz et al., 2015). La hipoactividad hipocampal observada en los animales inyectados intracisternalmente con oligómeros del βA_{1-42} , podría sugerir que estos animales se encuentran en el proceso inicial de la epileptogénesis, como se ha observado en otros modelos experimentales de epilepsia (Feng et al., 2015; Meyer et al., 2016). En este sentido, la hipoactividad hipocampal observada en los animales inyectados intracisternalmente con oligómeros del βA_{1-42} podría estar relacionada con la disminución del umbral para exhibir el SE en estos

animales, de manera similar a lo reportado con el efecto de la depresión cortical propagada sobre la inducción de actividad epileptiforme *in vitro* e *in vivo* (Berger et al., 2008; Haghiri et al., 2009; Khaleghi et al., 2011; Ghadiri et al., 2012; Rogawski, 2012; Kramer et al., 2017).

Los animales inyectados intracisternalmente con oligómeros del βA_{1-42} presentaron mayor poder espectral de la actividad electrográfica hipocampal durante la primera CGTC en todas las bandas de frecuencia analizadas. A pesar de que los animales no mostraron mayor susceptibilidad para la aparición de la primera CGTC, estos animales exhibieron mayor actividad electrográfica hipocampal durante esta primera CGTC en todas las bandas de frecuencia analizadas. Las alteraciones de la actividad electrográfica durante las crisis convulsivas son una variable potencialmente relevante para el estudio de la epilepsia y actualmente son aceptadas como un marcador electrofisiológico de la actividad ictal por la ILAE (Fisher et al., 2005; Engel et al., 2013; Fisher et al., 2014; Fisher, 2014). No obstante, la gravedad de la actividad convulsiva y los hallazgos electrográficos durante ésta no siempre se encuentran asociados, como se ha observado al probar la eficacia de diversos fármacos antiepilepticos en ensayos clínicos (Van Wieringen et al., 1987) y en modelos experimentales de epilepsia (Duveau et al., 2016), e inclusive durante la inducción experimental del SE (Phelan et al., 2015). Sin embargo, la atenuación o el agravamiento de la actividad electrográfica durante las crisis convulsivas es indicio del deterioro cognoscitivo provocado por las crisis en los pacientes con epilepsia (Espie et al., 1998; Cho et al., 2012; Schreiber et al., 2014; Steriade et al., 2016). En este sentido, los pacientes con la EA y los modelos transgénicos de la enfermedad que han presentado actividad convulsiva, exhiben un mayor deterioro cognoscitivo (Hazra et al., 2016). Por lo tanto, el incremento exacerbado de la actividad hipocampal en los animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} podría indicar un detrimento cognoscitivo mayor como resultado de la actividad ictal.

Por otro lado, los animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} presentaron mayor potencia de la actividad electrográfica hipocampal durante el inicio del establecimiento del SE, particularmente en las bandas de frecuencia delta y gamma. Se ha reportado que existe un incremento de la actividad electrográfica en la banda de frecuencia delta-theta al inicio de las crisis convulsivas y en la banda de frecuencia gamma conforme aumenta la severidad de las crisis convulsivas durante la inducción del SE (Tse et al., 2014; Santana-Gómez et al., 2015). En este sentido, durante la inducción experimental de crisis convulsivas ocurre un aumento de la actividad electrográfica en la banda de frecuencia delta, lo cual correlaciona con la frecuencia de las espigas (Gurbanova et al., 2008) y con la actividad sincrónica de las neuronas piramidales hipocampales (Tiesinga et al., 2001). Por otro lado, el aumento del poder espectral en la banda de frecuencia gamma durante las crisis convulsivas, se ha asociado con la activación rítmica de interneuronas GABAérgicas y su interacción con las neuronas piramidales (Whittington, Traub & Jefferys, 1995; Gurbanova et al., 2008; Santana-Gómez et al., 2015). Con base en lo anterior, se ha interpretado que durante la

epileptogénesis existe una falla en los mecanismos que normalmente detienen la actividad hipersincrónica de las crisis convulsivas y que conllevan al inicio del SE (Gurvanoba et al., 2008; Ma & Prince, 2012; Santana-Gómez et al., 2015). En los modelos transgénicos de la EA, se ha observado que los circuitos inhibitorios hipocampales se encuentran deteriorados (Koliastos et al., 2006; Palop et al., 2007; Verret et al., 2012; Verdaguer et al., 2015; Palop & Mucke, 2016), e incluso, algunos autores han propuesto que este deterioro conlleva a la susceptibilidad para exhibir crisis epilépticas (Palop et al., 2007; Verret et al., 2012; Palop et al., 2007; Scharfman, 2012; Chin & Scharfman, 2013) y a las anomalías cognitivas observadas en los pacientes con la EA (Palop & Mucke, 2016). Estos datos sugieren que los animales inyectados con los oligómeros del βA_{1-42} podrían tener deteriorados los circuitos inhibitorios hipocampales en un momento previo a la inducción del SE y, por ello, exhiben una susceptibilidad mayor para establecer el SE y muestran una actividad electrográfica hipocampal incrementada durante éste.

De la misma forma, 2 horas después del establecimiento del SE, los animales inyectados con los oligómeros del βA_{1-42} mostraron un mayor incremento de la actividad electrográfica hipocampal en todas las bandas de frecuencia analizadas. Se ha reportado que la actividad convulsiva prolongada induce una variedad de efectos deletéreos sobre el sistema nervioso, incluyendo muerte neuronal, atrofia hipocampal y alteraciones neuronales, electrográficas, conductuales, cognitivas y de la conectividad funcional (Turski et al., 1984; Cole, 2004; Di Bonaventura et al., 2009; Wang et al., 2012; Trinka et al., 2015; Trinka, Brigo & Shorvon, 2016). Por otro lado, se ha demostrado que la actividad sináptica aumenta los niveles extracelulares del βA en los modelos transgénicos de la EA (Cirrito et al., 2005; Bero et al., 2011). En el mismo sentido, los modelos transgénicos de la EA que han experimentado el SE muestran un número mayor de placas seniles y de ONF en el hipocampo y áreas parahipocampales (Yan et al., 2012), un aumento en la inmunoreactividad de la enzima β -secretasa (Yan et al., 2012b) y una acentuada muerte neuronal (Yan et al., 2012). Lo anterior sugiere que los animales a los que se les administraron crónicamente los oligómeros del βA_{1-42} y que experimentaron el SE, podrían expresar los marcadores neuropatológicos de la EA de forma exacerbada. Lo anterior, aún está por determinarse de forma experimental.

Una vez que los animales desarrollaron la fase crónica de la epileptogénesis, es decir, una vez que los circuitos neuronales encargados de la generación de las CER se han reconfigurado patológicamente y que los animales exhibieron crisis convulsivas de forma espontánea (Pitkänen et al., 2015), se realizaron registros electrofisiológicos de campo de la actividad hipocampal en rebanadas de cerebro. Los animales a los que se les administraron los oligómeros del βA_{1-42} y que mostraron la presencia de CER, exhibieron una actividad espontánea hipocampal incrementada en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz, delta, theta y beta, además de hipoactividad en la banda de frecuencia gamma. Se ha descrito que durante el periodo crónico de la epileptogénesis, se presentan una serie de

alteraciones neuropatológicas en los circuitos neuronales del hipocampo de los modelos experimentales de epilepsia y de los pacientes con esta enfermedad, observándose la pérdida selectiva de neuronas piramidales reflejada en una atrofia hipocampal severa (Cavazos & Sutula, 1990; Bouilleret et al., 1999; Riban et al., 2002; Volcy-Gómez, 2004; Arabadzisz et al., 2005; Téllez-Zenteno & Ladino, 2013; Sendrowski & Sobaniex, 2013), la proliferación de interneuronas inhibitorias (Arabadzisz et al., 2005; Koliastos et al., 2006; Sendrowski & Sobaniex, 2013), el brote de fibras excitatorias con conexiones aberrantes (Bouilleret et al., 1999; Sendrowski & Sobaniex, 2013), astrogliosis y microgliosis difusa (Bouilleret et al., 1999; Téllez-Zenteno & Ladino, 2013; Sendrowski & Sobaniex, 2013), incremento de la excitabilidad basal de las neuronas y del circuito neuronal del hipocampo (Bouilleret et al., 1999; Riban et al., 2002; Arabadzisz et al., 2005; Smeal et al., 2012; Jones et al., 2015), el incremento de la actividad metabólica hipocampal (Bouilleret et al., 1999) y el aumento del glutamato extracelular basal *in vivo* (Soukupova et al., 2015). A su vez, los modelos experimentales de la EA muestran alteraciones similares en el hipocampo, como la pérdida selectiva de neuronas piramidales (Yan et al., 2012), que se asocia con una atrofia hipocampal severa (Elgh et al., 2005), proliferación de interneuronas inhibitorias (Palop et al., 2007; Verret et al., 2012; Verdaguer et al., 2015) y brotes ectópicos de proyecciones excitatorias (Palop et al., 2007), astrogliosis y microgliosis difusa (Avila-Muñoz & Arias, 2014), así como incremento de la excitabilidad basal de las neuronas y del circuito hipocampal (Palop et al., 2007; Minkeviciene et al. 2009 ; Verret et al., 2012; Tamagnini et al., 2015; Siwek et al., 2015). A este respecto, los animales inyectados intracisternalmente con oligómeros del βA_{1-42} que no desarrollaron el SE ni las CER, sin embargo, mostraron un aumento ligero de la actividad electrográfica espontánea del hipocampo *in vitro*, principalmente en la banda de frecuencia beta (Figura complementaria 2). Estos resultados coinciden con los reportes sobre la actividad electrográfica hipocampal de los modelos transgénicos de la EA, en donde se observa que la actividad oscilatoria rápida, en donde se incluye a la banda de frecuencia beta, aumentan conforme aumenta la edad de estos animales (Wang et al., 2002; Weeson et al., 2011; Weeson et al., 2011b; Verret et al., 2012; Gurevicius, Lipponen & Tanila, 2013), e incluso se piensa que es el reflejo de la reconfiguración de los circuitos neuronales hacia un estado de hiperexcitabilidad (Minkeviciene et al., 2009). Esto sugiere que la sola administración de oligómeros del βA_{1-42} podría inducir un aumento en la excitabilidad del circuito hipocampal, sensibilizando a los circuitos neuronales para involucrarse en la inducción de la epilepsia. El que los animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} que desarrollaron el SE y las CER, exhibieran mayor actividad electrográfica espontánea del hipocampo, podría ser la convergencia de dos procesos neuropatológicos que están potenciando la aparición de las alteraciones neuropatológicas de ambas enfermedades. De la misma manera, la disminución de la actividad electrográfica en la banda de frecuencia gamma en los animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} , podría deberse a la potenciación de los efectos de ambas patologías. Por otro lado, la disminución de la banda de frecuencia gamma podría ser indicio de que la actividad de las interneuronas inhibitorias se encuentra deteriorada, como se ha observado en los modelos

experimentales de la EA (Klein et al., 2016; Palop & Mucke, 2016), así como en los de epilepsia (Urrestarazu et al., 2006; Palop & Mucke, 2016), lo que en conjunto sugiere que estas alteraciones en las neuronas inhibitorias pudieran también participar en el deterioro cognoscitivo de los pacientes con la EA y en los modelos transgénicos de esta enfermedad (Montgomery & Buzsáki, 2007).

Para investigar el efecto crónico de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la excitabilidad de los circuitos neuronales de los animales que desarrollaron el SE y las CER durante una crisis, se llevaron a cabo registros electrofisiológicos de campo de la capa piramidal del área CA1 del hipocampo durante la inducción de actividad epileptiforme con 4AP *in vitro*. Como ya se ha reportado, la aplicación de 4AP (100 μ M) indujo actividad electrográfica epileptiforme con descargas tónicas de alto voltaje ($\sim 90\mu$ V) (Avoli & Williamson, 1996; Barboise & Avoli, 1997; Peña & Alavez-Pérez, 2006). Los animales a los que se les administraron oligómeros del βA_{1-42} mostraron una actividad electrográfica hipocampal con mayor potencia durante la actividad epileptiforme en la banda de frecuencia gamma rápido. Durante la inducción de actividad ictal se ha observado que la banda de frecuencia gamma rápido aumenta su actividad en el hipocampo, en preparaciones *in vivo* e *in vitro* (Hughes, 2008; Shiri et al., 2015). Este hecho se ha relacionado con la actividad local coordinada y recurrente de interneuronas GABAérgicas inmunoreactivas a parvalbúmina (Shiri et al., 2015), posiblemente mediada por uniones comunicantes (Carlen et al., 2000; LeBeau et al., 2003; Hughes, 2008). Como ya se mencionó, en los modelos experimentales de la EA, se han descrito alteraciones en las interneuronas inmunoreactivas a parvalbúmina, principalmente el incremento en el número de estas neuronas (Verdaguer et al., 2015) y en la innervación excitatoria por parte de las células granulares (Palop et al., 2007), así como la reducción del canal Nav 1.1 en estas interneuronas, lo cual disminuye su potencial de membrana en reposo y la amplitud y frecuencia de las corrientes postsinápticas excitatorias e inhibitorias espontáneas (Verret et al., 2012). Además, los modelos experimentales de la EA muestran HFO patológicas (Gurevicius, Lipponen & Tanila, 2012), un marcador electrográfico de epileptogénesis (Bragin et al., 2000; Jones et al., 2015), que se encuentra asociado con la disminución progresiva de la inhibición perisomática de las neuronas piramidales por parte de las interneuronas inhibitorias inmunoreactivas a parvalbúmina (Gulyás & Freund, 2014; Butler & Paulsen, 2015) y que se hipotetiza que están relacionadas con la generación de las espigas interictales (Gulyás & Freund, 2014). En este sentido, los animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} y que desarrollaron el SE y las CER, podrían mostrar alteraciones en las neuronas inhibitorias inmunoreactivas a parvalbúmina y de esta forma propiciar la hipersincronización de los circuitos neuronales. A este respecto, la inducción de actividad epileptiforme en rebanadas de hipocampo de animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} y que no desarrollaron el SE ni las CER, provocó un aumento mayor de la actividad electrográfica hipocampal, principalmente en la banda de frecuencia beta (Figura complementaria 3), lo que sugiere que la administración de oligómeros del βA_{1-42} ejerció efectos a largo plazo sobre el circuito hipocampal, promoviendo la hipersincronización del circuito al ocurrir la

actividad ictal. De esta forma, la sola acumulación extracelular de los oligómeros del βA_{1-42} podría favorecer la sincronización de los circuitos neuronales y así promover la aparición de la actividad convulsiva, como se ha observado en los pacientes con la EA (Hauser et al., 1986; Volicer, Smith & Volicer, 1995; Hesdorffer et al., 1996) y en los modelos experimentales de la enfermedad (Westmark et al., 2008; Palop et al., 2009; Minkeviciene et al., 2009; Ziyatdinova et al., 2011; Yan et al., 2012; Born, 2015).

Adicionalmente, se investigó el efecto agudo de la aplicación *in vitro* de oligómeros del βA_{1-42} sobre la actividad epileptiforme del hipocampo de animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} y que desarrollaron el SE y las CER. Se ha reportado que la administración aguda de oligómeros del βA_{1-42} en preparaciones *in vivo* e *in vitro* provoca la depresión de la actividad oscilatoria poblacional de los circuitos neuronales (Walsh et al., 2002; Adaya-Villanueva et al., 2010; Balleza-Tapia et al., 2010; Peña et al., 2010; Jo et al., 2011; Peña-Ortega & Bernal-Pedraza, 2012; Alvarado-Martínez, Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2013; Isla, Vázquez-Cuevas & Peña-Ortega, 2016; Gavello et al., 2016). Sin embargo, el estado funcional de los circuitos neuronales previo a la administración de los oligómeros del βA_{1-42} , podría modular el efecto de este último sobre la actividad de los circuitos neuronales y, de esta forma, provocar efectos contrarios a los reportados en la literatura, de forma similar a lo observado con el efecto de la epileptogénesis sobre el efecto anticonvulsivo que ejercen los fármacos antiepilepticos (Löscher, Cramer & Eber, 1998) y los péptidos opioides (Carmona-Aparicio et al., 2007). En nuestros experimentos, la administración de oligómeros del βA_{1-42} produjo la disminución de la actividad ictal, tanto en los animales que desarrollaron el SE y las CER, así como en los animales que no lo hicieron (Figura complementaria 4). Estos resultados son similares al efecto *in vitro* del βA_{1-42} sobre la actividad hipocampal en condiciones de hiperexcitabilidad epileptiforme y no epileptiforme, reportado por Gavello y colaboradores (2016) y por Adaya-Villanueva y colaboradores (2010), respectivamente. No obstante, en los animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} que desarrollaron el SE y las CER, se observó una disminución de la actividad espectral en la banda de frecuencia gamma rápido de la actividad epileptiforme, mientras que en los animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} que no desarrollaron el SE y las CER, la aplicación *in vitro* de oligómeros del βA_{1-42} indujo el aumento de la actividad oscilatoria en las bandas de frecuencia beta y gamma rápido (Figura complementaria 4). Como ya se mencionó, se ha reportado que la aplicación *in vitro* de oligómeros del βA_{1-42} inhibe la actividad poblacional de los circuitos neuronales (Walsh et al., 2002; Adaya-Villanueva et al., 2010; Balleza-Tapia et al., 2010; Peña et al., 2010; Jo et al., 2011; Peña-Ortega & Bernal-Pedraza, 2012; Alvarado-Martínez, Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2013; Isla, Vázquez-Cuevas & Peña-Ortega, 2016; Gavello et al., 2016), mediante la disminución de la neurotransmisión glutamatérgica (Gavello et al., 2016) y GABAérgica (Verret et al., 2012; Wang et al., 2016). En este sentido, el aumento de las bandas de frecuencia beta y gamma rápido en estos animales, podría ser interpretado como actividad compensatoria por parte de las interneuronas GABAérgicas para modular la hiperactividad excitatoria recurrente inducida por el

4AP. La razón de porqué se disminuyó la actividad gamma rápido inducida por la actividad epileptiforme en los animales previamente inyectados con oligómeros del βA_{1-42} que desarrollaron el SE y las CER, tras la administración aguda de oligómeros del βA_{1-42} , podría deberse a que la actividad de la población de interneuronas que está ejerciendo cierta compensación durante las crisis con 4AP se encuentra alterada o disminuida.

Existe el debate sobre si el βA_{1-42} ejerce sus efectos proepileptogénicos mediante el detrimento de los circuitos neuronales excitatorios o mediante la alteración de los circuitos neuronales inhibitorios (Palop et al., 2007; Verret et al., 2012; Palop & Mucke, 2016). Para abordar este problema, en esta tesis se investigó el efecto de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la inducción de la actividad convulsiva inducida con dos modelos experimentales de epilepsia mecanísticamente opuestos. Genéricamente, se dice que las crisis convulsivas son generadas a partir del desbalance entre la excitación y la inhibición de la actividad de los circuitos neuronales (Avoli & Williamson, 1996; Leite, García-Cairasco & Cavalheiro, 2002); así, de forma experimental, es posible inducir crisis convulsivas mediante el incremento en la excitabilidad de la actividad de los circuitos neuronales o a través de su desinhibición (Avoli & Williamson, 1996; Engel & Schwartzkroin, 2006). El modelo de inducción del SE mediante la administración de litio/pilocarpina es uno de los modelos de epilepsia más utilizados para el estudio de la epilepsia (Turski et al., 1984; Turski et al., 1989; Cavalheiro et al., 2006). El mecanismo por el cual este modelo induce la actividad convulsiva y la hiperexcitabilidad electrográfica es mediante el agonismo parcial de los receptores muscarínicos de acetilcolina (Birdsall, 1977; Turski et al., 1989), es decir, mediante el incremento de la excitabilidad neuronal. Por otro lado, el modelo de inducción de crisis convulsivas inducidas con PTZ es también uno de los modelos experimentales de epilepsia más utilizados en el campo de la investigación (Velísek et al., 1992; Velísek, 2006). En este modelo, las crisis son causadas por el antagonismo no competitivo de los receptores GABA_A (Luszczi & Czuczwar, 2005), es decir, mediante la desinhibición de los circuitos neuronales.

La administración de oligómeros del βA_{1-42} mostró sensibilizar a los circuitos neuronales para presentar actividad convulsiva inducida mediante el modelo de litio/pilocarpina, es decir, el que involucra un aumento directo de la excitabilidad de los circuitos neuronales. Por otro lado, la administración de oligómeros del βA_{1-42} mostró cierto efecto protector sobre la inducción de actividad convulsiva generalizada inducida con el modelo de PTZ, es decir, mediante la desinhibición de los circuitos neuronales. Además, se observó que la administración de oligómeros del βA_{1-42} desensibiliza a los circuitos neuronales ante la aparición de actividad convulsiva generalizada inducida con PTZ, que es dependiente de la edad de los animales (Figura complementaria 5). Se ha descrito que la edad es un factor importante en la inducción de crisis convulsivas con el modelo de PTZ (Rathouská et al., 1993, Klioueva et al., 2001), experimentando la actividad convulsiva con mayor rapidez los animales que tienen más edad. También se ha sugerido que este fenómeno se debe a que los receptores a los que se acopla el

PTZ aumentan con la edad (Daval et al., 1988). El que los animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} hayan requerido de más tiempo para presentar las crisis convulsivas generalizadas inducidas con PTZ, cinco semanas después de la administración del βA (Figura complementaria 5), podría ser explicado por la reducción, dependiente de la edad, de los receptores $GABA_A$. Se ha reportado que la administración del βA_{1-42} ($1\mu M$) en rebanadas de cerebro induce la endocitosis de los receptores $GABA_A$ en las células piramidales corticales (Ulrich, 2015). Así mismo, los cerebros de los pacientes con la EA expresan menos cantidad de receptores $GABA_A$ en la corteza temporal (Limon, Reyes-Ruiz & Miledi, 2012). Además, la administración *in vitro* de oligómeros del βA_{1-42} produce alteraciones en la neurotransmisión de las interneuronas $GABA$ érgicas (Verret et al., 2007). Por lo tanto, los animales que estuvieron un mayor tiempo expuestos a los oligómeros del βA_{1-42} (Figura complementaria 5), podrían presentar una sensibilidad reducida a la inducción de las crisis convulsivas con el modelo de PTZ, a través de la disminución de los receptores $GABA_A$ y mediante la alteración de la actividad sináptica de las interneuronas $GABA$ érgicas. Estas suposiciones podrían relacionarse con el incremento de la actividad electrográfica del circuito hipocampal aproximadamente 8 semanas después de la administración de los oligómeros del βA_{1-42} (Figura complementaria 2), ya que la disminución de los mecanismos que regulan a la inhibición de los circuitos neuronales promueve la hiperexcitabilidad de estos (O'Sullivan et al., 2016). De esta forma, el βA_{1-42} podría estar promoviendo la aparición de actividad epiléptica en los pacientes con la EA (Hauser et al., 1986; Volicer, Smith & Volicer, 1995; Hesdorffer et al., 1996) y en los modelos experimentales de esta enfermedad (Westmark et al., 2008; Palop et al., 2009; Minkeviciene et al., 2009; Ziyatdinova et al., 2011; Yan et al., 2012; Born, 2015; Siwek et al., 2015), a través del deterioro de los circuitos inhibitorios, como se ha mencionado en la literatura (Koliastos et al., 2006; Palop et al., 2007; Verret et al., 2007; Peña-Ortega, 2013; Ulrich, 2015; Verdaguer et al., 2015; Palop & Mucke, 2016). Acorde con esta hipótesis, el tratamiento con fármacos moduladores de los receptores $GABA$ érgicos han mostrados efectos protectores contra la neurodegeneración observada en los modelos transgénicos de la EA, tanto *in vivo* como *in vitro* (Li et al., 2016).

De la misma forma, los efectos proepileptiformes del βA_{1-42} observados en este trabajo de tesis, también pueden ser explicados por la exacerbación, inducida por el βA_{1-42} , de los procesos neuroinflamatorios y la neurodegeneración que inducen el SE y el subsecuente proceso epileptogénico (Calderón-Garcidueñas et al., 2004; Choi & Koh, 2008; Devinsky et al., 2012; Xu, He & Bai, 2015; Butler et al., 2016; Colonna & Butovsky, 2017; Zuroff et al., 2017). Existe un proceso de retroalimentación positiva entre la producción de proteínas proinflamatorias y la producción del βA (Del Bo et al., 1995; Xu, He & Bai, 2015). Por ejemplo, en tejido cerebral *postmortem* de pacientes con la EA, se ha observado un aumento de proteínas proinflamatorias, entre las que destacan la $IL-1\beta$, la $IL-6$, la $IL-8$ y el $TNF\alpha$ (Lue, Walker & Rogers, 2001; Walker, Lue & Beach, 2001). Estos resultados

se han confirmado en modelos transgénicos de la EA (Huang et al., 2017) y en cultivos primarios de neuronas corticales y de células gliales de rata (Del Bo et al., 1995), en donde se ha observado que la aplicación del β A induce un aumento en la transcripción de la IL-1 y de la IL-6 (Del Bo et al., 1995). En contraparte, la aplicación de IL-1 β y de IL-6 induce el aumento en la transcripción de la APP (Del Bo et al., 1995).

La fuente principal de proteínas proinflamatorias en el cerebro son las células de la microglía en su forma activada (Kettenmann, Kirchhoff & Verkhratsky, 2013). Durante el curso de la EA se observa la activación de las células de la microglía (Lue, Walker & Rogers, 2001), lo cual se ha relacionado con el aumento de proteínas inflamatorias en el tejido cerebral (Lue, Walker & Rogers, 2001; Walker, Lue & Beach, 2001). La activación de las células de la microglía en la EA es mediada por el acoplamiento del β A con varios receptores microgliales, entre los que destacan los receptores TLR2 y TLR4, los receptores *scavenger* tipo 1 y los receptores CD14, CD36 y CD47 (Liu et al., 2012; Xu, He & Bai, 2015; Heppner et al., 2015; Zuroff et al., 2017). La activación de estos receptores desencadena el proceso de fagocitosis del β A extracelular por parte de la microglía (Doens & Fernández, 2014; Xu, He & Bai, 2015). Por otro lado, varios autores han propuesto que el proceso de epileptogénesis es iniciado y mantenido por el aumento crónico de la inflamación cerebral (Choi & Koh, 2008; Devinsky et al., 2012; Xu, He & Bai, 2015). Observaciones en pacientes con epilepsia y en los modelos experimentales de esta enfermedad, han reportado el incremento gradual de la activación microglial y de proteínas proinflamatorias en el cerebro asociadas con la actividad epiléptica (Beach et al., 1995; Voutsinos-Porche et al., 2004; Emsley et al., 2014; Butler et al., 2016). En el mismo sentido, la administración aguda y crónica de proteínas proinflamatorias en el cerebro tiene efectos proepileptiformes y proepileptogénicos en preparaciones *in vivo* e *in vitro* (Frantseva, Perez & Carlen, 1998; Weinberg et al., 2013; Levy et al., 2015; Kolosowska et al., 2014; 2016). Lo anterior, apoya la idea de que la inflamación cerebral *per se* es capaz de iniciar y mantener el proceso de la epileptogénesis (Choi & Koh, 2008; Devinsky et al., 2012; Xu, He & Bai, 2015). Por lo tanto, los resultados observados en este trabajo de tesis, podrían explicarse también por el incremento progresivo de la neuroinflamación; primero inducida por la administración del β A₁₋₄₂ y, posteriormente, por el proceso epileptogénico inducido por el SE. Sin embargo, esta hipótesis deberá ser evaluada experimentalmente.

CONCLUSIONES

- La administración de oligómeros del βA_{1-42} disminuye la actividad electrográfica espontánea del hipocampo *in vivo*, tres semanas después de su inyección.
- La administración de oligómeros del βA_{1-42} aumenta la susceptibilidad para presentar el SE inducido con el modelo de litio/pilocarpina, tres semanas después de su inyección.
- La administración de oligómeros del βA_{1-42} exagera la actividad electrográfica del hipocampo durante la inducción de crisis convulsivas generalizadas y durante el SE inducidos con el modelo de litio/pilocarpina, tres semanas después de su inyección.
- La administración de oligómeros del βA_{1-42} y la aparición de las CER aumenta la actividad espontánea poblacional del hipocampo, en preparaciones *in vitro*.
- La administración de oligómeros del βA_{1-42} y la aparición de las CER incrementa la actividad poblacional del hipocampo durante la actividad epileptiforme inducida con 4-AP, en preparaciones *in vitro*.
- La administración *in vitro* de oligómeros del βA_{1-42} deprime la actividad poblacional del hipocampo durante la actividad epileptiforme inducida con 4-AP en rebanadas de hipocampo de animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} que desarrollaron el SE y las CER.
- La administración de oligómeros del βA_{1-42} disminuye ligeramente la susceptibilidad para presentar crisis convulsivas generalizadas inducidas con PTZ, cinco semanas después de la administración del βA .

Anexo 1

EFFECTO CRÓNICO DE LA INYECCIÓN INTRACISTERNAL E INTRAHIPOCAMPAL DEL βA_{1-42} SOBRE LA MEMORIA A LARGO PLAZO

Para evaluar el efecto crónico de la administración del βA_{1-42} sobre la memoria a largo plazo se utilizaron animales inyectados intracisternalmente con el βA_{1-42} de forma (βA ; $n=5$), así como animales inyectados intrahipocampalmente con el βA_{1-42} (βA_{HIP} ; $n=2$; Salgado-Puga et al., 2015). A otro grupo de animales se les administró vehículo de forma intracisternal (control; $n=7$). Para medir la memoria a largo plazo se efectuó la prueba de evitación inhibitoria, 21 días después de la administración del βA_{1-42} (Martínez & Rigter, 1980; Salgado-Puga et al., 2015; Figura complementaria 1). La prueba de evitación inhibitoria se llevó a cabo en una caja con dos compartimentos, uno iluminado y otro oscuro, comunicados entre sí mediante una puerta deslizable (Figura complementaria 1A). De acuerdo con Martínez & Rigter (1980), los animales son colocados dentro del cuarto iluminado. Los animales innatamente tienden a entrar al cuarto oscuro, en donde se les aplica un choque eléctrico (pulsos cuadrados de corriente con duración de 50 ms, intensidad de 1 mA y frecuencia de 10 Hz, durante 5 s) (Figura complementaria 1B). Después de 48 horas, los animales son colocados dentro del cuarto iluminado y si es que el aprendizaje se llevó a cabo y la memoria fue evocada, se observa que los animales no entran al cuarto oscuro durante 600 segundos (Figura complementaria 1C).

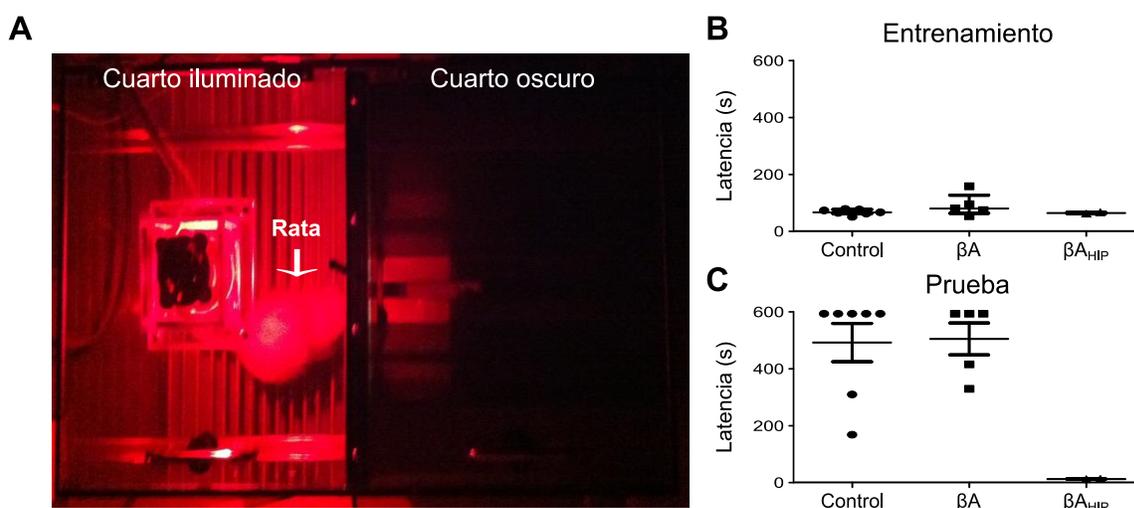


Figura complementaria 1. Efecto de la administración intracisternal (βA) o intrahipocampal (βA_{HIP}) del βA_{1-42} sobre la memoria a largo plazo medida con la prueba de evitación inhibitoria. A. Fotografía de la cámara de evitación inhibitoria, en donde se encuentran un cuarto iluminado y un cuarto oscuro, comunicados mediante una puerta deslizable entre ellos. B. Latencia de entrada al cuarto oscuro en la fase de entrenamiento o adquisición de la memoria. Se puede observar que los animales de los grupos Control ($n=7$), βA ($n=5$) y βA_{HIP} ($n=2$) entran al cuarto oscuro al mismo tiempo. C. Latencia de entrada al cuarto oscuro en la fase de prueba o de retención

de la memoria. Se puede observar que el grupo βA tiene una latencia de entrada al cuarto oscuro similar a la del grupo Control, lo que sugiere que el grupo βA aprendió y evocó la evitación inhibitoria. La latencia para entrar al cuarto oscuro del grupo βA_{HIP} fue menor a la de los grupos Control y βA , lo que sugiere que los animales del grupo βA_{HIP} no aprendieron o no evocaron la evitación inhibitoria, similar a lo reportado por Salgado-Puga y colaboradores (2015).

Se observó que el grupo βA tuvo una latencia de entrada al cuarto oscuro similar a la del grupo Control, lo que sugiere que el grupo βA aprendió y evocó la evitación inhibitoria, demostrando que estos animales no presentan deterioro cognoscitivo. La latencia para entrar al cuarto oscuro del grupo βA_{HIP} fue menor a la de los grupos Control y βA , lo que indica que los animales del grupo βA_{HIP} no aprendieron o no evocaron la evitación inhibitoria, demostrando que estos animales presentan deterioro cognoscitivo, similar a lo reportado por Salgado-Puga y colaboradores (2015).

Estos resultados sugieren que los efectos proconvulsivos del βA_{1-42} , reportados en este trabajo de tesis, no tienen relación con el deterioro cognoscitivo. Sin embargo, estos datos podrían interpretarse como la reproducción de las observaciones llevadas a cabo en pacientes en etapas preclínicas de la EA (Volicer et al., 1995; Picco et al., 2011), en donde se ha reportado la incidencia de crisis epilépticas antes del diagnóstico de la EA. Además, estos resultados sugieren que la susceptibilidad para desarrollar actividad epileptiforme aparece antes de los síntomas cognoscitivos y que, incluso, pudieran contribuir a su aparición.

Anexo 2

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA ESPONTÁNEA DEL HIPOCAMPO *IN VITRO* DE ANIMALES QUE NO DESARROLLARON EL SE NI LAS CER

Para determinar el efecto crónico de la administración del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica espontánea del hipocampo *in vitro* en animales que no desarrollaron el SE inducido con pilocarpina ni las CER, es decir, que no son epilépticos, se utilizaron animales administrados intracisternalmente con el βA_{1-42} (n=13) o con su vehículo (n=21). Aproximadamente 8 semanas después de la administración del βA_{1-42} se abstuvieron rebanadas del hipocampo ventral y se llevaron a cabo registros de la actividad electrográfica espontánea de la capa piramidal del área CA1, tal y como se detalla en el apartado de Materiales y Métodos.

Se observó que los animales administrados con el βA_{1-42} presentaron mayor poder espectral en la banda de frecuencia beta (Control= 3.96 ± 1.35 nV²/Hz y βA = 5.21 ± 1.26 nV²/Hz; p=0.04; U=77) (Figura complementaria 2).

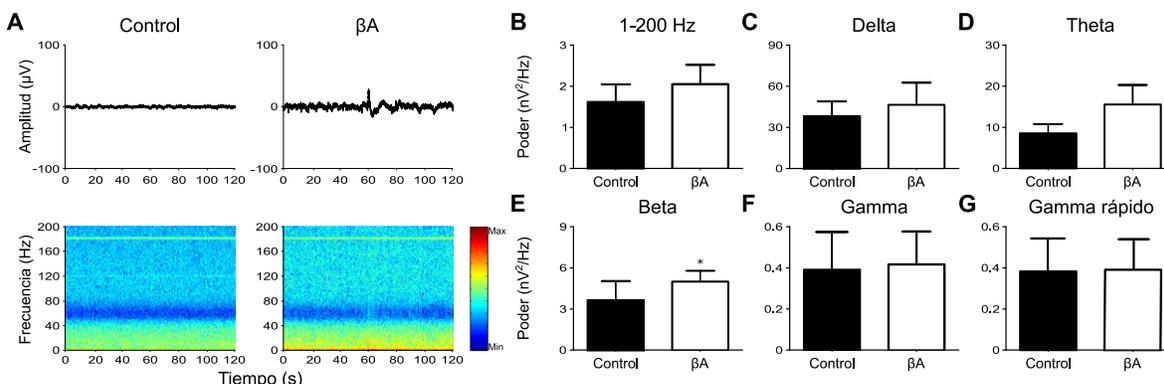


Figura complementaria 2. Efecto crónico del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica espontánea del hipocampo *in vitro* de animales que no desarrollaron el SE ni las CER. A. Trazos y espectrogramas representativos de animales de los grupos Control (n=21) y βA (n=13) que no desarrollaron el SE ni las CER. Las gráficas muestran el poder espectral de la actividad electrográfica espontánea del hipocampo en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (B), delta (1-4 Hz) (C), theta (4-10 Hz) (D), beta (10-30 Hz) (E), gamma (30-80 Hz) (F) y gamma rápido (80-200 Hz) (G). Se observó que el grupo βA presentó mayor poder espectral en la banda de frecuencia beta. * denota diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control y βA (p<0.05, Prueba U de Mann-Whitney).

Este incremento en la banda de frecuencia beta en el grupo de animales inyectado con oligómeros del βA_{1-42} , y que no generaron actividad epileptiforme, podría ser el reflejo de la reconfiguración de los circuitos neuronales hacia un estado de hiperexcitabilidad, como se ha observado en los modelos transgénicos de la EA (Wang et al., 2002; Weeson et al., 2011; Weeson et al., 2011b; Verret et al., 2012; Gurevicius, Lipponen & Tanila, 2013), en donde la actividad oscilatoria rápida, que

incluye la banda de frecuencia beta, incrementa conforme aumenta la edad de los animales. Por lo tanto, estos resultados sugieren que el aumento extracelular de los oligómeros del βA_{1-42} es suficiente para promover la excitabilidad del circuito hipocampal y, de esta forma, fomentar la inducción de la epilepsia en la EA.

Anexo 3

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTROGRÁFICA DEL HIPOCAMPO DURANTE LA ACTIVIDAD EPILEPTIFORME INDUCIDA CON 4AP *IN VITRO* DE ANIMALES QUE NO DESARROLLARON EL SE NI LAS CER

Para investigar el efecto del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica hipocampal durante la actividad epileptiforme en animales que no desarrollaron el SE ni las CER, es decir, en animales no epilépticos; se utilizaron animales inyectados con βA_{1-42} (n=5) o con su vehículo (n=7). Aproximadamente 8 semanas después de la administración del βA_{1-42} o de su vehículo, se obtuvieron rebanadas del hipocampo ventral, se registró la actividad electrográfica de la capa piramidal del área CA1 y se añadió 4AP al baño de registro para inducir la actividad epileptiforme (Figura complementaria 3), tal y como se describe en el apartado de Materiales y Métodos.

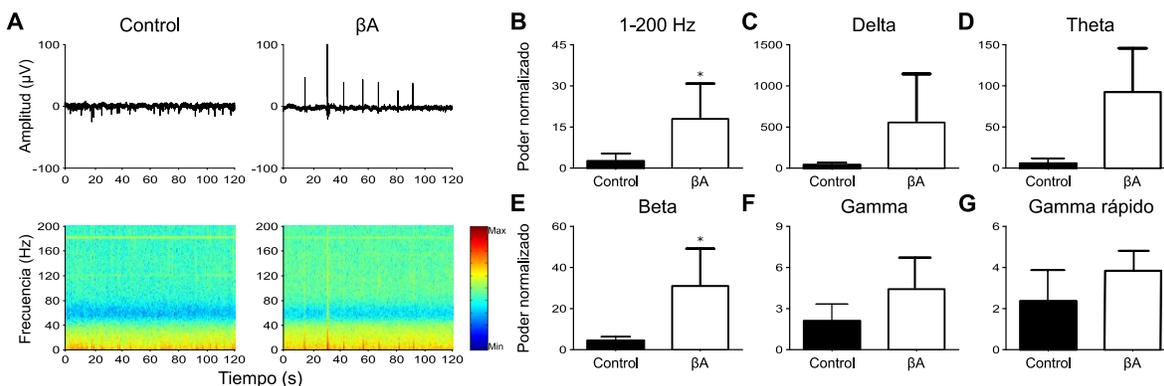


Figura complementaria 3. Efecto crónico del βA_{1-42} sobre la actividad electrográfica del hipocampo durante la actividad epileptiforme inducida con 4AP *in vitro* de animales que no desarrollaron el SE ni las CER (ambos grupos fueron sometidos a la aplicación de 4AP). A. Trazos y espectrogramas representativos durante la actividad epileptiforme inducida con 4AP de animales de los grupos Control (n=7) y βA (n=5) que no desarrollaron el SE ni las CER. Las gráficas muestran el poder espectral de la actividad electrográfica del hipocampo en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (B), delta (1-4 Hz) (C), theta (4-10 Hz) (D), beta (10-30 Hz) (E), gamma (30-80 Hz) (F) y gamma rápido (80-200 Hz) (G). Se observó que el grupo βA presentó mayor poder espectral en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz y beta. * denota diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control y βA ($p \leq 0.05$; Prueba U de Mann-Whitney).

Los resultados mostraron que el grupo inyectado con oligómeros del βA_{1-42} presentaron mayor poder espectral, durante la actividad epileptiforme, en las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (Control=2.71 \pm 0.92 % del basal y βA =17.6 \pm 14.2 % del basal; $p=0.02$; U=5) y la banda beta (Control=3.04 \pm 0.99 % del basal y βA =28.53 \pm 23.3 % del basal; $p=0.01$; U=4). Estos datos sugieren que el aumento de oligómeros del βA_{1-42} es suficiente para favorecer la hipsincronización del circuito hipocampal al ocurrir la actividad epileptiforme, tal

y como se ha observado en los pacientes con la EA (Hauser et al., 1986; Volicer, Smith & Volicer, 1995; Hesdorffer et al., 1996) y en los modelos experimentales de la enfermedad (Westmark et al., 2008; Palop et al., 2009; Minkeviciene et al., 2009; Ziyatdinova et al., 2011; Yan et al., 2012; Born, 2015).

Anexo 4

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD EPILEPTIFORME INDUCIDA CON 4AP EN REBANADAS DE HIPOCAMPO DE ANIMALES INYECTADOS CON OLIGÓMEROS DEL βA_{1-42} QUE NO DESARROLLARON EL SE NI LAS CER

Para investigar el efecto de la administración aguda del βA_{1-42} sobre la actividad epileptiforme en animales previamente inyectados con oligómeros del βA_{1-42} y que no desarrollaron el SE ni las CER, es decir, en animales no epilépticos; se obtuvieron rebanadas del hipocampo ventral a las que se les administró 4AP para inducir la actividad epileptiforme (ver anexo 3) y, posteriormente, se les agregó oligómeros del βA_{1-42} (30 nM) a la perfusión de registro (Figura complementaria 4), tal y como se describe en el apartado de Materiales y Métodos.

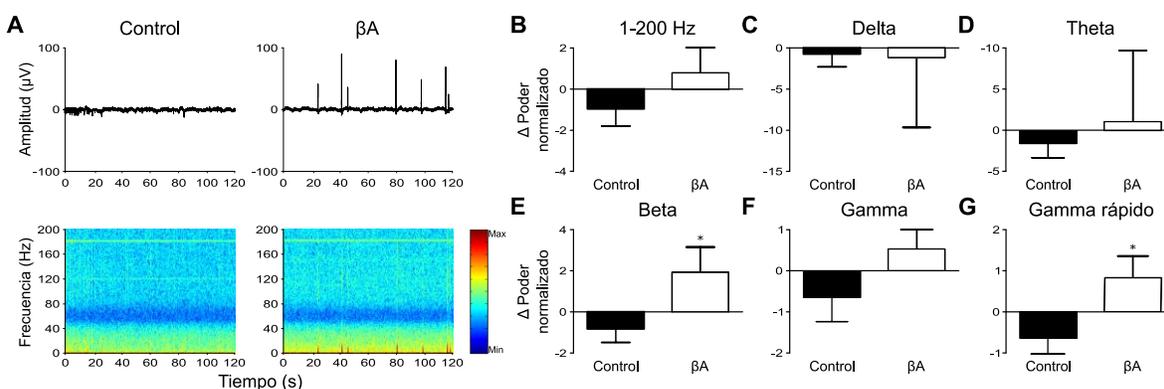


Figura complementaria 4. Efecto agudo *in vitro* del βA_{1-42} sobre la actividad epileptiforme inducida con 4AP en rebanadas de hipocampo de animales inyectados con oligómeros del péptido βA_{1-42} que no desarrollaron el SE ni las CER (ambos grupos fueron sometidos a la aplicación de 4AP y del βA_{1-42}). A. Trazos y espectrogramas representativos posteriores a la administración de oligómeros del βA_{1-42} durante la actividad epileptiforme inducida con 4AP de animales de los grupos Control (n=7) y βA (n=5) que no desarrollaron el SE ni las CER. Δ del poder espectral normalizado con respecto a la condición 4AP, de las bandas de frecuencia de 1-200 Hz (B), delta (1-4 Hz) (C), theta (4-10 Hz) (D), beta (10-30 Hz) (E), gamma (30-80 Hz) (F) y gamma rápido (80-200 Hz) (G). Se observó que el grupo inyectado con oligómeros del βA_{1-42} presentó un aumento en el poder espectral en las bandas de frecuencia beta y gamma rápido, posterior a la administración *in vitro* de oligómeros del del βA_{1-42} durante la actividad epileptiforme inducida con 4AP. * denota diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control y βA ($p \leq 0.05$; Prueba U de Mann-Whitney).

Se observó que, tras la aplicación aguda de oligómeros del βA_{1-42} , el poder espectral de la actividad epileptiforme de los animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} aumentó en las bandas de frecuencia beta (Control= 2.24 ± 0.45 % del basal y $\beta A=13.06 \pm 7.35$ % del basal; $p=0.05$; U=7) y gamma rápido (Control= 1.70 ± 0.26 % del basal y $\beta A=3.89 \pm 1.37$ % del basal; $p=0.03$; U=6). Este aumento en las bandas de frecuencia beta y

gamma rápido en los animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} podría interpretarse como una compensación inducida por parte de las interneuronas GABAérgicas para modular la hiperactividad excitatoria recurrente inducida por el 4AP. Se ha reportado que la aplicación aguda de oligómeros del βA_{1-42} *in vitro* induce la inhibición de la actividad poblacional de los circuitos neuronales (Walsh et al., 2002; Adaya-Villanueva et al., 2010; Balleza-Tapia et al., 2010; Peña et al., 2010; Jo et al., 2011; Peña-Ortega & Bernal-Pedraza, 2012; Alvarado-Martínez, Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2013; Isla, Vázquez-Cuevas & Peña-Ortega, 2016; Gavello et al., 2016), mediante la disminución de la neurotransmisión glutamatérgica (Gavello et al., 2016) y GABAérgica (Verret et al., 2012; Wang et al., 2016). Sin embargo, los oligómeros del βA_{1-42} parecen tener efectos deletéreos a largo plazo sobre los circuitos inhibitorios, lo que podría estar promoviendo la hipsincronización de los circuitos neuronales y, de esta forma, favoreciendo la aparición de la actividad epileptiforme (Palop et al., 2009; Minkeviciene et al., 2009; Verret et al., 2012; Anexos 2 y 3). En este sentido, en un circuito neuronal cuya actividad oscilatoria espontánea está aumentada (anexo 1), es decir, cuyo estado funcional está alterado por el proceso epileptogénico, la aplicación aguda de oligómeros del βA_{1-42} durante la hiperexcitabilidad neuronal inducida por la actividad epileptiforme podría producir un aumento de la actividad de los circuitos inhibitorios y, de esta forma, favorecer la sincronización de la actividad neuronal poblacional, de forma similar a lo reportado en otros escenarios experimentales, en donde el proceso de epileptogénesis repercute en el efecto mismo de los fármacos antiepilépticos y los péptidos opioides (Löscher, Cramer & Eber, 1998; Carmona-Aparicio et al., 2007).

Anexo 5

EFFECTO CRÓNICO DEL βA_{1-42} SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVA INDUCIDA CON PTZ A LAS UNA, TRES Y CINCO SEMANAS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DEL βA

Finalmente, decidimos investigar el efecto crónico de la administración de oligómeros del βA_{1-42} sobre la actividad convulsiva inducida con un modelo experimental mecanísticamente diferente al modelo de litio/pilocarpina. Para ello, indujimos esta actividad mediante la desinhibición de los circuitos neuronales con el modelo de PTZ (Rathouská et al., 1993, Klioueva et al., 2001). Se indujo actividad convulsiva con dosis repetitivas de PTZ en animales inyectados con oligómeros del βA_{1-42} , o con su vehículo, después de 1, 3 y 5 semanas de su administración. En la Figura complementaria 5 se muestran las latencias para desarrollar cada uno de los estadios de actividad convulsiva propuestos por Luttjohann y colaboradores (2009), separados por grupo experimental (n=5 por grupo).

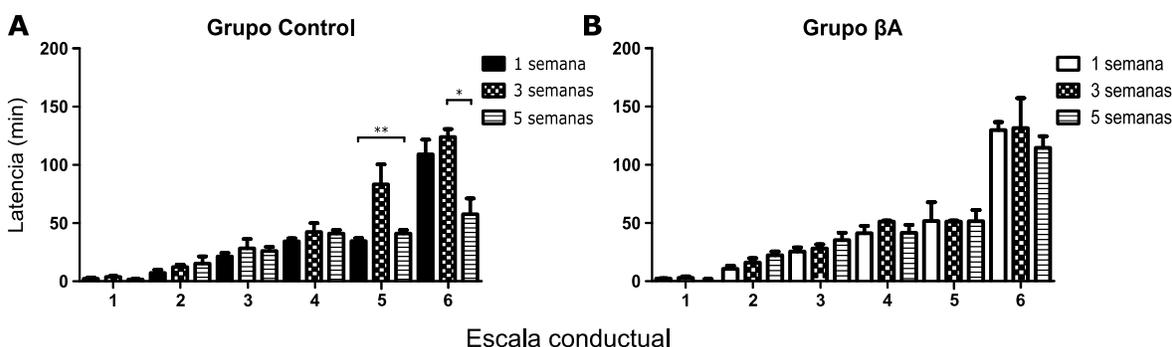


Figura complementaria 5. Latencias para desarrollar los estadios conductuales de la escala de actividad convulsiva propuesta por Luttjohan y colaboradores (2009), una (n=5 por grupo), tres (n=7 por grupo) y cinco (n=5 por grupo) semanas después de la administración del βA_{1-42} o de su vehículo, en los grupos (A) Control y (B) βA . Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el grupo Control, en las latencias para desarrollar el estadio 5 (CGTC) entre las semanas 1 y 5, así como para desarrollar el estadio 6 (CGTC + saltos violentos) entre las semanas 3 y 5. * y ** denotan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control y βA ($p \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$, respectivamente; Prueba Kruskal-Wallis; Prueba *post hoc* de Dunn).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los animales del grupo control en las latencias para desarrollar el estadio conductual 5 entre las semanas 1 y 3 (36.8 ± 2.57 y 43.5 ± 3.17 min, respectivamente; $p=0.007$; Prueba de Kruskal-Wallis, Prueba *post hoc* de Dunn), así como para desarrollar el estadio conductual 6 ente las semanas 3 y 5 (131.6 ± 7.09 y 61.33 ± 14.33 min, respectivamente; $p=0.03$; Prueba de Kruskal-Wallis, Prueba *post hoc* de Dunn).

Estas variaciones en las latencias para desarrollar la actividad convulsiva entre los animales del grupo control pueden ser explicados por la edad de los animales, ya que se ha observado que la edad es un factor importante en la inducción de crisis convulsivas con el modelo de PTZ (Rathouská et al., 1993, Klioueva et al., 2001). Adicionalmente, se ha sugerido que este fenómeno se debe a que los receptores a los que se acopla el PTZ, los receptores GABA_A, aumentan con la edad (Daval et al., 1988).

REFERENCIAS

- AA, Alzheimer's Association. (2015a). Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 11 (3), 332.
- AA, Alzheimer's Association. (2015b). Changing the Trajectory of Alzheimer's Disease: How a Treatment by 2025 Saves Lives and Dollars. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 11 (3), 332.
- Ackerman, R.F. & Moshé, S.L. (2010). Excitation/Inhibition interactions and seizures: the brain's lifelong balancing act. En Panayiotopoulos C.P. (Ed). Atlas of epilepsies (pp. 5-9). Reino Unido: Springer Reference.
- Adaya-Villanueva, A., Ordaz, B., Balleza-Tapia, H., Márquez-Ramos, A., & Peña-Ortega, F. (2010). Beta-like hippocampal network activity is differentially affected by amyloid beta peptides. *Peptides*, 31(9), 1761-1766.
- Aguirre-Acevedo, D.C., Lopera, F., Henao, E., Tirado, V., Muñoz, C., Giraldo, M., Bangdiwala, S.I., Reiman, E.M., Tarrion, P.N., Langbaum, J.B., Quiroz, Y.T. & Jaimes, F. (2016). Cognitive decline in a colombian indred with autosomal dominant Alzheimer Disease. A retrospective cohort study. *JAMA Neurol*, 73(4), 431:438.
- Allemand-Grand, R., Scholtz, J., Ellegood, J., Cahill, L.S., Laliberté, C., Fraser, P.E., Josselyn, S.A., Sled, J.G. & Lerch, J.P. (2014). Altered brain development in an early-onset mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 36 (2), 638-647.
- Allen, G., Barnard, H., McColl, R., Hester, A.L., Fields, J.A., Weiner, M.F., Ringe, W.K., Lipton, A.M., Brooker, M., McDonald, E., Rubin, C.D. & Cullum, C.M. (2007). Reduced hippocampal functional connectivity in Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 64 (10), 1482-1487.
- Aller-Alvarez, J.S., Menéndez-González, M., Ribacoba-Montero, R., Salvado, M., Vega, V., Suárez-Moro, R., Sueiras, M., Salas-Puig, J. & Álvarez-Sabin, J. (2015). Epilepsia mioclónica en el síndrome de Down y en la enfermedad de Alzheimer. *Neurología*, S0213-4853 (15), 00003-1.
- Alvarado-Martínez, R., Salgado-Puga, K & Peña-Ortega, F. (2013). Amyloid beta inhibits olfactory bulb activity and the ability to smell. *PLoS ONE*, 8 (9), e75745.
- Amatniek, J.C., Hauser, W.A., DelCastillo-Castaneda, C., Jacobs, D.M., Marder, K., Bell, K., Albert, M., Brandt, J. & Stern, Y. (2006). Incidence and predictors of seizures in patients with Alzheimer's disease. *Epilepsia*, 47 (5), 867-872.
- André, V., Marescaux, C. Nehlig, A. & Fritschy, J.M. (2001). Alterations of hippocampal GABAergic system contribute to development of spontaneous recurrent seizures in the rat lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Hippocampus*, 11, 452-468.
- APA, American Psychiatric Association. (2014). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5). Estados Unidos: American Psychiatric Pub.
- Apelt, J., Ach, K., & Schliebs, R. (2003). Aging-related down-regulation of neprilysin, a putative β -amyloid-degrading enzyme, in transgenic Tg2576

- Alzheimer-like mouse brain is accompanied by an astroglial upregulation in the vicinity of β -amyloid plaques. *Neuroscience Letters*, 339 (3), 183-186.
- Appel, J., Potter, E., Shen, Q., Pantol, G., Greig, M.T., Loewenstein, D., & Duara, R. (2009). A comparative analysis of structural brain MRI in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Behavioural Neurology*, 21 (1-2), 13-19.
- Arabadzisz, D., Antal, K., Parpan, F., Emri, Z. & Fritschy J.M. (2005). Epileptogenesis and chronic seizures in a mouse model of temporal lobe epilepsy are associated with distinct EEG patterns and selective neurochemical alterations in the contralateral hippocampus. *Experimental Neurology*, 194, 76-90.
- Armon, C., Peterson, G.W. & Liwnicz, B.H. (2000). Alzheimer's disease underlies some cases of complex partial status epilepticus. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 17 (4), 511-518.
- Assis, T.R.D., Bacellar, A., Costa, G., & Nascimento, O.J. (2015). Etiological prevalence of epilepsy and epileptic seizures in hospitalized elderly in a Brazilian tertiary center–Salvador-Brazil. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 73 (2), 83-89.
- Avignone, E., Lepleus, M., Angibaud, J. & Nägerl, U.V. (2015). Altered morphological dynamics of activated microglia after induction of status epilepticus. *Journal of Neuroinflammation*, 202 (12), 1-13.
- Avila-Muñoz, E., & Arias, C. (2014). When astrocytes become harmful: functional and inflammatory responses that contribute to Alzheimer's disease. *Ageing research reviews*, 18, 29-40.
- Avoli, M. & Williamson, A. (1996). Functional and pharmacological properties for human neocortical neurons maintained *in vitro*. *Progress in Neurobiology*, 48 (6), 519-554.
- Babulal, G., Ghoshal, N., Head, D., Vernon, E., Holtzman, D.M., Benzinger, T.L.S., Fagan, A.M., Morris, J.C. & Roe C.M. (2016). Mood changes in cognitively normal oldet adults are linked to Alzheimer Disease biomarker levels. *Am J Geriatr Psychiatry*, 24 (11), 1095-1104.
- Ball, M.J. (1977). Neuronal loss, neurofibrillary tangles and granulovacuolar degeneration in the hippocampus with ageing and dementia. A quantitative study. *Acta Neuropathol*, 37 (2), 111-118.
- Balleza-Tapia, H., Huanosta-Gutiérrez, A., Márquez-Ramos, A., Arias, N., & Peña, F. (2010). Amyloid β oligomers decrease hippocampal spontaneous network activity in an age-dependent manner. *Current Alzheimer Research*, 7 (5), 453-462.
- Banerjee, P.N., Flippi, D. & Hauser, W.A. (2009). The descriptive epidemiology of epilepsy – A review. *Epilepsy Res*, 85, 31-45.
- Baquero, M., Peset, V., Burguera, J. A., Salazar-Cifre, A., Boscá-Blasco, M.E., del Olmo-Rodríguez, A., & Valero-Merino, C. (2009). Calidad de vida en la enfermedad de Alzheimer. *Revista de Neurología*, 49 (7), 337-342.
- Barbaroise, M. & Avoli, M. (1997). CA3-driven hippocampal-entorhinal loop controls rather than sustains *in vitro* limbic seizures. *The Journal of Neuroscience*, 17 (23), 9308-9314.

- Beach, T.G., Woodhurst, W.B., MacDonald, D.B. & Jones, M.W. (1995). Reactive microglia in hippocampal sclerosis associated with human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience Letters*, 191, 27-30.
- Bennys, K., Rondouin, G., Vergnes, C. & Touchon, J. (2001). Diagnostic value of quantitative EEG in Alzheimer's disease. *Neurophysiol Clin*, 31, 153-160.
- Berg, T.T. (2010). Epilepsies. En Panayiotopoulos C.P. (Ed). Atlas of epilepsies (pp. 5-9). Reino Unido: Springer Reference.
- Berger, M., Spechmann, E.J., Pape, H.C. & Gorji, A. (2008). Spreading depression enhances human neocortical excitability *in vitro*. *Cephalgia*, 28 (5), 558-62.
- Berkovic, S.F., Engel, J., & Pedley, T.A. (2008). Progressive myoclonus epilepsies. *Epilepsy: A Comprehensive Textbook. 2nd ed. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven*, 2525-2535.
- Bero, A.W., Yan, P., Roh, J.E., Cirrito, J.R., Stewart, F.R., Raichle, M.E., Lee, J.M. & Holtzman, D.M. (2011). Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid- β deposition. *Nature Neuroscience*, 14 (6), 750-758.
- Bertram, E. (2007). The relevance of kindling for human epilepsy. *Epilepsia*, 48 (Suppl. 2), 65-74.
- Birdsall, N.J.M. (1977). Muscarinic receptors: Biochemical studies. *Biochemical Society Transactions*, 5 (1), 74-76.
- Blennow, K., Biscetti, L., Eusebi, P., & Parnetti, L. (2016). Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's and Parkinson's diseases-From pathophysiology to clinical practice. *Movement Disorders*, 31 (6), 836-847.
- Blumenfeld, H., Varghese, G. I., Purcaro, M. J., Motelow, J.E., Enev, M., McNally, K.A., Levin, A.R., Hirsch, L.J., Tikofsky, R., Zupal, I.G., Paige, A.L. & Spencer, S.S. (2009). Cortical and subcortical networks in human secondarily generalized tonic-clonic seizures. *Brain*, 132 (4), 999-1012.
- Born, H.A. (2015). Seizures in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 286, 251-263.
- Born, H.A., Kim, J., Savjani, R.R., Das, P., Dabaghian, Y.A., Guo, Q., Yoo, J.W., Schuler, D.R., Cirrito, J.R., Zheng, H., Golde, T.E., Noebels, J.L. & Jankowsky, J.L. (2014). Genetic suppression of transgenic APP rescues hypersynchronous network activity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 34(11), 3826-3480.AA, Alzheimer's Association. (2015a). Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*, 11 (3), 332.
- Bottaro, F.J., Martínez, O.A., Fernández, M.M., Bruetman, J.E. & Reisin, R.C. (2007). Nonconvulsive status epilepticus in the elderly: A case-control study. *Epilepsia*, 48 (5), 966-972.
- Bouilleret, V., Ridoux, V., Depaulis, A., Marescaux, C., Nehlig, A. & Le Gal La Salle, G. (1999). Recurrent seizures and hippocampal sclerosis following intrahippocampal kainate injection in adult mice: electroencephalography, histopathology and synaptic reorganization similar to mesial temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*, 89 (3), 717-729.
- Braak, H., & Braak, E. (1991). Demonstration of amyloid deposits and neurofibrillary changes in whole brain sections. *Brain Pathology*, 1 (3), 213-216.

- Braak, H., & Del Tredici, K. (2004). Alzheimer's disease: intraneuronal alterations precede insoluble amyloid- β formation. *Neurobiology of aging*, 25 (6), 713-718.
- Braak, H., Thal, D.R., Ghebremedhin, E., & Del Tredici, K. (2011). Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: age categories from 1 to 100 years. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 70 (11), 960-969.
- Bragin, A., Wilson, C.L. & Engel, J. (2000). Chronic epileptogenesis requires development of a network of pathologically interconnected neuron clusters: A hypothesis. *Epilepsia*, 41 (Suppl. 6), S144-S152.
- Brailowsky, S. (1999). Un poco de neuroanatomía. *Epilepsia: enfermedad sagrada del cerebro. La ciencia para todos. Fondo de Cultura Económico*. México. Pág, 29-33.
- Brandt, C., Ebert, U. & Löscher, W. (2004). Epilepsy induced by extended amygdala-kindling in rats: lack of clear association between development of spontaneous seizures and neuronal damage. *Epilepsy Research*, 62, 135-156.
- Brenner, R.P., Reynolds, C.F. & Ulrich, R.F. (1988). Diagnostic efficacy of computerized spectral versus visual EEG analysis in elderly normal, demented and depressed subjects. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 69, 110-117.
- Buckmaster, P.S., Zhang, G.F. & Yamawaki, R. (2002). Axon sprouting in a model of temporal lobe epilepsy creates a predominantly excitatory feedback circuit. *The Journal of Neuroscience*, 22 (15), 6650-6658.
- BUPA, *The British United Provident Association Limited*. (2013). Dementia in the Americas: Current and future cost and prevalence of Alzheimer's disease and other dementias, BUPA: London, UK.
- Butler, J.L. & Paulsen, O. (2015). Hippocampal network oscillations – recent insights from in vitro experiments. *Current Opinion in Neurobiology*, 31, 40-44.
- Butler, T., Li, Y., Tsui, W., Friedman, D., Maoz, A., Wang, X., Harvey, P., Tanzi, E., Morim, S., Kang, Y., Mosconi, L., Talos, D., Kuzniecky, R., Vallhabjosula, S., Thesen, T., Glodzik, L., Ichise, M., Silbersweig, D., Stern, E., de Leon, M.J. & French, J. (2016). Transient and chronic seizure-induced inflammation in human focal epilepsy. *Epilepsia*, 57 (9), e191-e194.
- Buzsáki, G. (2002). Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*, 33, 325-340.
- Buzsáki, G., & Watson, B. O. (2012). Brain rhythms and neural syntax: implications for efficient coding of cognitive content and neuropsychiatric disease. *Dialogues Clin Neurosci*, 14 (4), 345-367.
- Cacacc, R., Slegers, K., Van Broeckhove, C. (2016). Molecular genetics of early-onset Alzheimer disease revisited. *Alzheimer's & Dementia*, 3 (16), S1552-5260.
- Calderón-Garcidueñas, L., Reed, W., Maronpot, R.R., Henríquez-Roldán, C., Delgado-Chavez, R., Calderón-Garcidueñas, A., Dragustinovis, I., Franco-Lira, M., Aragón-Flores, M., Solt, A.C., Alternburg, M., Torres-Jardón, R. & Swenberg, J.A. (2004). Brain inflammation and Alzheimer's-like pathology in

- individuals exposed to severe air pollution. *Toxicology Pathology*, 32, 650-658.
- Calderón-González, P.L., Parra-Rodríguez, M.A., Llibre-Rodríguez, J.J. & Gutiérrez, J.V. (2004). Análisis espectral de la coherencia cerebral en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol*, 38 (5), 422-427.
- Carlen, P.L., Skinner, F., Zhang, L., Naus, C., Kushnir, M., Perez, J.L. (2000). The role of gap junctions in seizures. *Brain Research Reviews*, 32, 235-241.
- Carmona-Aparicio, L., Peña, F., Borsodi, A. & Rocha, L. (2007). Effects of nociceptin on the spread and seizure activity in the rat amígdala kindling model: Their correlations with ³H-leucyl-nociceptin binding. *Epilepsy Research*, 77, 75-84.
- Carrillo, M.C., Dean, R.A., Nicolas, F., Miller, D.S., Berman, R., Khachaturian, Z., Bain, L.J., Schindler, R. & Knopman, D. (2013). Revisiting the framework of the National Institute on Aging-Alzheimer's Association diagnostic criteria. *Alzheimer's & Dementia*, 9 (5), 594-601.
- Carrillo-Reid, L., Yang, W., Bando, Y., Peterka, D.S & Yuste, R. (2016). Imprinting and recalling cortical ensembles. *Science*, 353 (6300), 691-694.
- Cavalheiro, E. A. (1995). The pilocarpine model of epilepsy. *The Italian Journal of Neurological Sciences*, 16 (1-2), 33-37.
- Cavalheiro, E.A., Naffah-Mazzacoratti, M.G., Mello, L.E., & Leite, J.P. (2006). The pilocarpine model of seizures (pp. 443-446). Elsevier, NY, USA.
- Cavanaugh, S.E., Pippin, J.J., & Barnard, N.D. (2014). Animal models of Alzheimer disease: historical pitfalls and a path forward. *Alz Dis*, 31 (3), 279-302.
- Cavazos, J.E. & Sutula, T.P. (1990). Progressive neuronal loss induced by kindling: a possible mechanism for mossy fiber synaptic reorganization and hippocampal sclerosis. *Brain Research*, 527, 1-6.
- Cavazos, J.E., Das, I. & Sutula, T.P. (1994). Neuronal loss induced in limbic pathways by kindling: Evidence for induction of hippocampal sclerosis by repeated brief seizures. *The Journal of Neuroscience*, 14 (5), 3106-3132.
- Chan, J., Jones, N. C., Bush, A. I., O'Brien, T. J., & Kwan, P. (2015). A mouse model of Alzheimer's disease displays increased susceptibility to kindling and seizure-associated death. *Epilepsia*, 56 (6), e73-e77.
- Chen, G., Ward, B.D., Chen, G., & Li, S.J. (2014). Decreased Effective Connectivity from Cortices to the Right Parahippocampal Gyrus in Alzheimer's Disease Subjects. *Brain Connectivity*, 4 (9), 702-708.
- Chin, J., & Scharfman, H.E. (2013). Shared cognitive and behavioral impairments in epilepsy and Alzheimer's disease and potential underlying mechanisms. *Epilepsy & Behavior*, 26 (3), 343-351.
- Chin, S.M. & Goldman, J.E. (1996). Glial inclusions in CNS degenerative diseases. *J Neuropathol & Exp Neurol*, 55 (5), 499-508.
- Cho, J.R., Koo, D.L., Joo, E.Y., Yoon, S.M., Ju, E., Lee, J., Kim, D.Y. & Hong, S.B. (2012). Effect of levetiracetam monotherapy on background EEG activity and cognition in drug-naïve epilepsy patients. *Clinical Neurophysiology*, 123, 883-891.
- Choi, J. & Koh, S. (2008). Role of brain inflammation in epileptogenesis. *Yonsei Medical Journal*, 49 (1), 1-18.

- Cirrito, J.R., Yamada, K.A., Finn, M.B., Sloviter, R.S., Bales, K.R., May, P.C., Schoepp, D.D., Paul, S.M., Mennerick, S. & Holtzman, D.M. (2005). Synaptic activity regulates interstitial fluid amyloid- β levels in vivo. *Neuron*, 48, 913-922.
- Clark, L.P. & Prout, T.P. (1903). Status epilepticus: a clinical and pathological study in epilepsy. *American Journal of Insanity*, 60, 645-675.
- Clifford, D.B., Olney, J.W., Maniotis, A., Collins, R.C. & Zorumski, C.F. (1987). The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures. *Neuroscience*, 23 (3), 953-968.
- Cloyd, J., Hauser, W., Towne, A., Ramsay, R., Mattson, R., Gilliam, F., & Walczak, T. (2006). Epidemiological and medical aspects of epilepsy in the elderly. *Epilepsy Research*, 68, 39-48.
- Cole, A.J. (2004). Status epilepticus and periictal imaging. *Epilepsia*, 45 (Suppl. 4), 72-77.
- Colonna, M. & Butovsky, O. (2017). Microglia function in the central nervous system during health and neurodegeneration. *Annual Review of Immunology*, 35, 441-468.
- Coria-Balanzat, F. (2006). Avances en la patología molecular de la enfermedad de Alzheimer. *Revista de Neurología*, 42 (5), 306-309.
- Creavin, S.T., Wisniewski, S., Noel-Storr, A.H., Trevelyan, C.M., Rayment, D., Thom, V.M., Elhamoui, H., Milligan, R., Patel, A.S., Tsivos, D.V., Wing, T., Phillips, E., Kellman, S.M., Shackleton, H.L., Singleton, G.F., Neale, B.E., Watton, M.E. & Cullum, S. (2016). Mini-Mental State Examination (MMSE) for the detection of dementia in clinically unevaluated people aged 65 and over in community and primary care populations. *Cochrane Database Syst Rev*, 13, 1-CD011145.
- Curtis, M., Carriero, G., Panuccio, G. & Avoli, M. (2010). Induced and acquired epileptogenicity in animal models. En Panayiotopoulos C.P. (Ed). Atlas of epilepsies (pp. 309-318). Reino Unido: Springer Reference.
- D'Amelio, M., & Rossini, P.M. (2012). Brain excitability and connectivity of neuronal assemblies in Alzheimer's disease: from animal models to human findings. *Progress in Neurobiology*, 99 (1), 42-60.
- d'Orsi, G., & Specchio, L.M. (2014). Progressive myoclonus epilepsy in Down syndrome patients with dementia. *Journal of Neurology*, 261(8), 1584-1597.
- Daulatzai, M.A. (2015). "Boomerang Neuropathology" of late-onset Alzheimer's disease is shrouded in harmful "BDDS": breathing, diet, drinking, and sleep during aging. *Neurotoxicology Research*, 28, 55-93.
- Daval, J.L., Deckert, J., Nakajima, T., Mogan, P.F. & Marangos, P.J. (1988). Regional ontogenetic profile of central and peripheral benzodiazepine receptors in the guinea pig brain. *Neuroscience Letters*, 92, 82-85.
- De Boer, H. M., Mula, M., & Sander, J. W. (2008). The global burden and stigma of epilepsy. *Epilepsy & behavior*, 12 (4), 540-546.
- de Lanerolle, N.C., & Lee, T.S. (2005). New facets of the neuropathology and molecular profile of human temporal lobe epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, 7 (2), 190-203.
- DeKosky, S. T. (2002). Neurobiología y biología molecular de la enfermedad de Alzheimer. *Revista de Neurología*, 35 (8), 752-760.

- Del Bo, R., Angeretti, N., Lucca, E. De Simoni, M.G., & Forloni, G. (1995). Reciprocal control of inflammatory cytokines, IL-1 and IL-6, and β -amyloid production in cultures. *Neuroscience Letters*, 188, 70-74.
- Delacourte, A. & Bl  e, L. (2000). Tau pathology: a marker of neurodegenerative disorders. *Current Opinion in Neurology*, 13 (4), 371-376.
- Deshpande, A., Mina, E., Glabe, C. & Busciglio, J. (2006). Different conformations of amyloid β induce neurotoxicity by distinct mechanisms in human cortical neurons. *Neurobiology of Disease*, 26 (22), 6011-6018.
- Devinsky, O., Vezzani, A., Najjar, S., De Lanerolle, N.C. & Rogawski, M.A. (2012). Glia and epilepsy: excitability and inflammation. *Trends in Neurosciences*, 36 (3), 174-184.
- Dewachter, I, van Dorpe, J., Spittaels, K., Tesseur, I., Van Den Haute, C., Moechars, D. & Van Leuven, F. (2000). Modeling Alzheimer's disease in transgenic mice: effect of age and of Presenilin1 on amyloid biochemistry and pathology in APP/London mice. *Experimental Gerontology*, 35, 831-841.
- Dhikav, V., & Anand, K. (2007). Hippocampal atrophy may be a predictor of seizures in Alzheimer's disease. *Medical Hypotheses*, 69 (1), 234-235.
- Di Bonaventura, C., Nonini, F., Fattouch, J., Mari, F., Petrucci, S., Carn  , M., Tinelli, E., Pantano, P., Bastianello, S., Maraviglia, B., Manfredi, M., Prencipe, M. & Giallonardo, A.T. (2009). Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in patients with partial status epilepticus. *Epilepsia*, 50 (Suppl. 1), 45-52.
- do Nascimento, A.L., dos Santos, N.F., Pelagio, F.C., Teixeira, S.A., de Moraes Ferrari, E.A., & Langone, F. (2012). Neuronal degeneration and gliosis time-course in the mouse hippocampal formation after pilocarpine-induced status epilepticus. *Brain Research*, 1470, 98-110.
- Doens, D., & Fern  ndez, P.L. (2014). Microglia receptors and their implications in the response to amyloid beta for Alzheimer's disease pathogenesis. *J Neuroinflammation*, 11 (1), 48.
- Druga, R., Kubova, H., Suchomelova, L., & Haugvicova, R. (2003). Lithium/pilocarpine status epilepticus-induced neuropathology of piriform cortex and adjoining structures in rats is age-dependent. *Physiological Research*, 52 (2), 251-264.
- DuBoff, B., Feany, M., & G  tz, J. (2013). Why size matters—balancing mitochondrial dynamics in Alzheimer's disease. *Trends in Neurosciences*, 36 (6), 325-335.
- Duveau, V., Pouyatos, B., Bressand, K., Bouyssi  res, C., Chabrol, T., Roche, Y., Depaulis, A. & Roucard, C. (2016). Differential effects of antiepileptic drugs on focal seizures in the intrahippocampal kainite mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 22, 497-506.
- Elgh, E.,   stot, A.L., Fagerlund, M., Eriksson, S., Olsson, T., & N  sman, B. (2006). Cognitive dysfunction, hippocampal atrophy and glucocorticoid feedback in Alzheimer's disease. *Biological Psychiatry*, 59 (2), 155-161.
- Emsley, H.C.A., Appleton, R.E., Whitmore, C.L., Jury, F., Lamb, J.A., Martin, J.E., Ollier, W.E.R., de la Morandi  re, K.P., Southern, K.W. & Allan, S.M. (2014). Variations in inflammation-related genes may be associated with childhood febrile seizure susceptibility. *Seizure*, 23, 457-461.

- Engel, J. & Schwartzkroin, P.A. (2006). What should be modeled? En Pitkänen, A., *Models of seizures and epilepsy* (pp. 35-44). Estados Unidos de América: Elsevier Academic Press.
- Engel, J., Pitkänen, A., Loeb, J.A., Dudek, F.E., Bertram, E.H., Cole, A.J., Moshé, S.L., Wiebe, S., Jensen, F.E., Mody, I., Nehlig, A. & Vezzani, A. (2013). Epilepsy biomarkers. *Epilepsia*, 54 (Suppl. 4), 61-69.
- Escera, C. (2004). Aproximación histórica y conceptual a la neurociencia cognitiva. *Cognitiva*, 16 (2), pp.1-21.
- Espie, C.A., Paul, A., McColl, J.H., McFie, J., Amos, P., Gray, J., Hamilton, D.S. & Jamal, G.A. (1998). Cognitive functioning in people with epilepsy plus severe learning disabilities: a systematic analysis of predictors of daytime arousal and attention. *Seizure*, 8, 73-80.
- Evans, M.S., Zorumski, C.F. & Clifford, D.B. (1990). Lithium enhances neuronal muscarinic excitation by presynaptic facilitation. *Neuroscience*, 38 (2), 457-468.
- Ezquerro, M., Carnero, C., Blesa, R., Gelpí, J.L., Ballesta, F. & Oliva, R. (1999). A presenilin 1 mutation (Ser169Pro) associated with early-onset AD and myoclonic seizures. *Neurology*, 52 (3), 566-570.
- Feng, B., Tang, Y.S., Chen, B., Xu, Z.H., Wang, Y., Wu, D.C., Zhao, H.W., Zhang, S.H. & Chen, Z. (2015). Early hypoactivity of hippocampal rhythms during epileptogenesis after prolonged febrile seizures in freely-moving rats. *Neuroscience Bulletin*, 31 (3), 297-306.
- Fisher, R. S. (1989). Animal models of the epilepsies. *Brain Research Reviews*, 14 (3), 245-278.
- Fisher, R.S. (2014). Commentary: ILAE definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55 (4), 492-493.
- Fisher, R.S. (2017). The new classification of seizures by the International League Against Epilepsy 2017. *Current Neurology and Neuroscience reports*, 17 (6), 1-6.
- Fisher, R.S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, H., Elger, C.E., Engel, J., Forgren, L., French, J.A., Glynn, M., Hesdorfer, D.C., Lee, B.I., Mathern, G.W., Moshé, S.L., Perucca, E., Scheffer, I.E., Tomson, T., Watanabe, M. & Wiebe, S. (2014). A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55 (4), 475-482.
- Fisher, R.S., van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P. & Engel, J.Jr. (2005). Epileptic seizures and epilepsy. Definitions proposed by the ILAE and the IBE. *Epilepsia*, 46 (4), 470-472.
- Frantseva, M.V., Perez, J.L. & Carlen, P.L. (1998). Changes in membrane and synaptic properties of thalamocortical circuitry caused by hydrogen peroxide. *Journal of Neurophysiology*, 80 (3), 1317-1326.
- Galanopoulou, A.S. & Moshé, S.L. (2010). Epileptogenesis and animal models of epilepsies: Overview. En Panayiotopoulos C.P. (Ed). *Atlas of epilepsies* (pp. 291-293). Reino Unido: Springer Reference.
- Gardini, S., Venneri, A., Sambataro, F., Cuetos, F., Fasano, F., Marchi, M., Crisi, G. & Caffarra, P. (2015). Increased functional connectivity in the default mode network in mild cognitive impairment: a maladaptive compensatory

- mechanism associated with poor semantic memory performance. *Journal of Alzheimer's Disease*, 45 (2), 457-470.
- Gavello, D., Calorio, C., Franchino, C., Cesano, F., Carabelli, V., Carbone, E. & Marcantoni, A. (2016). Early alterations of hippocampal neuronal firing induced by Abeta42. *Cerebral Cortex*, 19, 1-14.
- Ghadiri, M.K., Kozian, M. Ghaffarian, N., Stummer, W., Kazemi, H., Speckmann, E.J. & Gorji, A. (2012). Sequential changes in neuronal activity in single neocortical neurons after spreading depression. *Cephalgia*, 32 (2), 116-124.
- Gleichmann, M., & Mattson, M.P. (2010). Alzheimer's disease and neuronal network activity. *Neuromolecular Medicine*, 12 (1), 44-47.
- Glennner, G.G., & Wong, C.W. (1984). Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 122 (3), 1131-1135.
- Goate, A. & Hardy, J. (2012). Twenty years of Alzheimer's disease-causing mutations. *Journal of Neurochemistry*, 120 (Suppl. 1), 3-8.
- Goddard, G.V. McIntyre, D.C. & Leech, C.K. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental Neurology*, 25, 295-330.
- Growling, E., Roher, A.E., Woods, A.S., Cotter, R.J., Chaney, M., Little, S.P. & Ball, M.J. (1994). Chemical characterization of A β 1-42 peptide, a component of diffuse amyloid deposits of Alzheimer disease. *The Journal of Chemistry*, 296 (15), 10987-10990.
- Grueninger, F., Bohrmann, B., Czech, C., Ballard, T.M., Frey, J. R., Weidensteiner, C., von Kienlin, M. & Ozmen, L. (2010). Phosphorylation of Tau at S422 is enhanced by A β in TauPS2APP triple transgenic mice. *Neurobiology of Disease*, 37 (2), 294-306.
- Gulyás, A.I. & Freund, T.T. (2014). Generation of physiological and pathological high frequency oscillations: the role of perisomatic inhibition in sharp-wave ripple and interictal spike generation. *Current Opinion in Neurobiology*, 31, 26-32.
- Gurbanova, A.A., Aker, R.G., Sirvanci, S., Demiralp, T. & Onat, F.Y. (2008). Intra-amygdaloid injection of kainic acid in rats with genetic absence epilepsy: the relationship of typical absence epilepsy and temporal lobe epilepsy. *The Journal of Neuroscience*, 28 (31), 7828-7836.
- Gurevicius, K., Lipponen, A., & Tanila, H. (2013). Increased cortical and thalamic excitability in freely moving APP^{swe}/PS1^{dE9} mice modeling epileptic activity associated with Alzheimer's disease. *Cerebral Cortex*, 23 (5), 1148-1158.
- Gutiérrez-Lerma, A.I., Ordaz, B. & Peña-Ortega, F. (2013). Amyloid beta peptides differentially affect hippocampal theta rhythms *in vitro*. *International Journal of Peptides*, 2013, 1-11.
- Gutiérrez-Robledo, L.M. & Arrieta-Cruz, I. (2014). Plan de acción Alzheimer y otras demencias, México 2014. México: Instituto Nacional de Geriatria.
- Gutiérrez-Robledo, L.M. & Arrieta-Cruz, I. (2015). Demencias en México: la necesidad de un plan de acción. *Gaceta Médica de México*, 151, 667-673.
- Haghir, H., Kovac, S., Speckmann, E.J. & Gorji, A. (2009). Patterns of neurotransmitter receptor distributions following cortical spreading depression. *Neuroscience*, 163 (4), 1340-1352.

- Hardy, J., & Selkoe, D.J. (2002). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 297 (5580), 353-356.
- Hardy, J.A., & Higgins, G.A. (1992). Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, 256 (5054), 184.
- Harrison, J., Minassian, S.L., Jenkins, L., Black, R.S., Koller, M. & Grundman, M. (2007). A neuropsychological test battery for use in Alzheimer disease clinical trials. *Arch Neurol*, 64 (9), 1323-9.
- Hatz, F. Hardmeier, M., Benz, N., Ehrensperger, M., Gschwandtner, U., Rüegg, S., Schindler, C., Monsch, A.U. & Fuhr, P. (2015). Microstate connectivity alterations in patients with early Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, 31, 7-78.
- Hauser, W. A., Morris, M. L., Heston, L. L., & Anderson, V. E. (1986). Seizures and myoclonus in patients with Alzheimer's disease. *Neurology*, 36 (9), 1226-1226.
- Hazra, A., Corbett, B.F., You, J.C., Aschimes, S., Zhao, L., Li, K., Lepore, A.C., Marsh, E.D. & Chin, J. (2016). Corticothalamic network dysfunction and behavioral deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 44, 96-107.
- Heinemann, U. & Holtkamp, M. (2010). Pathophysiology of status epilepticus: Experimental Data. En Panayiotopoulos C.P. (Ed). Atlas of epilepsies (pp. 275-282). Reino Unido: Springer Reference.
- Heinemann, U., Kann, O & Schuchmann, S. (2006). An overview of *in vitro* seizure models in acute and organotypic slices. En Pitkänen, A., *Models of seizures and epilepsy* (pp. 35-44). Estados Unidos de América: Elsevier Academic Press.
- Heppner, F.L., Ransohoff, R. & Becher, B. (2015). Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nature Reviews*, 16, 358-372.
- Herrmann, C.S., & Demiralp, T. (2005). Human EEG gamma oscillations in neuropsychiatric disorders. *Clinical Neurophysiology*, 116 (12), 2719-2733.
- Hesdorffer, D.C., Hauser, W.A., Annegers, J.F., Kokmen, E., & Rocca, W.A. (1996). Dementia and adult-onset unprovoked seizures. *Neurology*, 46 (3), 727-730.
- Hommet, C., Mondon, K., Camus, V., De Toffol, B. & Constans, T. (2007). Epilepsy and dementia in the elderly. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 25, 293-300.
- Hováth, A., Szücs, A., Bares, G., Noebels, J. & Kamondi, A. (2016). Epileptic seizures in Alzheimer Disease. A review. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 00 (00), 1-7.
- Huang, W., Li, Z., Zhao, L & Zhao, W. (2017). Simvastatin ameliorate memory deficits and inflammation in clinical and mouse model of Alzheimer's disease via modulating the expression of miR-106b. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 46-57.
- Hughes, J.R. (2008). Gamma, fast, and ultrafast waves of the brain: Their relationships with epilepsy and behavior. *Epilepsy and behavior*, 13, 25-31.
- Hunter, J.M., Cirrito, J.R., Restivo, J.L., Kinley, R.D., Sullivan, P.M., Holtzman, D. M., Koger, D., DeLong, C., Lin, S., Zhao, L., Bales, K. & Paul, S.M. (2012).

- Emergence of a seizure phenotype in aged apolipoprotein epsilon 4 targeted replacement mice. *Brain Research*, 1467, 120-132.
- Irizarry, M.C., Jin, S., He, F., Emond, J.A., Raman, R., Thomas, R.G., Sano, M., Quinn, J.F., Tariot, P.N., Galasko, D.R., Ishihara, L.S., Weil, J.G. & Aisen, P.S. (2012). Incidence of new-onset seizures in mild to moderate Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 69 (3), 368-372.
- Isla, A.G., Vázquez-Cuevas, F.G. & Peña-Ortega, J.F. (2016). Exercise prevents amyloid- β -induced hippocampal network disruption by inhibiting GSK3 β activation. *Journal of Alzheimer's Disease*, 52 (1), 333-343.
- Itoh, K., Ishihara, Y., Komori, R., Nochi, H., Taniguchi, R., Chiba, Y., Ueno, M., Takata-Tsuji, F., Dohgu, S. & Kataoka, Y. (2016). Levetiracetam treatment influences blood-brain barrier failure associated with angiogenesis and inflammatory responses in the acute phase of epileptogenesis in post-status epilepticus mice. *Brain Research*, 1652, 1-13.
- Jack, C.R., Knopman, D.S., Jagust, W.J., Shaw, L.M., Aisen, P.S., Weiner, M.W., Petersen, R.S. & Trojanowski, J.Q. (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurology*, 9 (1), 1-20.
- Jang, S. S., & Chung, H. J. (2016). Emerging link between Alzheimer's disease and homeostatic synaptic plasticity. *Neural Plasticity*, 2016, 7969272.
- Jellinger, K., Braak, H., Braak, E., & Fischer, P. (1991). Alzheimer lesions in the entorhinal region and isocortex in Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 640 (1), 203-209.
- Ji, B., Chen, C. J., Bando, K., Ashino, H., Shiraishi, H., Sano, H., Kasahara, H., Minamizawa, T., Yamada, K., Ono, M., Zhang, M.R., Seki, C., Farde, L., Sahara, T. & Higuchi, M. (2015). Distinct binding of amyloid imaging ligands to unique amyloid- β deposited in the presubiculum of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 135(5), 859-866.
- Jo, J., Whitcomb, D. J., Olsen, K. M., Kerrigan, T. L., Lo, S. C., Bru-Mercier, G., Dickinson, B., Scullion, S., Sheng, M., Collingridge, G. & Cho, K. (2011). A [beta] 1-42 inhibition of LTP is mediated by a signaling pathway involving caspase-3, Akt1 and GSK-3 [beta]. *Nature Neuroscience*, 14 (5), 545-547.
- Joachim, C.L., Morris, J.H., & Selkoe, D.J. (1989). Diffuse senile plaques occur commonly in the cerebellum in Alzheimer's disease. *The American Journal of Pathology*, 135 (2), 309.
- Jones, R.T., Barth, A.M., Ormiston, L.D. & Mody, I. (2015). Evolution of temporal and spectral dynamics of pathologic high-frequency oscillations (pHFO) during epileptogenesis. *Epilepsia*, 56 (12), 1879-89.
- Joo, S. H., Lim, H. K., & Lee, C. U. (2016). Three Large-Scale Functional Brain Networks from Resting-State Functional MRI in Subjects with Different Levels of Cognitive Impairment. *Psychiatry Investigation*, 13 (1), 1-7.
- Jope, R.S., Morrisett, R.A. & Snead, O.C. (1986). Characterization of lithium potentiation of pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Experimental Neurology*, 91, 471-480.
- Kamenetz, F., Tomita, T., Hsieh, H., Seabrook, G., Borchelt, D., Iwatsubo, T., Sisodia, S. & Malinow, R. (2003). APP processing and synaptic function. *Neuron*, 37 (6), 925-937.

- Karran, E., Mercken, M., & De Strooper, B. (2011). The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 10 (9), 698-712.
- Kettenmann, H., Kirchhoff, F. & Verkhratsky, A. (2013). Microglia: New roles for the synaptic stripper. *Neuron*, 77, 10-18.
- Khaleghi, M., Kozian, M., Ghaffarian, N., Stummer, W., Kazemi, H., Spechmann, E.J. & Gorji, A. (2011). Sequential changes in neuronal activity in single neocortical neurons after spreading depression. *Cephalgia*, 32 (2), 116-124.
- Klein, A.S., Donoso, J.R., Kempter, R., Schmitz, D. & Beed, P. (2016). Early cortical changes in gamma oscillations in Alzheimer's disease. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 10 (83), 1-11.
- Klein, W.L. (2002). A β toxicity in Alzheimer's disease: globular oligomers (ADDLs) as new vaccine and drug targets. *Neurochemistry International*, 41, 345-352.
- Klioueva, I.A., van Luijelaar, E.L.J.M., Chepurnova, N.E. & Chepurnov, S.A. (2001). PTZ-induced seizures in rats: effect of age and strain. *Physiology & Behavior*, 72, 431-426.
- Klueva, J., Munsch, T., Abrecht, D. & Pape, H. (2003). Synaptic and non-synaptic mechanisms of amigdala recruitment into temporolimbic epileptiform activities. *European Journal of Neuroscience*, 18, 2279-2791.
- Knierim, J.J. (2015). The hippocampus. *Current Biology*, 25, R1107-R1125.
- Koivunen, J., Pirttilä, T., Kempainen, N., Aalto, S., Herukka, S. K., Jauhianen, A. M., Hänninen, T., Hallikainen, M., Nägren, K., Rinne, J.O. & Soininen, H. (2008). PET amyloid ligand [^{11}C] PIB uptake and cerebrospinal fluid β -amyloid in mild cognitive impairment. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 26 (4), 378-383.
- Koliastos, V.E., Kecojevic, A., Troncoso, J.C., Gastard, M.C., Bennett, D.A. & Schneider, J.A. (2006). Early involvement of small inhibitory cortical interneurons in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, 112 (2), 147-162.
- Kolosowska, K., Maciejak, P., Szyndler, J., Turzynska, D., Sobolewska, A. & Plaznik, A. (2014). The role of interleukin-1 β in the pentylentetrazole-induced kindling of seizures, in the rat hippocampus. *European Journal of Pharmacology*, 731, 31-37.
- Kolosowska, K., Maciejak, P., Szyndler, J., Turzynska, D., Sobolewska, A. & Plaznik, A. (2016). The role of IL-1 β and glutamate in the effects of lipopolysaccharide on the hippocampal electrical kindling of seizures. *The Journal of Neuroimmunology*, 298, 146-152.
- Kramer, D.R., Fujii, T., Ohiorhenuan, I. & Liu, C.Y. (2017). Interplay between cortical spreading depolarization and seizures. *Neurosurgery*, 95, 1-5.
- Lam, A.D., Deck, G., Goldman, A., Eskandar, E.N., Noebels, J. & Cole, A.J. (2017). Silent hippocampal seizures and spikes identified by foramen ovale electrodes in Alzheimer's disease. *Nature Medicine*, 1-4.
- LeBeau, F.E.N., Traub, R.D., Monyer, H., Whittington, M.A. & Buhl, E.H. (2003). The role of electrical signaling via gap junctions in the generation of fast networks oscillations. *Brain Research Bulletin*, 62, 3-13.

- Leite, J.P., García-Cairasco, N. & Cavalheiro, E.A. (2002). New insights from the use of pilocarpine and kainate models. *Epilepsy Research*, 50, 93-103.
- Leppik, I. E. (2006). Epilepsy in the elderly. *Epilepsia*, 47 (s1), 65-70.
- Lévesque, M. & Avoli, M. (2013). The kainic acid model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37, 2887-2899.
- Levy, N., Milikovsky, D.Z., Baranauskas, G., Vinogradov, E., David, Y., Ketzev, M., Abutbul, S., Weissberg, I., Kamintsky, L., Fleidervish, I., Friedman, A. & Monsonogo, A. (2015). Differential TGF- β signaling in glial subsets underlies IL-6-mediated epileptogenesis. *The Journal of Immunology*, 195, 1713-1722.
- Li, Y., Sun, H., Xu, H., Bu, G. & Zheng, H. (2016). Implications of GABAergic neurotransmission in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 8 (31), 1-12.
- Lillis, K.P., Wang, Z., Mail, M., Zhao, G.Q., Berdichevsky, Y., Bacskai, B. & Staley, K.J. (2015). Evolution of network synchronization during early epileptogenesis parallels synaptic circuit alterations. *The Journal of Neuroscience*, 35 (27), 9920-9934.
- Limon, A., Reyes-Ruiz, J.M. & Miledi, R. (2012). Loss of functional GABAA receptors in the Alzheimer diseased brain. *PNAS*, 109 (25), 10071-10076.
- Linehan, C. & Kerr, M. (2006). Epidemiology of epilepsies in developed countries. En Panayiotopoulos C.P. (Ed). Atlas of epilepsies (pp. 51-56). Reino Unido: Springer Reference.
- Liu, C., & Götz, J. (2013). Profiling murine tau with 0N, 1N and 2N isoform-specific antibodies in brain and peripheral organs reveals distinct subcellular localization, with the 1N isoform being enriched in the nucleus. *PLoS ONE*, 8 (12), e84849.
- Liu, S., Liu, Y., Hao, W., Wolf, L., Kiliaan, A. J., Penke, B., Rube, C.E., Walter, J., Heneka, M.T., Hatmann, T., Menger, M.D. ... & Menger, M. D.Fassbender, K. (2012). TLR2 is a primary receptor for Alzheimer's amyloid β peptide to trigger neuroinflammatory activation. *The Journal of Immunology*, 188 (3), 1098-1107.
- Llibre-Rodríguez, J.J., Ferri, C.P., Acosta, D., Guerra, M., Huang, Y., Jacob, K.S., Krishnamoorthy, E.S., Salas, A., Sosa, A.L., Acosta, I., Dewey, M.E., Gaona, C., Jotheeswaran, A.T., Li, S., Rodríguez, D., Rodríguez, G., Kumar, P.S., Valhuerdi, A. & Prince, M. (2008). Prevalence of dementia in Latin America, India, and China: a population-based cross-sectional survey. *Lancet*, 372, 464-474.
- Lloret, A., Fuchsberger, T., Giraldo, E., & Vina, J. (2015). Molecular mechanisms linking amyloid β toxicity and Tau hyperphosphorylation in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 83, 186-191.
- López, O. L., & DeKosky, S. T. (2003). Neuropatología de la enfermedad de Alzheimer y del deterioro cognitivo leve. *Revista de Neurología*, 37 (2), 155-163.
- Löscher, W. (1997). Animal models of intractable epilepsy. *Progress in Neurobiology*, 53 (2), 239-258.
- Löscher, W., Cramer, S. & Ebert, U. (1998). Limbic epileptogenesis alters the anticonvulsant efficacy of phenytoin in Sprague-Dawley rats. *Epilepsy Research*, 31, 175-186.

- Lue, L.F., Kuo, Y.M., Roher, A.E., Brachova, L., Shen, Y., Sue, L., Beach, T., Kurth, J.H., Rydel, R.E... & Rogers, J. (1999). Soluble amyloid β peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *The American Journal of Pathology*, 155 (3), 853-862.
- Luszcki, J.J. & Czuczwar, S.J. (2005). Isobolographic characterisation of interactions among selected newer antiepileptic drugs in the mouse pentylenetetrazole-induced seizure model. *Archives of Pharmacology*, 372 (1), 41-54.
- Luttjohan, A., Fabene, P.F. & van Luijtelaaar, G. (2009). A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats. *Physiology & Behavior*, 98, 579-586.
- Ma, Y. & Prince, D.A. (2012). Functional alterations in GABAergic fast-spiking interneurons in chronically injured epileptogenic neocortex. *Neurobiology of Disease*, 47, 102-113.
- Mangan, P.S., Scott, C.A., Williamson, J.M. & Bertram, E.H. (2000). Aberrant neuronal physiology in the basal nucleus of the amygdala in a model of chronic limbic epilepsy. *Neuroscience*, 101 (2), 377-391.
- Mann, D.M.A., Yates, P.O., & Marcyniuk, B. (1985). Some morphometric observations on the cerebral cortex and hippocampus in presenile Alzheimer's disease, senile dementia of Alzheimer type and Down's syndrome in middle age. *Journal of the Neurological Sciences*, 69 (3), 139-159.
- Manrique-Espinoza, B., Salinas-Rodríguez, A., Moreno-Tamayo, K.M., Acosta-Castillo, I., Sosa-Ortiz, A.L., Gutiérrez-Robledo, L.M. & Téllez-Rojo, M.M. (2013). Condiciones de salud y estado funcional de los adultos mayores en México. *Salud Pública*, 55 (Suppl. 2), S323-S331.
- Mar, J., Soto-Gordoa, M., Arrospide, A., Moreno-Izco, F., & Martínez-Lage, P. (2015). Fitting the epidemiology and neuropathology of the early stages of Alzheimer's disease to prevent dementia. *Alzheimer's Research & Therapy*, 7 (1), 1-8.
- Marosi, E. (2008). Electroencefalografía de la A a la Z. México: *Universidad Nacional Autónoma de México*.
- Martínez, J.L. & Rigter, H. (1980). Endorphins alter acquisition and consolidation of an inhibitory avoidance response in rats. *Neuroscience Letters*, 19, 197-201.
- Martorana, A., Di Lorenzo, F., Belli, L., Sancesario, G., Toniolo, S., Sallustio, F., ...Sancesario, G.M. & Koch, G. (2015). Cerebrospinal Fluid A β 42 Levels: When Physiological Become Pathological State. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 21 (12), 921-925.
- Masters, C.L., Simms, G., Weinman, N.A., Multhaup, G., McDonald, B.L., & Beyreuther, K. (1985). Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(12), 4245-4249.
- McKhann, G.M., Knopman, D.S., Chertkow, H., Hyman, B.T., Jack, C.R., Kawas, C.H., ... & Mohs, R.C. Klunk, W.E., Koroshetz, W.J., Manly, J.J., Mayeux, R., Mohs, R.C., Morris, J.C., Rossor, M.N., Scheltens, P., Carrillo, M.C., Weintraub, S. & Pheps, C.H. (2011). The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-

- Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7 (3), 263-269.
- Mendez, M.F., Catanzaro, P., Doss, R.C., Arguello, R. & Frey, W.H. (1994). Seizures in Alzheimer's Disease: Clinicopathologic study. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 7 (4), 230-233.
- Merlini, M., Wanner, D. & Nitsch, R.M. (2015). Tau pathology-dependent remodeling of cerebral arteries precedes Alzheimer's disease-related microvascular cerebral amyloid angiopathy. *Acta Neuropathology*, 131, 737-752.
- Meyer, M., Kienzler-Norwood, F., Bauer, S., Rosenow, F. & Norwood, B.A. (2016). Removing entorhinal cortex input to the dentate gyrus does not impede low frequency oscillations, an EEG-biomarker of hippocampal epileptogenesis. *Nature Scientific Reports*, 6 (25660), 1-9.
- Millenaar, J.K., de Vugt, M.E., Bakker, C., van Vilet, D., Pijnenburg, Y.A.L., Koopmans, R.T.C.M. & Verhey, F.R.J. (2015). The impact of young onset dementia on informal caregivers compared with late onset dementia: Results from the NeedYD study. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 24 (6), 467-474.
- Minkeviciene, R., Rheims, S., Dobszay, M.B., Zilberter, M., Hartikainen, J., Fülöp, L., Penke, B., Zilberter, Y., Harkany, T., Pitkänen, A. & Tanila, H. (2009). Amyloid β -induced neuronal hyperexcitability triggers progressive epilepsy. *The Journal of Neuroscience*, 29 (11): 3453-3453.
- Mizoguchi, H. & Yamada, K. (2013). Roles of matrix metalloproteinases and their targets in epileptogenesis and seizures. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, 11 (2), 45-52.
- Möller, H. J., & Graeber, M. B. (1998). The case described by Alois Alzheimer in 1911. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 248 (3), 111-122.
- Montgomery, S.M. & Buzsáki, G. (2007). Gamma oscillations dynamically couple hippocampal CA3 and CA1 regions during memory task performance. *PNAS*, 104 (36), 14495-14500.
- Moretti, D., Paternico, D., Binetti, G., Zanetti, O., & B Frisoni, G. (2014). EEG upper/low alpha frequency power ratio and the impulsive disorders network in subjects with mild cognitive impairment. *Current Alzheimer Research*, 11 (2), 192-199.
- Morimoto, K., Fahnestock, M. & Racine, R.J. (2004). Kindling and status epilepticus models of epilepsy. *Progress in Neurobiology*, 73, 1-60.
- Mormino, E. C., Kluth, J. T., Madison, C. M., Rabinovici, G. D., Baker, S. L., Miller, B. L., Koeppe, R., Mathis, C.A., Weiner, N.W. & Jagust, W.J. ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2009). Episodic memory loss is related to hippocampal-mediated β -amyloid deposition in elderly subjects. *Brain*, 132 (5), 1310-1323.
- Mucke, L., & Selkoe, D. J. (2012). Neurotoxicity of amyloid β -protein: synaptic and network dysfunction. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2 (7), a006338.

- Mueller, S.G., Schuff, N., Yaffe, K., Madison, C., Miller, B. & Weiner, M.W. (2010). Hippocampal atrophy patterns in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Human Brain Mapping*, 31 (9), 1339-1347.
- Mufson, E.J., Mahady, L., Waters, D., Counts, S.E., Perez, S.E., DeKosky, S.T. & Binder, L.I. (2015). Hippocampal plasticity during the progression of Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 309, 51-67.
- Müller, C. J., Gröticke, I., Bankstahl, M., & Löscher, W. (2009). Behavioral and cognitive alterations, spontaneous seizures, and neuropathology developing after a pilocarpine-induced status epilepticus in C57BL/6 mice. *Experimental Neurology*, 219 (1), 284-297.
- Müller, C.J., Bankstahl, M., Gröticke, I. & Löscher, W. (2009). Pilocarpine vs. lithium-pilocarpine for induction of status epilepticus in mice: Development of spontaneous seizures, behavioral alterations and neuronal damage. *European Journal of Pharmacology*, 619, 15-24.
- Musiek, E. S., Xiong, D. D., & Holtzman, D. M. (2015). Sleep, circadian rhythms, and the pathogenesis of Alzheimer disease. *Experimental & Molecular Medicine*, 47 (3), e148.
- Nagele, R. G., D'Andrea, M. R., Lee, H., Venkataraman, V., & Wang, H. Y. (2003). Astrocytes accumulate A β 42 and give rise to astrocytic amyloid plaques in Alzheimer disease brains. *Brain Research*, 971 (2), 197-209.
- Nargeot, J., Lester, H.A., Birdsall, N.J.M., Stockton, J., Wassermann, N.H. & Erlanger B.F. (1982). A photoisomerizable muscarinic antagonist. Studies of binding and of conductance relaxations in frog heart. *The Rockefeller University Press*, 79, 657-678.
- Näslund, J., Haroutunian, V., Mohs, R., Davis, K.L., Davies, P., Greengard, P. & Buxbaum, J.D. (2000). Correlation between elevated levels of amyloid β -peptide in the brain and cognitive decline. *JAMA*, 238 (12), 1571-1577.
- Nedelska, Z., Ferman, T.J., Boeve, B.F., Przybelski, S.A., Lesnick, T.G., Murray, M.E., Gunter, J.L., Senjem, M.L., Vemuri, P., Smith, G.E., Geda, Y.E., Graff-Radford, J., Knopman, D.S., Peterson, R.C., Parisi, J.E., Dickson, D.W., Jack, C.R. & Kantarci, K. (2015). Pattern of brain atrophy rates in autopsy-confirmed dementia with Lewy bodies. *Neurobiology of Aging*, 36, 452-461.
- Neligan, A. & Shorvon, S.D. (2006). Pathophysiology of status epilepticus: human data. En Panayiotopoulos C.P. (Ed). Atlas of epilepsies (pp. 263-271). Reino Unido: Springer Reference.
- Nhan, H. S., Chiang, K., & Koo, E. H. (2015). The multifaceted nature of amyloid precursor protein and its proteolytic fragments: friends and foes. *Acta Neuropathologica*, 129 (1), 1-19.
- NIA, National Institute of Aging. (2015). About Alzheimer's disease: Mild cognitive impairment. Fecha de recuperación: 20 de mayo de 2016, de la URL: <https://www.nia.nih.gov/alzheimers/topics/mild-cognitive-impairment>
- Nicastro, N., Assal, F. & Seeck, M. (2016). From here to epilepsy: the risk of seizure in patients with Alzheimer's disease. *Epileptic Disorders*, 18 (1), 1-12.
- Nisbet, R. M., Polanco, J. C., Ittner, L. M., & Götz, J. (2015). Tau aggregation and its interplay with amyloid- β . *Acta neuropathologica*, 129 (2), 207-220.
- O'Keefe, J. & Nadel, L. (1978). The hippocampus as a cognitive map. Inglaterra: Oxford University Press.

- O'Sullivan, G.A., Jedlicka, P., Chen, H.X., Kalbouneh, H., Ippolito, A., Deller, T., Nawrotzki, R.A., Kuhse, J., Kalaidzidis, Y.L., Schwarzacher, W.S. & Betz, H. (2016). Forebrain-specific loss of synaptic GABAA receptors results in altered neuronal excitability and synaptic plasticity in mice. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 72, 101-113.
- Organización Mundial de la Salud (2013). Dementia: a public health priority. Washington, D.C.: Organización Mundial de la Salud.
- Organización Mundial de la Salud (2016). Epilepsia. Fecha de recuperación: 24 de enero de 2017, de la URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/es/>
- Organización Mundial de la SaludOMS (2015). Demencia. Fecha de recuperación: 19 de agosto de 2015, de OMS S la URLitio web: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/es/>
- Organización Panamericana de la Salud (2011). Estrategia y plan de acción sobre la epilepsia. Estados Unidos: Organización Panamericana de la Salud.
- Oukoloff, K., Cieslikiewics-Bouet, M., Chao, S., Branquinho, E., Bouteiller, C., Jean, L. & Renard, P.Y. (2015). PET and SPECT radiotracers for Alzheimer's disease. *Current Medicinal Chemistry*, 22, 2378-3304.
- Ow, S.Y., & Dunstan, D.E. (2014). A brief overview of amyloids and Alzheimer's disease. *Protein Science*, 23 (10), 1315-1331.
- Pagani, L. & Eckert, A. (2011). Amyloid-beta interaction with mitochondria. *Int J Alzheimer's Disease*, 15, 1-12.
- Palop, J.J. & Mucke, L. (2009). Epilepsy and cognitive impairments in Alzheimer disease. *Archives of Neurology*. 66 (4), 435-440.
- Palop, J.J. & Mucke, L. (2010). Amyloid- β -induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks. *Nature Neuroscience*, 13 (7), 812-818.
- Palop, J.J. & Mucke, L. (2016). Network abnormalities and interneuron dysfunction in Alzheimer disease. *Nature Neuroscience Reviews*, 17, 777-792.
- Palop, J.J., Chin, J., Roberson, E.D., Wang, J., Thwin, M.T., Bien-Ly, N., Yoo, J., Ho, K.O., Yu, G.Q., Kreitzer, A., Finkbeiner, S., Noebels, J.L. & Mucke, L. ... & Finkbeiner, S. (2007). Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease. *Neuron*, 55 (5), 697-711.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2005). The rat brain in stereotactical coordinates. Estados Unidos: *Academic Press*.
- Pearson, R. C., Esiri, M. M., Hiorns, R. W., Wilcock, G. K., & Powell, T. P. (1985). Anatomical correlates of the distribution of the pathological changes in the neocortex in Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82 (13), 4531-4534.
- Peña, F. & Alavez-Pérez, N. (2006). Epileptiform activity induced by pharmacologic reduction of M-current in the developing hippocampus *in vitro*. *Epilepsia*, 47 (1), 47-54.
- Peña, F., Bargas, J. & Tapia, R. (2002). Paired pulse facilitation is turned into paired pulse depression in hippocampal slices after epilepsy induced by 4-aminopyridine *in vivo*. *Neuropharmacology*, 42, 807-812.

- Peña, F., Gutiérrez-Lerma, A. I., Quiroz-Baez, R., & Arias, C. (2006). The role of β -amyloid protein in synaptic function: implications for Alzheimer's disease therapy. *Current Neuropharmacology*, 4 (2), 149-163.
- Peña-Ortega, F. (2013). Amyloid beta-protein and neural network dysfunction. *Journal of Neurodegenerative Diseases*, 2013.
- Peña-Ortega, F., & Bernal-Pedraza, R. (2012). Amyloid beta peptide slows down sensory-induced hippocampal oscillations. *International Journal of Peptides*, 2012.
- Perez-Cruz, C., Nolte, M.W., van Gaalen, M.M., Rustay, N.R., Termont, A., Tanghe, A., Kirchhoff, F... & Ebert, U. (2011). Reduced spine density in specific regions of CA1 pyramidal neurons in two transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience*, 31 (10), 3926-3934.
- Phelan, K.D., Shwe, U.T., Williams, D.K., Greenfield, L.J. & Zheng, F. (2015). Pilocarpine-induced status epilepticus in mice: A comparison of spectralanalysis of electroencephalogram and behavioral grading using the Racine scale. *Epilepsy Research*, 117, 90-96.
- Picco, A., Archetti, S., Ferrara, M., Arnaldi, D., Piccini, A., Serrati, C., di Lorenzo, D., Morbelli, S. & Nobili, F. (2011). Seizures can precede cognitive symptoms in late-onset Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 27, 737-742.
- Pitkänen, A. & Engel, J. (2014). Past and present definitions of epileptogenesis and its biomarkers. *Neurotherapeutics*, 11, 231-241.
- Pitkänen, A. & Lukasiuk, K. (2009). Molecular and cellular basis of epileptogenesis in symptomatic epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, 14, 16-25.
- Pitkänen, A., Lukasiuk, K., Dudek, E. & Staley, K. (2015). Epileptogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 5 (10), a022822.
- Platt, B., Drever, B., Koss, D., Stoppelkamp, S., Jyoti, A., Plano, A., Utan, A., Merrick, G., Ryan, D., Melis, V., Wan, H., Mingarelli, M., Porcu, E., Scrocchi, L., Welch, A. & Riedel, G. (2011). Abnormal cognition, sleep, EEG and brain metabolism in a novel knock-in Alzheimer Mouse, PLB1. *PLoS ONE*, 6 (11), e27068.
- Poil, S., de Haan, W., van der Flier, W.M., Mansvelder, H.D., Scheltens, P. & Linkenkaer-Hansen, K. (2013). Integrative EEG biomarkers predict progression to Alzheimer's disease at the MCI stage. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 5 (58), 1, 12.
- Price, J.L., McKeel, D.W., Buckles, V.D., Roe, C.M., Xiong, C., Grundman, M., Hansen, L.A., Peterson, R.C., Parisi, J.E., Dickson, D.W., Smith, C.D. Davis, D.G., Schmitt, F.A., Markesbery, W.R., Kaye, J., Kurlan, R., Hulette, C., Kurland, B.F., Higdon, R., Kukull, W. & Morris, J.C. (2009). Neuropathology of nondemented aging: Presumptive evidence for preclinical Alzheimer disease. *Neuropathology of Aging*, 30, 1026-1036.
- Psarropoulou, C. & Avoli, M. (1996). Developmental features of 4-aminopyridine induced epileptogenesis. *Developmental Brain Research*, 94 (1), 52-59.
- Qi, Z., Wu, X., Wang, Z., Zhang, N., Dong, H., Yao, L., & Li, K. (2010). Impairment and compensation coexist in amnesic MCI default mode network. *Neuroimage*, 50 (1), 48-55.

- Qing, H., He, G., Ly, P.T.T., Fox, C.J., Staufenbiel, M., Cai, F., Zhang, Z., Wei, C.J., Sun, X., Chen, C.H., Zhou, W., Wang, K. & Song, W. (2008). Valproic acid inhibits A β production, neuritic plaque formation, and behavioral deficits in Alzheimer's disease mouse models. *The Journal of Experimental Medicine*, 205 (12), 2781-2789.
- Racine, R.J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 32, 281-294.
- Rao, S.C., Dove, G., Cascino, G.D., & Petersen, R.C. (2009). Recurrent seizures in patients with dementia: frequency, seizure types, and treatment outcome. *Epilepsy & Behavior*, 14 (1), 118-120.
- Rathouská, J., Kubová, H., Mares, P. & Vorlicek, J. (1993). Anticonvulsant activity of flumazenil in rats during ontogenetic development. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 44 (3), 581-586.
- Reddy, D.S. & Kuruba, R. (2013). Experimental models of status epilepticus and neuronal injury for evaluation of therapeutic interventions. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 18284-18318.
- Rektor, I., Kuba, R., & Brázdil, M. (2002). Interictal and ictal EEG activity in the basal ganglia: an SEEG study in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 43 (3), 253-262.
- Riban, V., Bouilleret, V., Pham-Le, P.T., Fritschy, J.M., Marescaux, C & Depaulis, A. (2002). Evolution of hippocampal epileptic activity during the development of hippocampal sclerosis in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*, 112 (1), 101-111.
- Rocha, L.L., López-Meraz, M.L., Niquet, J. & Westerlain, C.G. (2007). Do single seizures cause neuronal death in the human hippocampus? *Epilepsy Currents*, 7 (3), 77-81.
- Rogawski, M.A. (2012). Migraine and epilepsy-Shared mechanisms within the family of episodic disorders. En Noebels, J.L., Avoli, M., Rogawski, M.A., Olsen, R.W. & Delgado-Escueta (eds). *Jasper's Basic Mechanisms of the epilepsies*. Bethesda, National Center for Biotechnology Information.
- Salgado-Puga, K. & Peña-Ortega, F. (2015). Cellular and network mechanisms underlying memory impairment induced by amyloid b protein. *Protein and Peptide Letters*, 22 (4), 303-321.
- Salgado-Puga, K., Prado-Alcalá, R.A. & Peña-Ortega, F. (2015). Amyloid β enhances typical rodent behavior while it impairs contextual memory consolidation. *Behavioral Neurology*, 2015, 526912.
- Sanchez, P.E., Zhu, L., Veret, L., Vossel, K.A., Orr, A.G., Cirrito, J.R., Devidze, N., Ho, K., Yu, G.Q., Palop, J.J. & Mucke, L. (2012). Levetiracetam suppresses neuronal network dysfunction and reverses synaptic and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model. *PNAS*, 109 (42), E2895-903.
- Sánchez-Álvarez, J.C., Ramos-Lizana, J.R., Machado-Casas, I.S., Serrano-Castro, P.J., Martínez-Antón, J.L. & Ruiz-Giménez, J. (2015). Tratamiento combinado con fármacos antiepilépticos. Guía Andaluza de Epilepsia 2015. *Revista de Neurología*, 60 (8), 365-379.

- Sánchez-de Machado, L.M., Rubano-Martínez, M.C., García-Caamiña, J.D., Cantero-Arias, C.R., Gárate-Delgado, L.M. & Florentín-Ocampo, B.R. (2007). Factores de comportamiento y déficit sensoriales identificatorios como predictores de la demencia tipo Alzheimer. *Revista de Neurología*, 4 (4), 198-202.
- Santana-Gómez, C.E., Alcántara-González, D., Luna-Munguia, H., Bañuelos-Cabrera, I., Magdaleno-Madrugal, V., Tamayo, M., Rocha, L.L. & Besio, W.G. (2015). Transcranial focal electrical stimulation reduces seizure activity and hippocampal glutamate release during status epilepticus. *Conference Proceedings of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 6586-5689.
- Scarmeas, N., Honig, L.S., Choi, H., Cantero, J., Brandt, J., Blacker, D., Albert, M., Amatriek, J.C., Marder, K., Bell, K., Hauser, W.A. & Stern, Y. ... & Hauser, W. A. (2009). Seizures in Alzheimer disease: who, when, and how common?. *Archives of Neurology*, 66 (8), 992-997.
- Scharfman, H.E. (2012). Alzheimer's disease and epilepsy: insight from animal models. *Future Neurology*, 7 (2), 177-192.
- Scheff, S.W., Price, D. A., Ansari, M. A., Roberts, K. N., Schmitt, F. A., Ikonovic, M. D., & Mufson, E. J. (2015). Synaptic change in the posterior cingulate gyrus in the progression of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 43 (3), 1073-1090.
- Scheff, S.W., Price, D.A., Schmitt, F.A., Scheff, M.A. & Mufson, E.J. (2011). Synaptic loss in the inferior temporal gyrus in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Journal of Alzheimer Disease*, 24 (3), 547-557.
- Schneider, F., Baldauf, K., Wetzel, W. & Reymann, K.G. (2014). Behavioral and EEG changes in male 5xFAD mice. *Physiology and Behavior*, 135, 25-33.
- Schreiber, J.M., Lanham, D.C., Trescher, W.H., Sparks, S.E., Wassif, C.A., Caffo, B.S., Porter, F.D., Tierney, E., Gropman, A.L. & Ewen, J.B. (2014). Variations in EEG discharges predict ADHD severity within individual Smith-Lemli-Opitz patients. *American Academy of Neurology*, 83 (8), 151-159.
- Schubert, D. & Behl, C. (1993). The expression of amyloid beta protein precursor protects nerve cells from β -amyloid and glutamate toxicity and alters their interaction with the extracellular matrix. *Brain Research*, 629, 275-282.
- Scott, L., Kiss, T., Kawabe, T.T. & Hajós, M. (2016). Neuronal network activity in the hippocampus of tau transgenic (Tg4510) mice. *Neurobiology of Aging*, 37, 66-73.
- Scuteri, A., Nilsson, P. M., Tzourio, C., Redon, J., & Laurent, S. (2011). Microvascular brain damage with aging and hypertension: pathophysiological consideration and clinical implications. *Journal of Hypertension*, 29 (8), 1469-1477.
- Selkoe, D. J., & Podlisny, M. B. (2002). Deciphering the genetic basis of Alzheimer's disease. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 3 (1), 67-99.
- Selkoe, D.J. & Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Molecular Medicine*, 29, 1-14.
- Sendrowski, K. & Sobaniex, W. (2013). Hippocampus, hippocampal sclerosis and epilepsy. *Pharmacological Reports*, 65, 555-565.

- Sherzai, D., Losey, T., Vega, S., & Sherzai, A. (2014). Seizures and dementia in the elderly: Nationwide Inpatient Sample 1999–2008. *Epilepsy & Behavior*, 36, 53-56.
- Shi, J.Q., Wang, B.R., Tian, Y.Y., Xu, J., Gao, L., Zhao, S.L., Jiang, T., Xie, H.G. & Zhang, Y.D. (2013). Antiepileptics topiramate and levetiracetam alleviate behavioral deficits and reduce neuropathology in APP^{swe}/PS1^{dE9} transgenic mice. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 16, 871-881.
- Shipton, O.A., Leitz, J.R., Dworzak, J., Acton, C.E.J., Tunbridge, E.M., Denk, F., Dawson, H.N., Vitek, M., Wade-Martins, R., Paulsen, O. & Vargas-Caballero, M. (2011). Tau protein is required for amyloid β -induced impairment of hippocampal long-term potentiation. *Journal of Neuroscience*, 31 (5), 1688-1692.
- Shiri, Z., Manseau, F., Lévesque, M., Williams, S. & Avoli, M. (2015). Interneuron activity leads to initiation of low-voltage fast-onset seizures. *Annals of Neurology*, 77 (3), 541-546.
- Sivaraaman, K., & Vajjala, V. S. (2015). Seizures in setting of dementia. *Current Treatment Options in Neurology*, 17(4), 1-13.
- Siwek, M. E., Müller, R., Henseler, C., Trog, A., Lundt, A., Wormuth, C., Broich, K., Ehninger, D., Weiergräber, M. ... & Papazoglou, A. (2015). Altered theta oscillations and aberrant cortical excitatory activity in the 5XFAD model of alzheimer's disease. *Neural Plasticity*, 2015, 781731.
- Smeal, R.M., Stewart, K.A., Iacob, E., Fujinami, R.S., White, H.S., Wilcox, K.S. (2012). The activity within the CA3 excitatory network during Theiler's virus encephalitis is distinct from that observed during chronic epilepsy. *Journal of NeuroVirology*, 18 (1), 30-44.
- Smith, P.D., McLean, J.K., Murphy, M.A., Turnley, A.M. & Cook, M.J. (2005). Seizures, not hippocampal neuronal death, provoke neurogenesis in a mouse rapid electrical amygdala kindling model of seizures. *Neuroscience*, 136, 405-415.
- Soukupova, M., Binaschi, A., Falcicchia, C., Palma, E., Roncon, P., Zucchini, S. & Simonato, M. (2015). Increased extracellular levels of glutamate in the hippocampus of chronically epileptic rats. *Neuroscience*, 301, 246-253.
- Sperling, R., & Johnson, K. (2013). Biomarkers of Alzheimer disease: current and future applications to diagnostic criteria. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 19 (2), 325-338.
- Sperling, R.A., Aisen, P.S., Beckett, L.A., Bennett, D.A., Craft, S., Fagan, A.M., ... Phelps, C.H. (2011). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 7 (3), 280–292.
- Sperling, R.A., Dickerson, B.C., Pihlajamaki, M., Vannini, P., LaViolette, P.S., Vitolo, O.V., Hedden, T., Becker, J.A., Rentz, D.M., Selkoe, D.J. ... & Johnson, K.A. (2010). Functional alterations in memory networks in early Alzheimer's disease. *Neuromolecular Medicine*, 12 (1), 27-43.

- Steriade, C., Mirsattari, S.M., Murray, B.J. & Wennberg, R. (2016). Subclinical temporal EEG seizure pattern in LGII-antibody-mediated encephalitis. *Epilepsia*, 57 (8), e155-e160.
- Tamagnini, F., Novelia, J., Kerrigan, T.L., Brown, J.T., Tsaneva-Atanasova, K. & Randall, A.D. (2015). Altered intrinsic excitability of hippocampal CA1 pyramidal neurons in aged PDAPP mice. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 372 (9), 1-14.
- Tanaka, A., Akamatsu, N., Shouzaki, T., Toyota, T., Yamano, M., Nakagawa, M. & Tsuji, S. (2013). Clinical characteristics and treatment responses in new-onset epilepsy in the elderly. *Seizure*, 22, 772-775.
- Téllez-Zenteno, J.F. & Ladino, L.D. (2013). Epilepsia temporal: aspectos clínicos, diagnósticos y de tratamiento.
- Tiesinga, P.H., Fellous, J.M., José, J.V. & Sejnowski, T.J. (2001). Computational model of carbachol-induced delta, theta, and gamma oscillations in the hippocampus. *Hippocampus*, 11 (3), 251-274.
- Trinka, E., Brigo, F., & Shorvon, S. (2016). Recent advances in status epilepticus. *Current Opinion in Neurology*, 29 (2), 189-198.
- Trinka, E., Cock, H., Hesdorffer, D., Rossetti, A.O., Scheffer, I.E., Shinnar, S., Shorvon, S. & Lowenstein, D.H. (2015). A definition and classification of status epilepticus – Report of the ILAE Task Force on Classification of Status Epilepticus. *Epilepsia*, 56 (10), 1515-1523.
- Tse, K., Puttachary, S., Beamer, E., Sills, G. & Thippeswamy, T. (2014). Advantages of repeated low dose against single high dose of kainite in C57BL/6J mouse model of status epilepticus: behavioral and electroencephalographic studies. *PLOS One*, 9 (5), 1-12.
- Tu, S., Okamoto, S.I., Lipton, S.A., & Xu, H. (2014). Oligomeric Abeta-induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 9, 48.
- Turski, L., Ikonomidou, C., Turski, W.A., Bortolotto, Z.A. & Cavalheiro, E.A. (1989). Review: cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizure induced by pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy. *Synapse*, 3 (2), 154-171.
- Turski, W. A., Cavalheiro, E. A., Schwarz, M., Czuczwar, S. J., Kleinrok, Z., & Turski, L. (1983). Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behavioural Brain Research*, 9 (3), 315-335.
- Turski, W.A., Cavalheiro, E.A., Bortolotto, Z.A., Mello, L.M., Schwarz, M., & Turski, L. (1984). Seizures produced by pilocarpine in mice: a behavioral, electroencephalographic and morphological analysis. *Brain Research*, 321 (2), 237-253.
- Ulrich, D. (2015). Amyloid- β impairs synaptic inhibition via GABA_A receptor endocytosis. *The Journal of Neuroscience*, 35 (24), 9205-9210.
- Underwood, E. (2017). The polluted brain. *Science*, 6323 (355), 342-345.
- Urrestarazu, E. & Iriarte, J. (2005). Análisis matemáticos en el estudio de señales electroencefalográficas. *Revista de Neurología*, 41 (7), 423-434.

- Urrestarazu, E., Jirsch, J.D., LeVan, P. & Hall, J. (2006). High-frequency intracerebral EEG activity (100-500 Hz) following interictal spikes. *Epilepsia*, 47 (9), 1465-1476.
- Valle-Dorado, M. G., Santana-Gómez, C. E., Orozco-Suárez, S. A., & Rocha, L. (2015). The mast cell stabilizer sodium cromoglycate reduces histamine release and status epilepticus-induced neuronal damage in the rat hippocampus. *Neuropharmacology*, 92, 49-55.
- Van Wieringen, A., Binnie, C.D., De Boer, P.T.E., Van Emde Boas, W., Overweg, O. & De Vries, J. (1987). *Epilepsy Research*, 1, 3-15.
- Velisek, L. (2006). Models of chemically-induced acute seizures. En Pitkänen, A., Schwartzkroin, P.A. & Moshé, S.L. (Eds.). *Models of Seizures and Epilepsy* (pp. 127-152). Estados Unidos: Elsevier Academic Press.
- Velísek, L., Kubova, H., Pohl, M., Stankova, L., Mares, P. & Schickerova, R. (1992). Pentylentetrazol-induced seizures in rats: an ontogenetic study. *Archives of Pharmacology*, 346, 588-591.
- Verdaguer, E., Brox, S., Petrov, D., Olloquequi, J., Romero, R., de Lemos, M.L., Camins, A. & Auladell, C. (2015). Vulnerability of calbindin, calretinin and parvalbumin in a transgenic/knock-in APPswe/PS1dE9 mouse model of Alzheimer disease together with disruption of hippocampal neurogenesis. *Experimental Gerontology*, 69, 176-188.
- Verhaert, K., & Scott, R. C. (2010). Acute symptomatic epileptic seizures. En Panayiotopoulos C.P. (Ed). *Atlas of Epilepsies* (pp. 69-78). Reino Unido: Springer Reference.
- Vermeiren, Y., Le Bastard, N., Van Hemelrijck, A., Drinkenburg, W.H., Engelborghs, S. & De Deyn, P. (2013). Behavioral correlates of cerebrospinal fluid aminoacid and biogenic amine neurotransmitter alterations in dementia. *Alzheimer's & Dementia*, 9: 488-498.
- Verret, L., Mann, E. O., Hang, G. B., Barth, A. M., Cobos, I., Ho, K., Devidze, N., Masliah, E., Kreitzer, A.C., Mody, I.,... & Mucke, L. & Palop, J.J. (2012). Inhibitory interneuron deficit links altered network activity and cognitive dysfunction in Alzheimer model. *Cell*, 149 (3), 708-721.
- Volcy-Gómez, M. (2004). Epilepsia del lóbulo temporal mesial: fisiopatología, características clínicas, tratamiento y pronóstico. *Revista de Neurología*, 38, 663-667.
- Volicer, L., Smith, S., & Volicer, B. J. (1995). Effect of seizures on progression of dementia of the Alzheimer type. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 6 (5), 258-263.
- Vossel, K. A., Beagle, A. J., Rabinovici, G. D., Shu, H., Lee, S. E., Naasan, G., Hedge, M., Cornes, S.B., Henry, M.L., Nelson, A.B., Seeley, W.W., Geschwind, M.D., Gorno-Tempini, M.L., Shih, T., Kirsch, H.E., Garcia, P.A., Miller, B.L. & ... Mucke, L. & Seeley, W. W. (2013). Seizures and epileptiform activity in the early stages of Alzheimer disease. *JAMA neurology*, 70 (9), 1158-1166.
- Voutsinos-Porche, B., Koning, E., Kaplan, H., Ferrandon, A., Guenounou, M., Behlig, A. & Mmotte, J. (2004). Temporal patterns of the cerebral inflammatory response in the rat lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Neurobiology of Disease*, 17, 385-402.

- Walker, D.G., Lue, L.F. & Beach, T.G. (2001). Gene expression profiling of amyloid beta peptide-stimulated human post-mortem brain microglia. *Neurobiology of Aging*, 22, 957-966.
- Walker, L.C. (1997). Animal models of cerebral β -amyloid angiopathy. *Brain Research Reviews*, 25, 70-84.
- Walsh, D.M., Klyubin, I., Fadeeva, J.V., Cullen, W.K., Anwyl, R., Wolfe, M.S., Rowan, M.J.... & Selkoe, D.J. (2002). Naturally secreted oligomers of amyloid β protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature*, 416 (6880), 535-539.
- Wang, C., Hung, C.P., Chen, M., Shih, Y. & Lin, Y. (2012). Hippocampal desynchronization of functional connectivity prior to the onset of status epilepticus in pilocarpine-treated rats, *PLoS ONE*, 7 (6), e39763.
- Wang, H., Lu, Y. & Chen, H.Z. (2003). Differentiating effects of anisodamine on cognitive amelioration and peripheral muscarinic side effects induced by pilocarpine in mice. *Neuroscience Letters*, 344, 173-176.
- Wang, J., Ikonen, S., Gurevicius, K., van Groen, T., & Tanila, H. (2002). Alteration of cortical EEG in mice carrying mutated human APP transgene. *Brain Research*, 943 (2), 181-190.
- Wang, L., Li, H., Liang, Y., Zhang, J., Li, Z., Shu, N., Wang, Y.Y. & Zhang, Z. (2013). Amnesic mild cognitive impairment: Topological reorganization of the default-mode network. *Radiology*, 268 (2), 501-514.
- Wang, X., Zhang, X.G., Zhou, T.T., Li, N., Jang, C.Y., Xiao, Z.C., Ma, Q.H. & Li, S. (2016). Elevated neuronal excitability due to modulation of the voltage-gated sodium channel Nav1.6 by $A\beta_{1-42}$. *Frontiers in Neuroscience*, 9, 1-9.
- Weeson, D.W., Borkowski, A.H., Landreth, G.E., Nixon, R.A., Levy, E. & Wilson, D.A. (2011b). Sensory network dysfunction, behavioral impairments, and their reversibility in an Alzheimer's β -amyloidosis mouse model. *J Neurosci*, 31 (44), 15962-15971.
- Weeson, D.W., Nixon, R.A., Levy, E., & Wilson, D.A. (2011). Mechanisms of neural and behavioral dysfunction in Alzheimer's disease. *Molecular Neurobiology*, 43 (3), 163-179.
- Weinberg, M.S., Blake, B.L. & McCown, T.J. (2013). Opposing actions of hippocampus TNF α receptors on limbic seizure susceptibility. *Experimental Neurology*, 247, 429-437.
- Westmark, C. J., Westmark, P. R., Beard, A. M., Hildebrandt, S. M., & Malter, J. S. (2008). Seizure susceptibility and mortality in mice that over-express amyloid precursor protein. *Int J Clin Exp Pathol*, 1 (2), 157-168.
- Whittington, M.A., Traub, R.D. & Jefferys, G.R. (1995). Erosion of inhibition contributes to the progression of low magnesium burst in a rat hippocampal slices. *Journal of Physiology*, 486 (3), 723-734.
- Williams, P., White, A.M., Clark, S., Ferraro, D.J., Swiercz, W., Staley, K.J. & Dudek, F.E. (2009). Development of spontaneous recurrent seizures after kainite-induced status epilepticus. *The Journal of Neuroscience*, 29 (7), 2103-2112.
- Wood, H. (2016). Biomarkers of AD risk-the end of the road for plasma amyloid- β ? *Nature Reviews Neurology*, 12 (11), 613.

- Wu, H., Lu, M.H., Wang, W., Zhang, M.Y., Zhu, Q.Q., Xia, Y.Y., Xu, R.X., Yang, Y., Chen, L.H. & Ma, Q.H. (2015). Lamotrigine reduces β -site A β PP-cleaving enzyme 1 protein levels through induction of autophagy. *Journal of Alzheimer's Disease*, 46, 863-867.
- Xu, L., He, D., & Bai, Y. (2015). Microglia-Mediated Inflammation and Neurodegenerative Disease. *Molecular Neurobiology*, 1-7.
- Yan, X.X., Cai, Y., Shelton, J., Deng, S.H., Luo, X.G., Oddo, S., Laferla, F.M., Cai, H., Rose, G.M... & Patrylo, P.R. (2012). Chronic temporal lobe epilepsy is associated with enhanced Alzheimer-like neuropathology in 3xTg-AD mice. *PloS one*, 7 (11), e48782.
- Yan, X.X., Cai, Y., Zhang, X.M., Luo, X.G., Cai, H., Rose, G.M & Patrylo, P.R. (2012b). BACE1 elevation is associated with aberrant limbic axonal sprouting in epileptic CD1 mice. *Experimental Neurology*, 235 (1), 228-237.
- Zavala-Tecuapetla, C., & López-Meraz, M. L. (2011). Modelos experimentales de epilepsia en ratas en desarrollo. *Neurobiología*, 2 (4), 1-16.
- Zhang, M.Y., Zheng, C.Y., Zou, M.M., Zhu, J.W., Zhang, Y., Wang, J., Liu, C.F., Li, Q.F., Xiao, Z.C., Li, S., Ma, Q.H. & Xu, R.X. (2014). Lamotrigine attenuates déficits in synaptic plasticity and accumulation of amyloid plaques in APP/PS1 transgenic mice. *Neurobiology of Aging*, 35, 2713-2725.
- Zheng, H., & Koo, E. H. (2011). Biology and pathophysiology of the amyloid precursor protein. *Mol Neurodegener*, 6 (1), 27.
- Ziyatdinova, S., Gurevicius, K., Kutchiashvili, N., Bolkvadze, T., Nissinen, J., Tanila, H., & Pitkänen, A. (2011). Spontaneous epileptiform discharges in a mouse model of Alzheimer's disease are suppressed by antiepileptic drugs that block sodium channels. *Epilepsy Research*, 94 (1), 75-85.
- Ziyatdinova, S., Viswanathan, J., Hiltunen, M., Tanila, H. & Pitkänen, A. (2015). Reduction of epileptiform activity by valproic acid in a mouse model of Alzheimer's disease is not long-lasting after treatment discontinuation. *Epilepsy Research*, 112, 43-55.
- Zuroff, L., Daley, D., Black, K.L. & Koronyo-Hamaouil, M. (2017). Clearance of cerebral A β in Alzheimer's disease: reassessing the role of microglia and monocytes. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74 (12), 2167-2201.