



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

EFFECTOS DEL PÉPTIDO AMILOIDE BETA SOBRE LA TRANSMISIÓN
SINÁPTICA Y SU PLASTICIDAD DE LA CONEXIÓN ENTRE EL
HIPOCAMPO Y LA CORTEZA PREFRONTAL MEDIA Y SU IMPACTO
EN LA MEMORIA DE TRABAJO

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:
MAYRA ITZEL TORRES FLORES

TUTOR PRINCIPAL:
DR. JOSÉ FERNANDO PEÑA ORTEGA
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA
COMITÉ TUTOR
DRA. CLAUDIA GOMEZ ACEVEDO
FACULTAD DE MEDICINA
DR. PAVEL RUEDA OROZCO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

CIUDAD DE MÉXICO, MAYO 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Esta tesis fue realizada en el Instituto de Neurobiología de la Universidad Autónoma de México, Campus Juriquilla, en el laboratorio C-01 Circuitos Neuronales a cargo del Dr. Fernando Peña Ortega, parte del Departamento de Neurobiología del Desarrollo y Neurofisiología.

El desarrollo de esta tesis doctoral contó con el apoyo de una beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología con número de becario 629550.

Se contó con el financiamiento adicional por parte de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM PAPIIT: AG200521, así como del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: A1-S-7540.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto de Neurobiología.

Al Programa de Doctorado de Ciencias Biomédicas.

A mi tutor principal, el Dr. Fernando Peña por su guía y pasión en la formación de nuevos científicos; le agradezco enormemente la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación y fortalecer mi independencia y pensamiento crítico.

Al Dr. Pavel Rueda, miembro de mi comité tutor, por toda la atención que brindo al desarrollo del presente trabajo.

A la Dra. Claudia Gómez Acevedo, miembro de mi comité tutor, quien me ha acompañado desde el inicio de este camino científico, cuyo apoyo y crítica constructiva ha permitido mi evolución como investigadora. Espero siempre poderla hacer sentir orgullosa.

A los integrantes del jurado de examen de grado, Dra. Martha Escobar, Dra. Clorinda Arias, Dra. Esther Olvera y Dr. Francisco Sotres, por todas las observaciones y el tiempo invertido para mejorar la presente investigación.

Al Dr. Benito Ordaz, por todo el apoyo técnico para la realización del presente trabajo. Así como todos los consejos y la amistad brindada. El laboratorio, no podría funcionar sin todo el trabajo que usted realiza.

A la Dra. Rebeca Corona, por todos los consejos y experiencia brindada.

A la Dra. Deisy Gasca y a la Unidad de Conducta del Instituto de Neurobiología, por proveer todas las facilidades para la realización y análisis de los experimentos conductuales.

A Nydia Ríos, por el apoyo de la Unidad de Microscopia del Instituto de Neurobiología

Al Dr. Martín García y a la Dra. Alejandra Castilla León, por el suministro, manejo y cuidado de los animales de experimentación

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis padres Olivia Flores y Martin Torres; así como a mi hermano Ángel Torres, a quienes les debo todo, por sostenerme siempre que lo necesite, por jamás dejarme claudicar y permitirme amarlos y acompañarlos de vuelta.

A mis abuelas; Helena Gallardo y Margarita González, cuyo recuerdo, ejemplo y amor me acompaña todos los días.

A mis tías Alma, Dulce y Gabriela Flores, por sus consejos y compañía permanente.

A Hugo y Josefina Chávez, por ser mis no padrinos mágicos que siempre me permiten y me empujan a ser lo que soy.

A Carlos Montalvo, por recibirme en el laboratorio y dejarme ser parte de su vida. Así como a mis compañeros del laboratorio; Polet, Jonathan, Lorena y Laura, sus comentarios y recomendaciones enriquecieron tanto el proyecto y como mi formación durante el doctorado.

A mis amigos; Luis, Aarón, Diana, Lis, Manuel, Gabriel, Alejandra y Ana, su amistad incondicional me brindo un espacio para dudar y encontrar las respuestas que estaba buscando.

A Pamela García, por ser una fuente de inspiración, por proveerme de una nueva casa (física y emocional). Tu escucha, compañía y consejos, fueron fundamentales para llevar a buen puerto algo más que esta tesis.

A Laura Nava, quien en el momento más crudo de la pandemia apareció como un gran huracán naranja. Agradezco al mundo por habernos cruzado.

Y especialmente a Felipe Méndez, por la gran aventura y salto de fe con el que comenzó todo, por la aventura que vivimos formando este espacio que ahora llamamos hogar, y por las muchas aventuras que vendrán.

"[Las neuronas son] células de formas delicadas y elegantes, las misteriosas mariposas del alma, cuyo batir de alas quién sabe si esclarecerá algún día el secreto de la vida mental."

Santiago Ramón y Cajal

"Sobre todo no tema a los momentos difíciles, lo mejor viene de ellos"

"Tras siglos de letargo, ahora las mujeres jóvenes pueden dirigir la vista a un futuro moldeado por sus propias manos."

Rita Levi-Motalcini

"Courage was not a given; it was acquired, earned."

Cornelia Funke,

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
1 ANTECEDENTES	1
1.1 La Enfermedad de Alzheimer	1
1.1.1 El péptido A β	2
1.1.2 Efecto del péptido A β_{1-42} sobre la actividad eléctrica cerebral	4
1.2 Corteza prefrontal media.....	8
1.2.1 Conexión hipocampo- corteza prefrontal.....	14
1.2.2 Características de la conexión HP-PFCm	16
1.2.3 Funcionalidad de la vía HP-PFCm	19
1.3 Enfermedad de Alzheimer y la conexión HP-PFC	24
2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	28
3 OBJETIVO GENERAL	29
3.1 Objetivos específicos	29
4 HIPÓTESIS	29
5 MATERIALES Y MÉTODOS	30
5.1 Animales	30
5.2 Administración del A β_{1-42}	30
5.3 Inmunofluorescencia	32
5.4 Paradigmas conductuales para la evaluación de la MT y la FC.....	32
5.4.1 Laberinto en Figura de 8	32
5.4.2 Laberinto modificado en T	35
5.4.3 Evitación pasiva	37
5.5 Obtención de las rebanas de PFCm que incluyen la entrada del HP	37
5.6 Registro de células con la técnica de Patch Clamp	38
5.7 Análisis de datos	40
5.7.1 Análisis de la conducta	40
5.7.2 Análisis de los registros electrofisiológicos.....	40
5.8 Estadística	41

6	RESULTADOS	43
6.1	Acumulación del A β ₁₋₄₂ tras su infusión	43
6.2	Efecto de la infusión global y local del A β ₁₋₄₂ en el aprendizaje y la memoria contextuales	44
6.3	Efecto de la inyección global del A β ₁₋₄₂ sobre la MT, la FC y la actividad eléctrica de la PFCm	46
6.3.1	La infusión del A β ₁₋₄₂ disminuye la MT y la FC	46
6.3.2	La infusión global del A β ₁₋₄₂ afecta la excitabilidad de la PFCm	55
6.3.3	El A β ₁₋₄₂ global incrementa la actividad sináptica espontánea	57
6.3.4	La inyección global del A β ₁₋₄₂ no genera modificaciones de la actividad sináptica de corto plazo, pero bloquea la LTP	60
6.4	Efecto de la inyección local (intra-PFCm) del A β ₁₋₄₂ sobre la MT y la actividad eléctrica de la PFCm	64
6.4.1	La inyección local del A β ₁₋₄₂ bloquea la MT	64
6.4.2	La infusión local del A β induce hiperexcitabilidad de las neuronas piramidales de la capa V de la PFCm	65
6.4.3	El A β ₁₋₄₂ local no genera cambios en la transmisión sináptica basal o en la STP, pero bloquea el mantenimiento de la LTP	68
7	DISCUSIÓN	73
8	CONCLUSIONES	88
9	PERSPECTIVAS	89
10	BIBLIOGRAFÍA	90
11	ANEXO	115
11.1	<i>Amyloid Beta Alters Prefrontal-dependent Functions Along with its Excitability and Synaptic Plasticity in Male Rats</i>	115

LISTA DE ABREVIATURAS

ACg	Área del cíngulo anterior (por sus siglas en inglés)
AHP	Postpotencial hiperpolarizante (por sus siglas en inglés)
AHPf	Postpotencial hiperpolarizante rápido (por sus siglas en inglés)
AHPs	Postpotencial hiperpolarizante lento (por sus siglas en inglés)
AICD	Dominio intracelular de la proteína precursora amiloide (por sus siglas en inglés)
AID	Región o corteza dorsal agranular (por sus siglas en inglés)
AIV	Región o corteza ventral agranular (por sus siglas en inglés)
AMPA	Acido- α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
AOM	Núcleo olfatorio medial anterior
AOV	Núcleo olfatorio ventral
APP	Proteína precursora de amiloide (por sus siglas en inglés)
Aβ	Péptido beta amiloide
BAM-10	Anticuerpo monoclonal de ratón contra el A β
CCK	Colecistoquinina (por sus siglas en inglés)
CT	Fibras cortico-talámicas
Dil	1'-Dioctadecil-3,3,3'- tetrametilindocarbocianina perclorato
EA	Enfermedad de Alzheimer
EPSC	Corriente postsináptica excitadora (por sus siglas en inglés)
EPSP	Potencial postsináptico excitador (por sus siglas en inglés)
FC	Flexibilidad cognitiva
HCN	Canales hiperpolarizantes activados por nucleótidos cíclicos (por sus siglas en inglés)
HFS	Estimulación de alta frecuencia (<i>High frequency stimulation</i>)
HP	Hipocampo
HPd	Hipocampo dorsal
HPv	Hipocampo ventral
ICV	Intracerebroventricular
Ih	Corriente activada por hiperpolarización (por sus siglas en inglés)
IL	Región infralímbica
IPSC	Corriente postsináptica inhibitoria
IPSP	Potencial postsináptico inhibitorio
IT	Fibras intratelencefálicas
ITI	Intervalos entre ensayos (por sus siglas en inglés)
LCRA	Líquido cefalorraquídeo artificial
LO	Región o corteza lateral orbital
LTD	Depresión a largo plazo (<i>Long term depression</i>)
LTP	Potenciación a largo plazo (<i>Long term potentiation</i>)
mEPSC	Corrientes postsinápticas excitadoras miniatura (por sus siglas en inglés)
mGluR5	Receptor metabotrópico de glutamato 5
M1	Corteza o región motora primaria
MO	Región o corteza medial orbital
MS	Igualación a la muestra (<i>matching to sample</i>)

MT	Memoria de trabajo
NAcc	Núcleo accumbens
NDNF	Factor neurotrófico neuronal (por sus siglas en inglés)
NMDA	N-metil-D-aspartato
NMS	No igualación a la muestra (<i>Non matching to sample</i>)
PA	Potenciales de acción
PBS	Buffer de fosfatos (por sus siglas en inglés)
PFA	Paraformaldehído
PFC	Corteza prefrontal (<i>Prefrontal cortex</i>)
PFCdm	Corteza prefrontal dorsomedial (por sus siglas en inglés)
PFCI	Corteza prefrontal lateral (por sus siglas en inglés)
PFCm	Corteza prefrontal media (por sus siglas en inglés)
PFCv	Corteza prefrontal ventral (por sus siglas en inglés)
PFCvm	Corteza prefrontal ventromedial (por sus siglas en inglés)
PIP2	Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato
PrC	Región o corteza precentral (por sus siglas en inglés)
PrL	Corteza o área prelímbica
PrP^c	Proteínas celulares priónica (por sus siglas en inglés)
PT	Tracto piramidal
PV	Parvoalbumina
RC	Respuestas correctas
RMP	Potencial de membrana en reposo (por sus siglas en inglés)
Rn	Resistencia de entrada (por sus siglas en inglés)
sAPPα	Fragmento N-terminal soluble α de la APP (por sus siglas en inglés)
sAPPβ	Fragmento N-terminal soluble β de la APP (por sus siglas en inglés)
SOM	Somatostatina
sPSC	Corrientes postsinápticas espontaneas (por sus siglas en inglés)
sPSCs	Corrientes postsinápticas espontaneas (por sus siglas en inglés)
STP	Plasticidad de corto plazo (<i>short term plasticity</i>)
VIP	Péptido vasoactivo intestinal (por sus siglas en inglés)
VLO	Región o corteza lateral ventral orbital (por sus siglas en inglés)
VO	Región o corteza orbital ventral (por sus siglas en inglés)

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Marcadores histopatológicos de la EA.	2
Fig. 2. Procesamiento de la APP.	4
Fig. 3. Comparación anatómica de la PFCm del humano y la rata.	9
Fig. 4. Esquema coronal unilateral representativo de la corteza prefrontal.	10
Fig. 5. Esquema representativo de las capas de la corteza prefrontal.	14
Fig. 6. Conexión HP-PFCm	15
Fig. 7. Pruebas conductuales para evaluar a la MT y la FC.....	23
Fig. 8. Protocolo experimental.	31
Fig. 9. Laberinto en Figura de 8	33
Fig. 10. Laberinto modificado en T.	36
Fig. 11. Verificación histológica del sitio de inyección y acumulación del A β	44
Fig. 12. Efecto de la infusión del A β sobre el aprendizaje y la memoria contextual.	45
Fig. 13. Aprendizaje de la regla de NMS en el laberinto en Figura de 8 y evaluación de la MT.	47
Fig. 14. El A β global reduce el aprendizaje y la MT en el laberinto en Figura de 8.	48
Fig. 15. El A β global reduce la MT del laberinto en Figura de 8 previamente aprendido y la FC	50
Fig. 16. El A β global (ICV) reduce el aprendizaje del laberinto modificado en T.	52
Fig. 17. La inyección del A β_{1-42} global reduce el desempeño en el laberinto modificado en T.	54
Fig. 19. Propiedades pasivas de las células piramidales de la capa V de la PFCm tras la aplicación del A β global.	56
Fig. 20. El A β global aumenta la frecuencia de disparo	58
Fig. 21. El A β global incrementa la amplitud y frecuencia de las sPSCs.	59
Fig. 22. El A β global no modifica los EPSCs de las neuronas de la capa V de la PFCm.....	61
Fig. 23. El A β global no afecta a la STP de neuronas de la capa V de la PFCm.	62
Fig. 24. El A β global bloquea la LTP de las células piramidales de la capa V de la PFCm e induce LTD.	63
Fig. 25. El A β local reduce la MT evaluada en el laberinto en Figura de 8 previamente aprendido	64
Fig. 26. Propiedades pasivas de las células piramidales de la capa V la PFCm en presencia del A β local.....	66
Fig. 27. El A β local aumenta la frecuencia de disparo e induce cambios en el AHP y en la adaptación del disparo.	67
Fig. 28. El A β local no modifica las sPSCs de las células piramidales de la capa V de la PFCm.	69
Fig. 29. El A β local no modifica a los EPSCs de las neuronas de la capa V de la PFCm.	70
Fig. 30. El A β local no afecta a la STP de neuronas de la capa V de la PFCm.....	71
Fig. 31. El A β local bloquea la LTP de las células piramidales de la capa V de la PFCm e induce LTD.	72

RESUMEN

Las funciones relacionadas con la corteza prefrontal (PFC, por sus siglas en inglés), incluidas la memoria de trabajo (MT) y la flexibilidad cognitiva (FC), se encuentran entre las primeras funciones cerebrales que se alteran en las fases tempranas de la Enfermedad de Alzheimer (EA). Asimismo, los modelos transgénicos de la EA, que son portadores de diferentes mutaciones relacionadas con la EA, en su mayoría están vinculadas a la sobreproducción de beta amiloide ($A\beta$) y otros péptidos, muestran síntomas conductuales y funcionales prematuros asociados a alteraciones de la PFC medial (PFCm). Sin embargo, poco se sabe acerca de los efectos específicos de la infusión intracerebral o intra-PFCm del $A\beta$ en la MT y FC, así como en la excitabilidad y plasticidad de las células piramidales de la PFCm. Por lo tanto, aquí se evaluaron los efectos de una sola inyección del $A\beta$, directamente en la PFCm, o su aplicación intracerebroventricular (ICV), en las conductas dependientes de la PFCm y en las propiedades intrínsecas y sinápticas de las neuronas piramidales de la capa V en rebanadas de PFCm. Encontramos que una sola infusión ICV o intra-PFCm del $A\beta$ redujo el aprendizaje y el desempeño en tareas de no igualdad y de igualdad a la muestra con retraso (asociadas a la MT); además de bloquear la FC varias semanas después de su inyección. De hecho, la reducción en la MT fue más acentuada en el caso de la infusión del $A\beta$ en la PFCm, misma que se asoció con la acumulación del $A\beta$. Esta alteración del comportamiento se relacionó con un aumento en la frecuencia de disparo de las neuronas piramidales de la capa V de la PFCm, un mayor potencial *sag*, un aumento del potencial post-hiperpolarizante rápido, un aumento de la actividad sináptica excitadora espontánea y una incapacidad para mantener la potenciación sináptica a largo plazo, que incluso condujo a la depresión a largo plazo, tanto en la vía hipocampal-PFC como en las sinapsis intracorticales, sin importar el sitio de inyección. Estos hallazgos muestran que el $A\beta$ puede afectar a la excitabilidad de la PFCm y el equilibrio de la plasticidad sináptica, dañando las funciones dependientes de la PFCm, lo que podría constituir la base de las alteraciones tempranas de las funciones ejecutivas en pacientes con la EA.

ABSTRACT

Prefrontal cortex (PFC)-related functions, such as working memory (WM) and cognitive flexibility (CF), are among the first to be altered at early stages of Alzheimer's disease (AD). Likewise, transgenic AD models carrying different AD-related mutations, mostly linked to the overproduction of amyloid beta ($A\beta$) and other peptides, show premature behavioral and functional symptoms associated with PFC alterations. However, little is known about the specific effects of intracerebral or intra-PFCm infusion of $A\beta$ on WM and CF, as well as on pyramidal cell excitability and plasticity. Thus, here we evaluated the effects of a single $A\beta$ injection, directly into the PFC, or its intracerebroventricular (ICV) application, on PFCm-dependent behaviors and on the intrinsic and synaptic properties of layer V pyramidal neurons in PFC slices. We found that a single ICV or intra-PFCm $A\beta$ infusion reduced learning and performance in non-matching and matching-to-sample tasks with delay (associated with WM); in addition to blocking CF, several weeks after its injection. The reduction in WM was most potently reproduced by a single $A\beta$ infusion into the PFCm, that was associated with $A\beta$ accumulation. This behavioral disruption was associated with increased firing frequency of layer V pyramidal neurons in the PFCm, increased their sag potential, increased rapid after hyperpolarizing potential, increased spontaneous excitatory synaptic activity, and reduced the ability to maintain long-term synaptic potentiation, which even led to long-term depression, both in the hippocampal-PFC pathway and at intracortical synapses, regardless of the injection site. These findings show that $A\beta$ can affect PFC excitability and synaptic plasticity balance, impairing PFC-dependent functions, which could constitute the foundations of the early alterations in executive functions in AD patients.

1 ANTECEDENTES

1.1 *La Enfermedad de Alzheimer*

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es la demencia más diagnosticada a nivel mundial (Minger *et al.*, 2001) y tiene como síntomas principales la pérdida de la memoria y el deterioro progresivo de las funciones cognitivas (Cummings & Cole, 2002). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la EA representa entre un 60% y un 70% del total de los casos de demencia (“OMS | Demencia,” 2017). Actualmente, se estima que 6.5 millones de estadounidenses mayores de 65 años tienen EA y se proyecta que este número se incrementará a 13.8 millones en 2060 (Rajan *et al.*, 2021). La EA es la causa número 6 de muerte en los EUA (“2022 Alzheimer’s Disease Facts and Figures,” 2022) y se considera que la mayoría de los países industrializados enfrentarán problemas similares. En México hay una incidencia de la EA del 7.6% en las personas mayores de 60 años (Zuñiga-Herrera, E.; García, 2008).

La EA cursa con procesos irreversibles y progresivos de degeneración neuronal en el sistema nervioso central (SNC) (Weller & Budson, 2018); que ocurren particularmente en estructuras que se encuentran en el lóbulo temporal medial, como el hipocampo (HP), así como en estructuras neocorticales (Selkoe, 2002).

La EA tiene como marcadores histopatológicos a los ovillos neurofibrilares; los cuales son agregados intracelulares de la proteína Tau (Weller & Budson, 2018) (Fig. 1A). Además, se presentan placas amiloides que, como su nombre lo indica, son agregados extracelulares del péptido beta amiloide (A β) (Fig. 1B) (Selkoe, 2002). Aunado a estos cambios existe activación de la microglía y presencia de endosomas alargados en casi todas las neuronas piramidales de pacientes con EA en fases tempranas (Knopman *et al.*, 2021). Junto con estas lesiones se presentan muerte neuronal, pérdida de sinapsis y pérdida de la integridad de las redes neuronales (Golde *et al.*, 2018).

El deterioro conductual de los pacientes, así como los cambios estructurales del cerebro durante la EA, se han relacionado, entre otros hallazgos, con la acumulación del péptido A β (Cummings & Cole, 2002). Inicialmente, se consideraba que la acumulación en forma de placas amiloides era la causante de los efectos deletéreos de la EA (Golde *et al.*,

2018; Gouras et al., 2014; Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015). Sin embargo, parece que son los agregados solubles del péptido A β los que se han relacionado con el deterioro temprano (revisado por Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015).

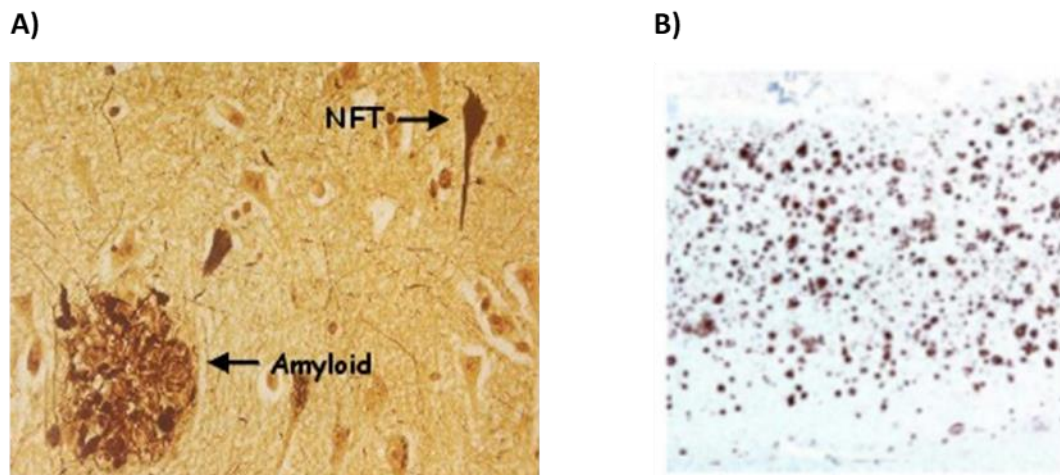


Fig. 1. Marcadores histopatológicos de la EA.

A) Microfotografía de sección de cerebro proveniente de paciente con EA, donde se muestran los ovillos neurofibrilares (NFT por sus siglas en inglés) y las placas amiloides (recuperado de la Torre, 2016). B) Microfotografía de una sección de la PFC de paciente con EA donde se observan placas amiloides (recuperado de Pelcovits et al., 2015)

1.1.1 El péptido A β

El péptido A β deriva del corte de la proteína precursora de amiloide (APP, por sus siglas en inglés), la cual es una proteína integral de un solo paso membranal (Haass & Selkoe, 2007) que se ha relacionado con diversos procesos celulares, como el metabolismo celular y el transporte axonal (Turner et al., 2003).

Durante la EA, existe una alteración en el procesamiento proteolítico de la APP (Hardy, 1997; Selkoe, 2002). La APP puede ser degradada por dos vías, una no patológica, conocida como vía no-amiloidegénica, en la que la APP es hidrolizada por la enzima α -secretasa (Marzolo & Bu, 2009) o alternatively, por la llamada vía amiloidegénica (patológica) que requiere de la enzima β -secretasa, y que se exacerba en la EA (Thinakaran & Koo, 2008). Ambas vías requieren de la enzima γ -secretasa para el procesamiento final de la APP. Las vías de procesamiento de APP son mutuamente excluyentes (Spies et al., 2012) y solo en la vía de la β -secretasa se genera el A β .

En la vía no amiloidegénica, el complejo enzimático α -secretasa genera un fragmento N-terminal soluble α (sAPP α , por sus siglas en inglés) y el fragmento C-terminal C83 (Skovronsky et al., 2000). El fragmento sAPP α es liberado en vesículas intra- y extracelularmente (Kumar-Singh, 2008). Por su parte, el fragmento C83 permanece unido a la membrana, donde es procesado por la enzima γ -secretasa (Thinakaran & Koo, 2008), la cual produce el péptido p3 (también conocido como A $\beta_{17-40/42}$) y el dominio intracelular de la APP (AICD por sus siglas en inglés) (Gandy, 2005). Esta vía se considera no patológica ya que no se produce el A β (Spies et al., 2012) (Fig. 2).

Por su parte, en la vía amiloidegénica, la β -secretasa produce una escisión de la APP que genera un fragmento N-terminal soluble β (sAPP β , por sus siglas en inglés) y el fragmento C-terminal C99 (Gandy, 2005). El sAPP β también puede ser liberado intra- y extracelularmente (Kumar-Singh, 2008). El fragmento C99 es hidrolizado por la γ -secretasa produciendo el A β y el péptido AICD (Kumar-Singh, 2008) (Fig. 2).

Durante el procesamiento proteolítico amiloidogénico de la APP, las especies producidas más abundantes del A β son de 27 a 43 aminoácidos de largo; siendo las especies de 40 y 42 aminoácidos (A β_{1-40} y A β_{1-42} , respectivamente) las más abundante (Knopman et al., 2021). Tras su producción, el A β es secretado en el espacio extracelular como un monómero soluble que, sin embargo, es hidrofóbico (Innocent et al., 2010), por lo que tiende a adoptar una estructura beta plegada y a agregarse en medios polares (Innocent et al., 2010). El A β_{1-42} es altamente propenso a agregarse, lo cual ocurre de manera dependiente de la concentración (Knopman et al., 2021). Aunque todas las células producen A β_{1-42} , hay un incremento en la generación de este péptido ante una mayor actividad sináptica, por lo que su producción y liberación está regulada por la actividad neural (Cirrito et al., 2005).

El A β , particularmente en su forma oligomérica, es tóxico y puede interactuar con los receptores metabotrópicos de glutamato 5 (mGLUR5) y los receptores NMDA (Benarroch, 2018). Además, el A β puede generar cambios patológicos en las espinas dendríticas, así como en la eficiencia sináptica (Knopman et al., 2021). Las interacciones del A β con diversos

componentes sinápticos genera daños irreversibles en diferentes estructuras cerebrales (Peña-Ortega, 2013, 2019).

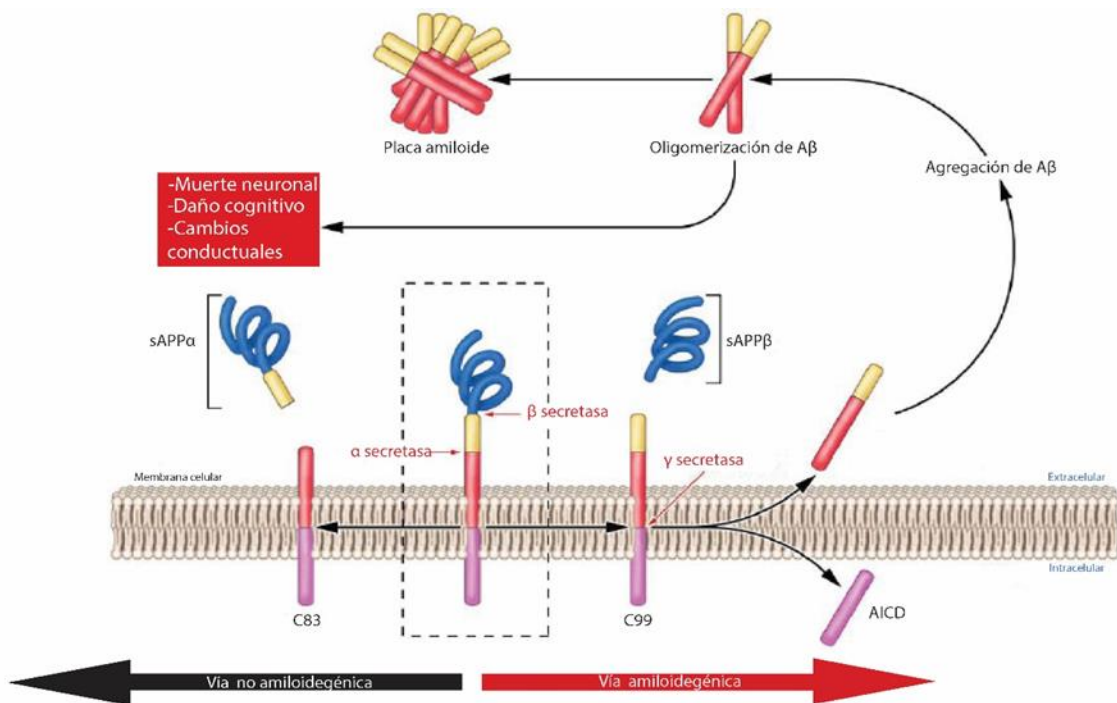


Fig. 2. Procesamiento de la APP.

La APP puede ser procesada por dos vías proteolíticas diferentes. La vía no amiloidegénica escinde a la APP por medio de la α -secretasa, produciendo a los péptidos sAPP α y C83 (lado izquierdo). La vía amiloidegénica utiliza a la enzima β -secretasa para procesar a la APP. Este paso enzimático produce al segmento sAPP β . Posteriormente, la región restante de la APP en la membrana es hidrolizada por la enzima γ -secretasa dando lugar a los péptidos AICD y A β , el cual adopta una estructura beta plegada hasta formar placas amiloides. La formación de oligómeros solubles del péptido A β producirá cambios deletéreos en el SNC. (Modificado de Spies et al., 2012).

Considerando que la pérdida de la memoria es un signo característico de la EA, se ha prestado mucha atención al daño producido en el hipocampo (HP) (Balleza-Tapia et al., 2010; Faucher et al., 2016; Salgado-Puga et al., 2015) y los efectos del péptido A β sobre este circuito (Balleza-Tapia et al., 2010; Bergin et al., 2015a; Li et al., 2009; Puzzo et al., 2012).

1.1.2 Efecto del péptido A β_{1-42} sobre la actividad eléctrica cerebral

Las investigaciones pioneras sobre la EA consideraban que eran las placas amiloides las causantes de los efectos deletéreos durante el curso de la enfermedad, y esto sentó las bases de la "hipótesis amiloide" (Hardy & Higgins, 1992). En esta hipótesis se considera que

el incremento en los depósitos del A β , incrementa la vulnerabilidad al estrés oxidativo y contribuye a la muerte neuronal (Bezprozvanny & Mattson, 2008). Sin embargo, no se han encontrado correlaciones entre la densidad de placas amiloides con el deterioro cognitivo, en etapas tempranas de la EA (Knobloch et al., 2007; Lue et al., 1999; Wilcock & Esiri, 1982). Más aún, se han encontrado placas en pacientes sanos que no presentan ningún tipo de deterioro cognitivo (Jagust, 2016).

Evidencias posteriores han demostrado que, como se mencionó anteriormente, son las formas solubles del péptido A β las que producen cambios en la actividad de las redes neuronales (Benarroch, 2018; Peña-Ortega, 2013, 2019). Los cambios producidos por el péptido A β incluyen la disminución en la probabilidad de liberación de neurotransmisores (Gutiérrez-Lerma et al., 2013; Wang et al., 2009), cambios en la transmisión pre- y postsináptica (Cirrito et al., 2005; Tackenberg et al., 2013), cambios en la plasticidad sináptica (Alcantara-Gonzalez et al., 2019; Debanne et al., 1996; Puzzo et al., 2012; Salgado-Puga et al., 2017; Smith et al., 2009; Tagliatela et al., 2015) así como alteraciones en la generación de oscilaciones cerebrales (Balleza-Tapia et al., 2010; Gutiérrez-Lerma et al., 2013).

En este sentido, la administración de los agregados solubles del péptido A β_{1-42} en modelos *in vitro* e *in vivo* han permitido modelar algunos de los efectos de dicho péptido sobre los circuitos neuronales relevantes para la EA (Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015). Este tipo de estudios han demostrado que el péptido A β interactúa con diversos canales iónicos, como lo son los canales de calcio y los HCN (Benarroch, 2018; Gutiérrez-Lerma et al., 2013). Además, como ya se mencionó, el A β_{1-42} puede interactuar con receptores a glutamato, particularmente con los receptores NMDA y los receptores metabotrópicos 5 (mGlu5) (Benarroch, 2018), así como los receptores α -7 nicotínicos y los receptores de insulina (Knopman et al., 2021). Dependiendo de la concentración del A β , la interacción con estos receptores puede modificar las propiedades pasivas y activas de las neuronas (Y. Wang et al., 2009). Por otra parte, los oligómeros del A β , pueden interactuar con los receptores de proteínas celulares priónicas (PrP^c). Se ha propuesto que los complejos

A β /PrP^c generan toxicidad sináptica, a través de la activación de la fosfolipasa A2 y la producción de prostaglandina E2 que contribuye a la neurodegeneración (Bate, 2017).

Uno de los mecanismos básicos del funcionamiento celular del SNC más afectado por el péptido A β es la transmisión sináptica (Brown et al., 2005). En modelos transgénicos que sobreexpresan a la APP y, por lo tanto, sobreproducen el péptido A β (aunque también otros péptidos derivados de la APP) existen alteraciones en la proporción de los receptores glutamatérgicos AMPA/NMDA en el HP, consistentes con una disminución de los receptores AMPA (Marchetti & Marie, 2011). Lo anterior, coincide con una menor frecuencia de las corrientes postsinápticas excitadoras miniatura (mEPSC, por sus siglas en inglés), dependientes del receptor AMPA (Marchetti & Marie, 2011). También, se ha reportado un incremento en las corrientes entrantes de calcio (Keskin et al., 2017), desregulando el calcio neuronal e incrementando la probabilidad de liberación de neurotransmisores en diversos modelos transgénicos de la EA (Bezprozvanny & Mattson, 2008).

Por otra parte, la plasticidad sináptica puede ser modulada por el péptido A β (Puzzo et al., 2012; Salgado-Puga et al., 2017), aunque no existe un consenso de la magnitud y dirección de estos cambios (Salgado-Puga et al., 2017; Vargas-Barroso et al., 2016). Se han reportado efectos mixtos en la plasticidad sináptica de largo plazo producidos por el péptido A β , ya que existe un grupo de evidencias que sustenta que la potenciación a largo plazo (*Long term potentiation*= LTP) presenta fallas de inducción y mantenimiento en presencia del péptido A β (Bergin et al., 2015a; Salgado-Puga et al., 2017). Sin embargo, también se ha reportado que el péptido A β produce un incremento en la amplitud de la depresión a largo plazo (*long term depression* = LTD) (Marchetti & Marie, 2011; Salgado-Puga et al., 2017); de hecho la interacción de los oligómeros del A β con los receptores mGluR5 activan a la cinasa MAP y, por tanto, promueve la inducción de la LTD (Jo et al., 2011). Se ha hipotetizado, que la endocitosis de los receptores glutamatérgicos AMPA es la responsable de reducir el mantenimiento de la LTP, lo cual correlaciona con una disminución en el aprendizaje (Dong et al., 2015). Aunado a este efecto, la interacción de los oligómeros del A β con los receptores NMDA y los receptores mGluR5, desencadenan una serie de cascadas de

señalización que interrumpen con el desarrollo de la LTP y promueven la LTD, reduciendo el número de espinas dendríticas (Tackenberg et al., 2013).

Por otra parte, modelos transgénicos de EA muestran cambios en la transmisión sináptica inhibitora producidos por el péptido A β (Brown et al., 2011; Palop et al., 2007). Por ejemplo, Palop *et al.* (2007) y Brown *et al.* (2005) reportan que hay una disminución de las corrientes postsinápticas inhibitoras (IPSC, por sus siglas en inglés) en la región CA1 del HP, pero no en la región CA3 (Brown et al., 2005; Palop et al., 2007). Estos cambios diferenciales en el proceso de inhibición sináptica también se han reportado en estudios histológicos (Bazzigaluppi et al., 2017). Por ejemplo, Bazzigaluppi *et al.* (2017) evidenciaron una disminución de células positivas a GAD 67 en la región CA1 del hipocampo que no ocurre en la región CA3.

Cabe destacar, que los efectos diferenciales del A β no solo ocurren entre las diferentes regiones cerebrales (Bazzigaluppi et al., 2017; Brown et al., 2005), sino también dentro de la misma región cerebral (Shipton et al., 2022). Recientemente, Shipton et al. (2022) encontraron una mayor vulnerabilidad al A β dependiente de hemisferio evaluado. Al infundir agudamente el A β observaron una reducción en las corrientes conducidas por el receptores tipo NMDA de las células de la región CA1 evocadas por la región CA3 izquierda, así como una menor LTP. En contraste, estos efectos no se observan al estimular la región CA3 derecha (Shipton et al., 2022). Este efecto, podría estar mediado por la cantidad de receptores NMDA que contienen la subunidad GluN2B, los cuales también son regulados por los niveles de la proteína Tau y, de hecho, ratones carentes de la proteína Tau no muestran fallos en el mantenimiento de la LTP (Shipton et al., 2022). La exposición aguda al A β puede desencadenar el influjo de Ca²⁺ masivo a través de los receptores tipo NMDA que contienen a la subunidad GluN2B particularmente en sitios extrasinápticos, generando excitotoxicidad (Li et al., 2011).

De lo anterior, se desprende que los efectos del péptido A β son complejos y varían dependiendo del tipo celular y/o de la sinapsis evaluada (Brown et al., 2005; Palop et al., 2007; Bazzigaluppi et al., 2017).

1.2 **Corteza prefrontal media**

Además del deterioro temprano producido en el HP durante la EA (Janssen *et al.*, 2017), existen otras estructuras, como la corteza prefrontal (PFC por sus siglas en inglés), que también sufren daños de manera temprana en la EA (Salat *et al.*, 2001). La PFC está ampliamente relacionada con funciones de orden superior como el control de las emociones, el aprendizaje y la formación de la memoria, así como con la memoria de trabajo (MT; Bizon *et al.*, 2012; Dalley *et al.*, 2004; Kalpouzos *et al.*, 2005; S. Kumar *et al.*, 2017) y la flexibilidad cognitiva (FC; Goto *et al.*, 2010; A. Kumar *et al.*, 2019).

Anatómicamente, la PFC se define como el área de proyección cortical del núcleo dorsal medio del tálamo (Van Eden & Uylings, 1985). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que el núcleo dorsal medio del tálamo no inerva exclusivamente a la PFC (Barsegyan *et al.*, 2023; Carlén, 2017). A fin de generar un consenso entre diferentes especies, se ha sugerido definir a la PFC, como la región anatómica anterior a la corteza premotora y suplementaria al área motora (Carlén, 2017). Por lo que en humanos y bajo la descripción topográfica de Brodmann, la PFC incluye a las regiones 8-14, 24, 25b, 32 y la región 44 (Carlén, 2017). En términos filogenéticos y ontogenéticos la PFC es una de las últimas regiones cerebrales en desarrollarse (Wallis, 2012) y se ha cuestionado ampliamente si los roedores poseen una PFC (Preuss, 1995; Seamans *et al.*, 2008; Uylings *et al.*, 2003; Wallis, 2012). Sin embargo, existen regiones en los cerebros de roedores (ratas y ratones) que son similares funcional y anatómicamente a las áreas 24, 32, y 25b de Brodmann de los humanos (Wallis, 2012) (Fig. 3).

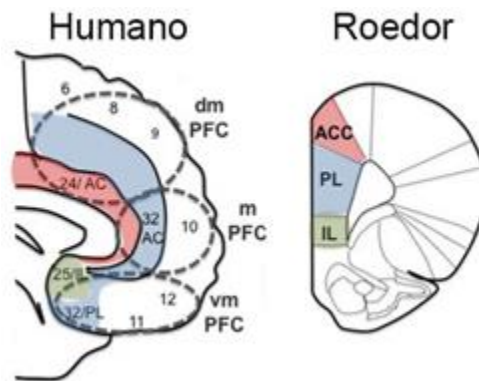


Fig. 3. Comparación anatómica de la PFCm del humano y la rata.

Se muestra una representación anatómica de la ubicación de la región del cíngulo anterior (AC/24 de Brodmann) de la región prelímbica (PL/32 de Brodmann) e infralímbica (IL/25 de Brodmann) de rata (derecho) y las áreas análogas en el humano (izquierda) así como el área dorsomedial de la PFC (PFC dm), la región medial de la PFC (PFCm) y la región ventro medial de la PFC (PFCvm). Modificado de Veldran, 2018.

La PFC se divide en tres regiones basada en sus conexiones neuroanatómicas: la corteza prefrontal media (PFCm, por sus siglas en inglés), la corteza prefrontal lateral (PFCL, por sus siglas en inglés) y la corteza prefrontal ventral (PFCv, por sus siglas en inglés) (Jobson et al., 2021). Las subdivisiones de estas regiones se enlistan a continuación (Dalley et al., 2004) :

- a) Corteza Prefrontal Media (PFCm, por sus siglas en inglés): Se encuentra cercana a la división interhemisférica. Se subdivide en una región dorsal que incluye al área precentral (PrC) y al cíngulo anterior (ACg, por sus siglas en inglés); así como una región ventral que incluye la región prelímbica (PrL), infralímbica (IL), medial orbital (MO) y precentral (PrC).
- b) Corteza Prefrontal Lateral (PFCL, por sus siglas en inglés): Incluye a las regiones dorsal e insular ventral agranular (AID y AIV, respectivamente), así como a la orbital lateral (LO, por sus siglas en inglés).
- c) Corteza Prefrontal Ventral (PFCv, por sus siglas en inglés): Incluye a las regiones orbital ventral (VO, por sus siglas en inglés) y lateral ventral orbital (VLO, por sus siglas en inglés).

En roedores, debido a sus diferencias citoarquitectónicas y a la conectividad con otras regiones cerebrales, la PFCm se encuentra subdivida en subregiones que comprenden

la región dorsomedial (PFCdm, por sus siglas en inglés) y la región ventromedial (PFCvm, por sus siglas en inglés) (Churchwell & Kesner, 2011; Heidbreder & Groenewegen, 2003). La PFCdm, incluye a las regiones medias del cíngulo anterior dorsal (ACg, por sus siglas en inglés) y, en ocasiones, a los aspectos dorsales del área prelímbica (PrL)(Churchwell & Kesner, 2011; Heidbreder & Groenewegen, 2003). Mientras que la PFCvm incluye a las regiones prelímbica (PrL), infralímbica (IL) y la región medial orbital (MO) (Churchwell & Kesner, 2011; Heidbreder & Groenewegen, 2003).

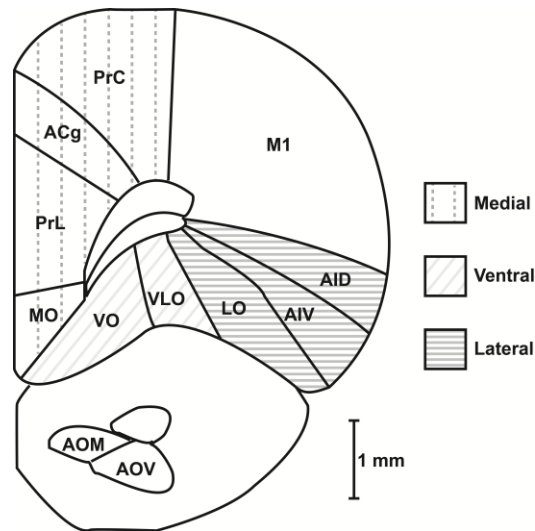


Fig. 4. Esquema coronal unilateral representativo de la corteza prefrontal.

Ubicación 3.5 mm antes de Bregma. Se observan las subdivisiones principales de la PFC: PFC medial (PFCm, en rombos); PFC ventral (PFCv, en gris) y PFC lateral (PFCl, sin relleno), así como las subdivisiones que las componen. Abreviaturas: ACg, corteza anterior cíngulada; AID corteza agranular insular dorsal; AIV, corteza insular agranular ventral; AOM, núcleo olfatorio medial anterior; AOV núcleo olfatorio ventral anterior; LO, corteza orbital lateral; M1, corteza motora primaria; MO corteza medial orbital; PrL, corteza o área prelímbica, PrC, corteza o área precentral; VLO corteza o área orbital ventrolateral; VO, corteza o área ventral orbital. (Modificado de Dalley et al., 2004).

A diferencia de otras cortezas sensoriales, la PFCm es una corteza agranular, carente de la capa 4 que, canónicamente, recibe conexiones talámicas. En su lugar, la PFCm contiene las siguientes capas: I, II/III, V y VI (Anastasiades & Carter, 2022). Las neuronas de proyección, se localizan a lo largo de la capa II hasta la capa VI, las cuales reciben circuitos recíprocos excitadores con otras regiones cerebrales (Anastasiades & Carter, 2022). La mayoría de las neuronas de la PFC son neuronas piramidales excitadoras glutamatérgicas, que se organizan en capas formando circuitos locales y de proyección (Fuster, 2008) (Fig. 5).

Las células de proyección de la PFC pueden ser divididas en tres: células intratelencefálicas (IT, por sus siglas en inglés) (Ueta et al., 2019), células del tracto piramidal (PT, por sus siglas en inglés) (Baker et al., 2018; Harris & Shepherd, 2015) y células cortico-talámicas (CT, por sus siglas en inglés) (Baker et al., 2018; Guo et al., 2018).

Las células IT se presentan a lo largo de las capas II/VI, proyectan a otras partes de la corteza, la amígdala lateral y al estriado (Little & Carter, 2013). Así como en otras cortezas, en la capa II/III las células IT se segregan en diferentes patrones de salida (Little & Carter, 2013; McGarry & Carter, 2016). En la capa V las células IT envían proyecciones cortico-corticales, cortico-estriatales y cortico-amigdalinas (Collins et al., 2018; Nakayama et al., 2018). Por último, las células IT de la PFCm envían proyecciones bilaterales contra e ipsilaterales al claustró (Anastasiades & Carter, 2022).

Por su parte, las células PT se encuentran confinadas a la capa V, con elaborados árboles dendríticos y una alta expresión de canales HCN (Nikolai et al., 2010; Steven et al., 2012). Este grupo celular envía conexiones ipsi-laterales al estriado, al tálamo, al puente, a la sustancia gris periacueductal y múltiples centros neuromoduladores (Gabbott et al., 2005). Esta alta diversidad de las células PT permiten que la PFCm influya en varias conductas de orden superior (Anastasiades & Carter, 2022). Las PT tiene dos subpoblaciones, una en la región superior de la capa V, las cuales inervan el puente y el tálamo (Anastasiades & Carter, 2022); y otra en la parte inferior de la capa V dirigidas a la médula oblonga y a la espina dorsal (Collins et al., 2018). Por último, las células CT de la capa VI se distinguen por su morfología y sus propiedades de no adaptación de disparo (Baker et al., 2018; Collins et al., 2018). Las dendritas apicales de las células CT se extiende la superficie de la piamadre, lo cual sugiere que reciben información de todas las capas corticales. Las neuronas de proyección de la capa V y VI se dirigen a diversos núcleo talámicos (Collins et al., 2018), incluyendo el núcleo reuniens, el cual inhibe al tálamo y es una región importante para la atención (Baker et al., 2018). Cabe destacar que las células CT e IT de la capa VI pueden ser diferenciadas ya que, las IT carecen de canales HCN y suelen tener una morfología dendrítica multipolar o incluso invertida (Anastasiades & Carter, 2022).

Se cree que el flujo de información dentro de la PFCm es similar a otras cortezas frontales y motoras, siguiendo una jerarquía de las capas superiores a las inferiores (Anastasiades & Carter, 2022). Además, las conexiones entre el mismo tipo celular son particularmente fuertes y muestran plasticidad a corto plazo (STP, por sus siglas en inglés), lo cual permite mantener la actividad reverberante propia de esta corteza, la cual es importante para la MT (Y. Wang et al., 2006). Por su parte, las conexión entre diversos tipos celulares es altamente selectiva, proporcionando direccionalidad a la señalización dentro y entre las capas corticales (Collins et al., 2018; Harris & Shepherd, 2015). Por ejemplo, células IT inervan fuertemente a las PT, asegurando que la información sea dirigida a una vía de salida (Collins et al., 2018). Sin embargo, la conexión reversa es débil, siendo este un mecanismo para que la información no reingrese automáticamente al circuito anterior (Anastasiades & Carter, 2022). Dependiendo de su patrón de disparo, las neuronas piramidales se dividen en las que disparan de forma regular y aquellas que disparan en ráfagas (Fuster, 2008).

La actividad de las neuronas piramidales se regula sincrónica y temporalmente por la actividad de interneuronas GABAérgicas (Markram *et al.*, 2004), las cuales tienen una identidad neuroquímica y eléctrica variable en las diversas capas de la PFC (Povysheva et al., 2013). Las interneuronas GABAérgicas generan inhibición local recurrente e inhibición reclutada paralelamente a la entrada excitadora (Wang & Gao, 2009). Estas células tienen axones cortos y distribuyen sus árboles dendríticos a través de las distintas capas de la corteza (Abernathy *et al.*, 2010). A lo largo de la PFC, las interneuronas GABAérgicas son divididas en tres grandes poblaciones: las positivas a parvoalbumina (PV+), las positivas a somatostatina (SOM+) y aquellas que contienen al receptor de serotonina 3a (5HT3aR) (Tremblay et al., 2016). Las interneuronas positivas a 5HT3aR, se subdividen por la expresión de colecistoquinina (CCK, por sus siglas en inglés), el péptido vasoactivo intestinal (VIP, por sus siglas en inglés), la relina y factor neurotrófico neuronal (NDNF, por sus siglas en inglés) (Schuman et al., 2019; Tremblay et al., 2016). Todos estos tipos de interneuronas se encuentran divididas en patrones laminares de manera similar con otras cortezas (Y. Kim et al., 2017). Sin embargo, existen diferencias importantes en la PFCm (Y. Kim et al., 2017).

Por ejemplo, parecen existir un menor número de células PV+ y una mayor proporción de neuronas SOM+ y CCK+ en comparación a otras cortezas asociativas (Y. Kim et al., 2017).

Las conexiones entre las interneuronas con las neuronas piramidales también sigue reglas de conexión a nivel celular y subcelular (Tremblay et al., 2016). Por ejemplo, las PV+ ejercen su acción cerca del soma, las SOM+ inhiben principalmente a las dendritas, mientras que las VIP+ señalizan a otras interneuronas (Elodie & Yuste, 2011). Por su parte, se sugiere que las CCK+ también señalizan el soma mientras que las NDNF+ inhiben los crestas apicales distales (Elodie & Yuste, 2011). En las capas superficiales de la PFC las células PV+ y SOM+ conectan preferencialmente con neuronas piramidales que generan conexiones cortico-amigdalinas (McGarry & Carter, 2016). Por su parte en las capas profundas las interneuronas PV+, SOM+ y NDNF+ inhiben preferencialmente a las neuronas PT (Elodie & Yuste, 2011).

Las interneuronas también pueden clasificarse por sus propiedades electrofisiológicas y/o a través de su patrón de disparo (Markram *et al.*, 2004). Canónicamente en la PFC las interneuronas se dividen en interneuronas de disparo rápido (*fast spiking*) y células de umbral bajo (*low threshold spiking*) (Markram *et al.*, 2004).

Como muchas otras neuronas, si no es que la totalidad, las neuronas piramidales de la PFC funcionan como integradores temporales y detectores de coincidencia de las entradas sinápticas (Rotaru et al., 2007). Esta propiedad emerge, en el caso de la PFC, a partir de los cambios sostenidos en respuesta a la información entrante, ya que el potencial de membrana de estas células fluctúa espontáneamente entre un estado en reposo muy negativo (*down state*) y mesetas despolarizantes (*up state*) (Branchereau *et al.*, 1996; Lewis, 2000). El *up state* se presenta por la activación sostenida de entradas sinápticas excitadoras provenientes del tálamo y otras estructuras límbicas como el HP, permitiendo la sincronización de poblaciones neuronales (Steriade, 2001). Durante el *up state* las corrientes persistentes del receptor NMDA y de los canales dependientes de voltaje tipo L, permiten que el disparo persistente de las neuronas piramidales se mantenga a una alta tasa de disparo durante los periodos de retraso en pruebas conductuales asociadas a la MT (Veng et al., 2003; M. Wang et al., 2013). Por su parte, el *down state* es consecuencia del

cierre de las corrientes persistentes, las corrientes de fuga y la activación de canales iónicos que favorecen la hiperpolarización (O'Donnell, 2002).

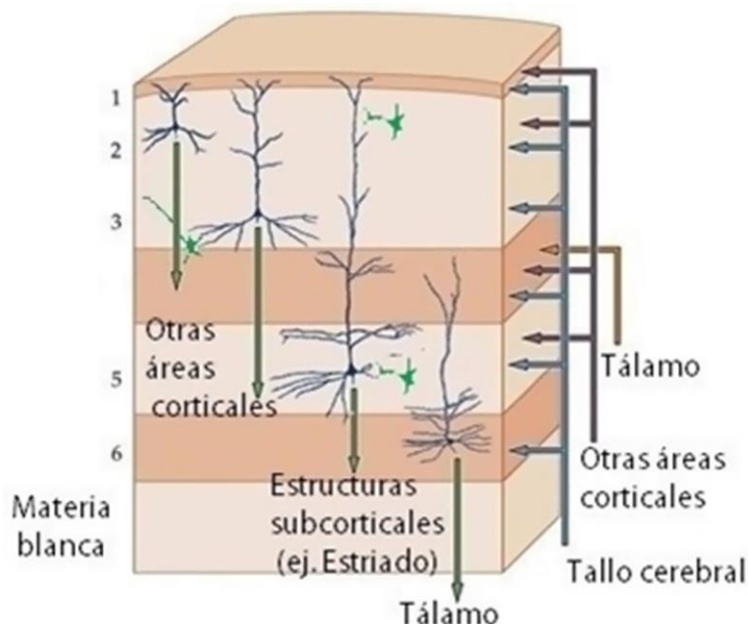


Fig. 5. Esquema representativo de las capas de la corteza prefrontal.

Se muestran las conexiones aferentes y eferentes de las distintas capas de la corteza. Se puede observar que de manera preferencial las neuronas de la capa II/III generan conexiones con otras regiones corticales, mientras que las neuronas piramidales de la capa V tiene preferencia de innervación con otras estructuras subcorticales como el HP y el estriado, así como que las neuronas de la capa VI envían sus axones al tálamo. A diferencia de otras cortezas el tálamo envía conexiones a la capa II/III, mientras que las conexiones extra e intracorticales ocurren a lo largo de la PFC. Modificado de Purves y cols., 2004.

1.2.1 Conexión hipocampo- corteza prefrontal

Como ya ha sido mencionado, la PFCm recibe una amplia innervación de varias regiones subcorticales (Fuster, 2008). Particularmente, la conexión que la PFCm recibe del HP procesa información necesaria para las funciones ejecutivas de orden superior como el control de las emociones (Jin & Maren, 2015), la FC (Goto et al., 2010), la memoria de reconocimiento social (Phillips et al., 2019), el mantenimiento de la memoria episódica (Barker et al., 2017) y la MT (Dalley et al., 2004).

La conexión HP-PFC forma una relación directa entre la PFCm y la región CA1 del HP ventral (HPv) (Fig. 6) (Parent et al., 2010). La vía HP-PFCm ha sido reportada en roedores (ratas y ratones) (Jay & Witter, 1991; Thierry et al., 2000), primates no humanos (Zhong et

al., 2006) y humanos (Croxson et al., 2005). La conexión entre el HP y la PFC, puede ser de tipo mono y polisináptica, tanto en roedores como en el humano (Hoover & Vertes, 2007).

En el presente trabajo nos centraremos en la vía monosináptica, en la que las fibras provenientes del HP inervan a las neuronas piramidales y a las interneuronas GABAérgicas de la PFCm (Anderson et al., 2016). En particular, en aquellas localizadas en las región PrL (Parent et al., 2010) e IL (X. Liu & Carter, 2018).

Para el estudio de esta vía, el artículo seminal de Parent et al., (2010) describe una preparación *ex vivo* de cerebro de rata que permite obtener una rebanada coronal de la PFCm en donde es distinguible la vía proveniente del HPv, misma que es susceptible a estimulación eléctrica. Las fibras provenientes del HPv atraviesan la fimbria y el fórnix y envían ramas hacia el septum lateral, el núcleo accumbens (NAcc, por sus siglas en inglés) y la PFCm (Jay, Thierry, Wiklund, & Glowinski, 1992).

La conexión HP-PFCm es una sinapsis glutamatérgica (Thierry et al., 2000), que está mayoritariamente mediada por el receptor tipo AMPA (Jay et al., 1992). Los axones provenientes del HP arriban a las capas más profundas de la corteza, sobre todo a la capa V y VI (X. Liu & Carter, 2018).

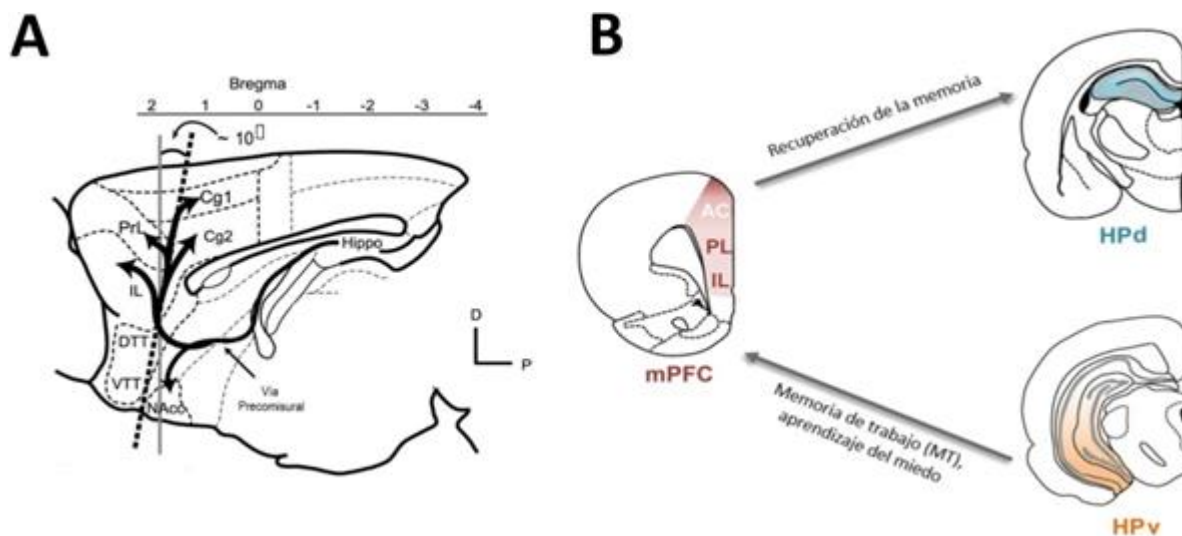


Fig. 6. Conexión HP-PFCm

A) Se muestra la representación anatómica de la conexión proveniente del HP hacia la PFCm. Esta vía comienza en la región ventral del HP (HPv), atraviesa la fimbria y el fórnix para después enviar ramas hacia el septum lateral y al NAcc, así como a las regiones pre-límbica (PL), infralímbica (IL) y el cíngulo anterior (ACg). Modificado de Parent et al., 2010. **B)** Funciones de la conexión HPv hacia la PFCm, y de la vía entre la PFCm y el hipocampo dorsal (HPd). La vía del HPv y la PFCm tiene un papel fundamental para la memoria de trabajo, la flexibilidad cognitiva y el aprendizaje del miedo. Mientras que la vía del PFC hacia el HPd, es importante para el proceso de recuperación de la memoria. Modificado de Sigurdsson & Duvarci, 2016.

Por otra parte, estudios con marcadores anterógrados han demostrado que existen conexiones entre la PFCm hacia el HP dorsal (HPd) (Hoover & Vertes, 2007; Parent et al., 2010; Sigurdsson & Duvarci, 2016). Esta vía de regreso al HPd, comienza en la región ACg de la PFCm y envía axones a las regiones CA1 y CA3 del HPd (Sigurdsson & Duvarci, 2016). Canónicamente, la conexión PFCm-HPd, es glutamatérgica e inerva a neuronas piramidales (Rajasehupathy et al., 2015), no obstante, recientemente se describió una vía GABAérgica que proyecta a las interneuronas VIP+ de la región CA1 (Malik et al., 2022).

Adicional a estas vías, existen conexiones indirectas entre el HP y la PFCm, que incluyen vías provenientes del HP hacia la amígdala, la corteza entorrinal y la región media del tálamo, para después inervar a la PFC (Wolff et al., 2015). De igual manera, hay una vía de proveniente de la PFCm, que tiene como relevo al núcleo reuniens del tálamo y tiene como destino el HPd (Sigurdsson & Duvarci, 2016).

1.2.2 Características de la conexión HP-PFCm

Como fue mencionado anteriormente la conexión HP-PFCm, es una vía excitadora mediada mayoritariamente por los receptores AMPA (Jay et al., 1996), con una velocidad de conducción relativamente lenta (Ferino et al., 1987). Estudios con ratas anestesiadas han demostrado que la estimulación de células de la región CA1, genera un potencial postsináptico excitador (EPSP, por siglas en inglés) seguido de un potencial postsináptico inhibitor (IPSP, por sus siglas en inglés), capaz de generar un potencial de acción en las células piramidales de la región PrL y IL (Eslamizade et al., 2015). Aunado a este fenómeno, ocurre un EPSP tardío que podría ser resultado de la activación de las conexiones recurrentes propias de la PFCm (Thierry et al., 2000).

La vía HP-PFCm es susceptible a procesos de plasticidad sináptica (Laroche et al., 2000). La plasticidad sináptica es un fenómeno en el que, como consecuencia del uso y la transmisión repetida de información entre dos o más neuronas, hay una modificación en la eficacia de la comunicación preexistente (Martin et al., 2000). La plasticidad sináptica permite la incorporación y almacenamiento de información a corto y largo plazos (Zucker y

Regehr, 2002). La plasticidad sináptica se clasifica en dos tipos, si se considera la duración de la misma (Huang, 1998): de corto y de largo plazos (Kandel, 2013).

La plasticidad sináptica de corto plazo, requiere de modificaciones en la presinapsis y su duración es del orden de milisegundos a minutos (Zucker & Regehr, 2002). La plasticidad sináptica de corto plazo se produce, generalmente, por ráfagas de actividad que llevan a la acumulación transitoria de Ca^{2+} en las terminales sinápticas, lo que modifica la probabilidad de liberación del neurotransmisor (Zucker y Regehr, 2002). Este tipo de plasticidad sináptica engloba a los procesos de facilitación y depresión sináptica de corto plazo (Blackman *et al.*, 2013).

Tanto la inducción de la facilitación a corto plazo como la inducción de la LTP en la vía HP-PFCm fue descrita por primera vez por Laroche et al. (1990). También, se han descrito procesos de facilitación a corto plazo ante protocolos de pulso pareado, incrementando la probabilidad de descarga ante el segundo pulso de estimulación en un rango de latencias entre los pulsos de entre 40 a 200 ms (Thierry et al., 2000). Aunado a este efecto, se ha demostrado que hay facilitación a corto plazo ante la estimulación a bajas frecuencias (10 Hz), mientras que los trenes de estimulación de alta frecuencia (20-50 Hz) generan un proceso de depresión (Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017).

La estimulación de la vía precomisural (haz hipocampal que arriba a la PFCm) genera una respuesta sináptica distinguible de la generada por la estimulación de la capa cortical I (Parent et al., 2010). La respuesta sináptica resultante de la estimulación de diferentes capas de la PFCm es una respuesta polisináptica compleja (Parent et al., 2010). En este sentido, los EPSPs evocados en las capas II/III de la PFCm tienen un retraso sináptico de alrededor de 4.18 ± 0.06 ms, mientras que los EPSP evocados por la estimulación del haz hipocampal genera una respuesta excitadora a menudo seguida por una fase de hiperpolarización prolongada (Jay et al., 1996; Jay & Witter, 1991; Laroche et al., 1990), que es producto de la activación interneuronas locales GABAérgicas también inervadas por la vía HP-PFC (Thierry et al., 2000). Además, los EPSPs evocados por la vía precomisural exhiben una latencia corta que, de hecho, es lo suficientemente rápida para excluir una respuesta polisináptica (3.98 ± 0.09 ms) (Parent et al., 2010). Por otra parte, la respuesta

proveniente de la estimulación del haz hipocampal es distinguible de la respuesta antidrómica generada por la estimulación de las capas V-VI de la PFC, la cual evoca la generación de un PA antidrómico (Parent et al., 2010).

Además, la respuesta sináptica evocada por la estimulación de la vía hipocampal con un protocolo de pulso pareado muestra un alto grado de facilitación presináptica mayor que la obtenida por la estimulación de la capa I cortical (Ferino et al., 1987; Parent et al., 2010).

Por su parte, los procesos de plasticidad sináptica a largo plazo tienen una duración de horas a semanas e incluso de toda la vida (Nicoll & Schmitz, 2005). Los procesos de plasticidad sináptica a largo plazo incrementan o disminuyen la eficacia de la comunicación entre las neuronas (Goto *et al.*, 2010). Por lo anterior, la plasticidad de largo plazo incluye a la LTP (Malenka & Bear, 2004) y la LTD (Malenka & Kauer, 2007); ambos procesos necesitan de la activación de receptores glutamatérgicos; principalmente los NMDA, que activan a diferentes vías de señalización intracelular a nivel postsináptico (Ramachandran *et al.*, 2015), como se explicará a continuación.

Los procesos de inducción de la LTP y la LTD requieren de la entrada de Ca^{2+} en la región postsináptica (Martin *et al.*, 2000), pero la magnitud de entrada de este ion determina la dirección del cambio plástico (Goto *et al.*, 2010). Así, cuando la entrada de Ca^{2+} , mediada principalmente por la apertura de los receptores NMDA, es masiva, se activa la cascada de señalización mediada por la cinasa dependiente de Ca^{2+} -calmodulina tipo II (CaMKII, por sus siglas en inglés) (Lisman & Raghavachari, 2015) que, a su vez, promueve la inserción de receptores AMPA en la densidad postsináptica (Dong *et al.*, 2015), lo que es fundamental para el proceso de inducción y mantenimiento de la LTP (Lisman & Raghavachari, 2015). Por su parte, la LTD cortical se induce cuando la actividad sináptica produce una entrada limitada de Ca^{2+} (Otani, 2004). En consecuencia, se activa una cascada de señalización diferente a la asociada a la LTP (Otani, 2004). El aumento intracelular moderado de Ca^{2+} activa a la proteína fosfatasa 2 B (PP2B, por sus siglas en inglés) o calcineurina (Mulkey & Malenka, 1992) que, a su vez, promueve la inhibición de la proteína inhibidora-1 (Thomas et al., 2001). Dicha inhibición activa a la proteína fosfatasa 1 (PP1, por sus siglas en inglés) lo que promueve la internalización del receptor AMPA (Malenka & Bear,

2004). Al internalizarse el receptor AMPA se induce depresión de la transmisión glutamatérgica (Lee *et al.*, 1998; Malenka & Bear, 2004).

Como fue mencionado anteriormente, la vía HP-PFC es susceptible a procesos de plasticidad de largo plazo. Estudios *in vivo* con ratas han demostrado que la estimulación tetánica en la región CA1 del HPv es capaz de generar LTP en la PFCm (Laroche *et al.*, 2000; Romcy-Pereira & Pavlides, 2004). Este proceso de LTP, es dependiente del receptor NMDA y está ampliamente modulado por la inervación dopaminérgica proveniente del área ventral tegmental (Jay *et al.*, 1996). El incremento en la coherencia de la banda theta entre la actividad de la región CA1 del HPv y la PFCm está correlacionado a una mejor inducción de la LTP en la PFCm tras la aplicación de una estimulación de alta frecuencia (HFS) en el HP (Zhen & Zhang, 2015). Así, el incremento en la LTP es estable y se mantiene a lo largo del tiempo en relación a la coherencia entre el HP y la PFCm (Zhen & Zhang, 2015). Además la LTP de esta vía puede ser revertida con un protocolo de estimulación a baja frecuencia que genera LTD (Burette *et al.*, 1997). De manera más reciente se ha demostrado que la vía HP-PFCm puede mantener una LTP por más de 20 días (Taylor *et al.*, 2016). Por otra parte la estimulación a baja frecuencia en el HPv de ratas anestesiadas puede generar una LTD estable que se mantiene por al menos 13 h (Takita *et al.*, 1999, 2013).

1.2.3 Funcionalidad de la vía HP-PFCm

Por separado, la PFCm y el HP se han relacionado con funciones cognitivas particulares (Buckner & Wheeler, 2001; Calabro *et al.*, 2020; Kesner, 2018; Kesner & Churchwell, 2011; Martin *et al.*, 2000; Menon & D'esposito, 2021). La PFCm, está asociada con el control cognitivo y ejecutivo (Kesner & Churchwell, 2011), la concordancia entre las metas y los planes futuros (Menon & D'esposito, 2021); así como el cambio y selección de memorias previamente creadas (Buckner & Wheeler, 2001). El HP, por su parte, se ha relacionado con la formación de la memoria (Martin *et al.*, 2000), el manejo de la información espacial (Kesner, 2018) y tiene un papel importante en el mantenimiento de la MT durante tareas de igualación a la muestra con retraso (Calabro *et al.*, 2020).

La actividad bidireccional y la comunicación entre el HP y la PFCm, se han relacionado con otros procesos emocionales y funciones ejecutivas (Sampath et al., 2017). Con respecto a los procesos emocionales la conexión proveniente del HPv que arriba a la región PrL de la PFC, arriba preferencialmente a las interneuronas inhibitoras (Tierney et al., 2004) y se ha asociado con la prevención o reducción de la señal de miedo (Sotres-Bayon et al., 2012).

Dentro de las funciones cognitivas superiores se encuentran las funciones ejecutivas, las cuales son las habilidades necesarias para generar acciones planeadas y dirigidas a metas (Calabro et al., 2020). Parte de las funciones ejecutivas son la MT (Bizon et al., 2012; Bygrave et al., 2019; Churchwell & Kesner, 2011; Dalley et al., 2004; Kesner et al., 1996), la FC (Dalley et al., 2004; Diamond, 2013; Latif-Hernandez et al., 2019) y el control de las emociones (Dalley et al., 2004).

La coherencia alta de la actividad eléctrica entre el HP y la PFCm está relacionada con el aprendizaje (Sigurdsson & Duvarci, 2016) y contribuye a la consolidación de la memoria (Siapas et al., 2005). Además, la sinapsis HP-PFCm controla la recuperación de la información relevante para la resolución de una tarea específica, mientras que suprime información poco importante (Preston & Eichenbaum, 2013). Como ya ha sido mencionado, durante la EA existen alteraciones en las funciones ejecutivas particularmente, durante las etapas tempranas de la EA hay daños en la MT (Kalpouzos et al., 2005; A. Kumar et al., 2019) y en la FC (Goto et al., 2010; A. Kumar et al., 2019).

1.2.3.1 Memoria de trabajo y tareas conductuales asociadas

La MT se define como un sistema que se encarga del almacenamiento y manipulación de la información durante un periodo corto de tiempo (segundo a minutos) que es necesaria para realizar tareas cognitivas complejas (Jobson et al., 2021). Por otra parte, la MT tiene una capacidad atencional limitada, por lo que se requiere que exista una adecuada asignación de recursos (Phensy & Kroener, 2020). Durante las pruebas de MT, la PFC monitorea y actualiza la información, de manera simultánea con el procesamiento de la información *per se*.

En el artículo pionero de Funahashi et al., (1989), describen que las neuronas de la PFC mantienen información relevante en línea durante un periodo de tiempo breve (Funahashi, 2017). Posteriormente, los estudios de Fuster y Goldman-Rakic, en primates no humanos, mostraron que las neuronas de la PFCm tienen una alta tasa de disparo durante las fases de retraso en las pruebas de MT (Funahashi et al., 1989; Fuster & Alexander, 1971).

Se sugiere que durante los periodos de retraso se representa información retrospectiva (memoria de las propiedades de la pista) o información prospectiva (planeación de la respuesta conductual correcta) (Phensy & Kroener, 2020). Subpoblaciones neuronales de la PFCm muestran actividad persistente y asincrónica durante los periodos de retraso que responde a las características de los estímulos (Phensy & Kroener, 2020). El ritmo y la magnitud de la sintonía de ciertas neuronas de la PFC pueden también predecir el desempeño en la tarea (Phensy & Kroener, 2020).

La funcionalidad de la actividad neuronal en la PFCm durante el periodo de retraso ha sido puesta en debate, pues algunos autores como Funahashi y Arnsten, sostienen que la actividad persistente de las neuronas durante el periodo de retraso representa la información acerca del estímulo retenido en la MT y esta actividad determina el desempeño del sujeto (Constantinidis et al., 2018). Sin embargo, algunos otros investigadores como Miller (Lundqvist et al., 2018; Miller et al., 2018), sugieren que la actividad persistente es un artefacto que emerge de promediar la actividad a lo largo de diferentes ensayos y que, en cambio, la actividad de los ensayos individuales es escasa y produce ráfagas que pueden estar relacionadas con la actividad oscilatoria. No obstante, sugieren que la actividad durante el periodo de retraso se produce gracias a cambios en los pesos sinápticos y la interacción entre diferentes ritmos en distintas capas corticales (Lundqvist et al., 2018).

En este sentido, existen características específicas que deben de cumplir las tareas que pretendan estudiar a la memoria de trabajo (Dudchenko, 2004). Estas tareas deben de contar con una fase de muestra, en donde los sujetos adquieran información que pueda ser utilizada como referencia (Churchwell & Kesner, 2011). Estas tareas deben de contar, también, con una fase de retraso, en donde la información sea mantenida y manipulada (Preston & Eichenbaum, 2013). Esta segunda fase deber ser sensible a los intervalos de

tiempo, ya que retrasos de mayor tiempo correlacionan un desvanecimiento de la MT y, por tanto, con un menor número de respuestas correctas (Lara & Wallis, 2015). Por último, estas tareas deben de contar con una fase de respuesta, en donde se evoque la MT para poder concluir con la tarea (Myroshnychenko et al., 2017).

Existe una gran diversidad de pruebas conductuales que permiten evaluar la MT en roedores (Dudchenko, 2004), entre las que destacan diversos tipos de laberinto (en formas de T o Y) (Benchenane et al., 2010; G. W. Wang & Cai, 2006); así como protocolos con un menor requerimiento cognitivo como son los protocolos de igualación a la muestra (MS, por sus siglas en inglés) (Miller et al., 1996) y aquellos que son más exigentes por las conductas de alternancia propias de los roedores (no igualación a la muestra; NMS, por sus siglas en inglés) (Kesner et al., 1996).

Uno de los laberintos más utilizados para estudiar la memoria de trabajo es el laberinto en T (Deacon & Rawlins, 2006). Por otro lado, tanto Pedigo *et al.* (2006) como Johnson & Redish (2007) demostraron que un laberinto en T modificado con un retorno al inicio del laberinto, también conocido como laberinto en Figura de 8 es un laberinto más idóneo para estudiar la MT (Pedigo *et al.*, 2006). Estudios previos indican que la resolución de este laberinto requiere de la funcionalidad adecuada de la PFCm y del HP (Johnson & Redish, 2007) y es sensible a los cambios en los intervalos de retención entre las fases de la prueba y respuesta (Spellman et al., 2015; Yoon et al., 2008). El laberinto en Figura de 8 consiste, como su nombre lo indica, en un pasillo central que conduce a un corredor perpendicular formando una T (Pedigo *et al.*, 2006). Al final de cada lado del corredor existe un brazo de retorno al inicio del pasillo central. En el laberinto en Figura de 8, la MT puede evaluarse dentro de un ensayo, pero no entre sesiones (Dudchenko, 2004; Pedigo et al., 2006), como la memoria a corto plazo (Fig. 7A).

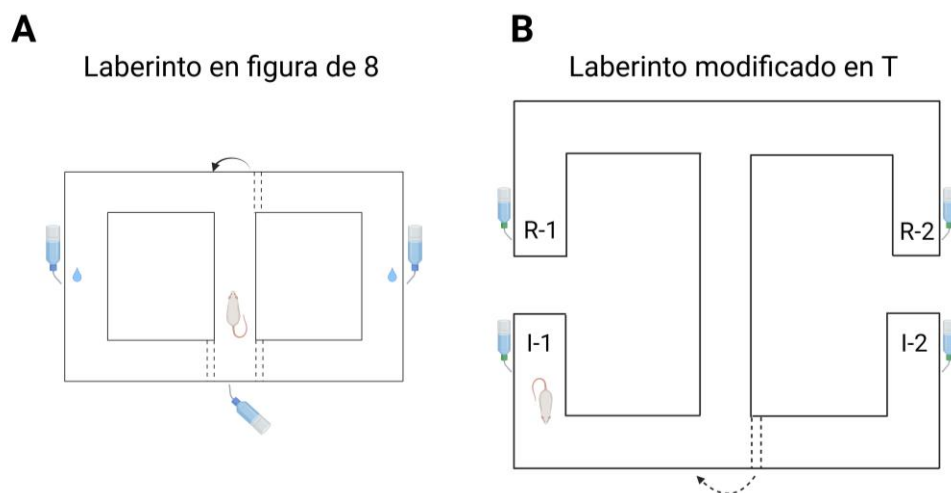


Fig. 7. Pruebas conductuales para evaluar a la MT y la FC

A) Esquema del laberinto en Figura de 8. El laberinto en Figura de 8 es una modificación del laberinto en T, es fácilmente adquirido y es susceptible a utilizarse con intervalos de retraso entre las fases de la prueba. Modificaciones en las reglas de resolución en este laberinto permiten estudiar la FC (Pedigo et al., 2006). **B)** Esquema del laberinto modificado en T propuesto por Jones & Wilson (2005). El laberinto modificado en T permite separar el componente motriz de la memoria espacial.

De manera más reciente, Jones & Wilson (2005) propusieron otra modificación del laberinto en T. Este laberinto permite separar el componente mnésico de otros requerimientos cognitivos para el completamiento de la tarea y puede llegar a ser muy útil para estudios asociados con registros electrofisiológicos en libre movimiento. El laberinto modificado en T cuenta con dos cajones de inicio (I-1 e I-2) conectados por un pasillo central y dos cajones de reforzamiento (R-1 y R-2), es más largo que un laberinto en T común, lo cual incrementa el requerimiento cognitivo necesario para poder realizar la tarea (Jones & Wilson, 2005a)(Fig. 7B).

1.2.3.2 Flexibilidad cognitiva y tareas conductuales asociadas

La FC es la capacidad de cambiar entre diferentes objetivos o tareas (Magnusson & Brim, 2014). En modelos animales, la FC es la habilidad de cambiar una respuesta conductual dependiente de la regla o contexto particular de la tarea (Scott, 1962).

Durante el envejecimiento normal, la FC disminuye y existen dificultades para adaptarse a ambientes nuevos o cambiantes (Boone et al., 1993). Pacientes con la EA,

presentan un deterioro aún mayor en la FC comparados con sujetos sanos de la misma edad (Ballesteros et al., 2013).

Por su parte, en modelos murinos, tanto en ratas como en ratones, el paradigma clásico para estudiar la FC es el entrenamiento reverso, en donde se cambia la regla de una tarea previamente aprendida (Schoenbaum et al., 2006). Por ejemplo, se puede cambiar de un protocolo de MS a uno de NMS (Goto et al., 2010), como se hizo en esta tesis.

1.3 ***Enfermedad de Alzheimer y la conexión HP-PFC***

Como ya se ha mencionado, durante el desarrollo temprano de la EA, existe una disminución de las capacidades cognitivas asociadas a la PFCm, al HP y a la conexión entre estas regiones (Goto et al., 2010; Koukouli et al., 2016). Los daños en las funciones cognitivas podrían deberse a la acumulación local y global del A β (Jack et al., 2008; Klupp et al., 2015; Mander et al., 2015; Mori et al., 2014).

La acumulación del A β en la PFCm correlaciona con cambios patológicos en las redes neuronales y en la memoria, incluso antes de la aparición de signos de neurodegeneración (Balleza-Tapia et al., 2010; Faucher et al., 2016; Hsieh et al., 2006; Salgado-Puga et al., 2015). Curiosamente, los deterioros específicos en la MT, especialmente en tareas que implican retrasos variables (intervalos intra-ensayos, ITIs por sus siglas en inglés) entre el aprendizaje y el recuerdo, pueden diferenciar entre la EA y otros tipos de demencia (Morris y Baddeley, 1988). Por ejemplo, los pacientes con deterioro cognitivo leve; que si bien es una patología asociada no todos los pacientes desarrollan EA (Kelley & Petersen, 2007; Nuvoli et al., 2022); no presentan daños en tareas de MT espacial con intervalos entre las fases de las tarea, lo cual si ocurre con pacientes EA que se encuentran en el estadio de Braak III (Hedayatjoo et al., 2023; Kessels et al., 2010). Además, en pruebas de MT con retraso, los pacientes con EA presentan menores puntajes en comparación con pacientes con demencia de cuerpos de Lewy (Kawai et al., 2013). Efectos similares también se han presentado en pacientes con demencia frontotemporal, quienes muestran deterioro en pruebas de MT solo cuando se presentaba una distracción, caso contrario de los pacientes con EA, que al momento del estudio habían cursado durante 4.5 años con síntomas

asociados a la EA, quienes muestran un deterioro profundo incluso sin retraso o distracción (Stopford et al., 2012).

Por otra parte, durante las etapas tempranas de la EA existe una reducción en el número de las sinapsis (Davies et al., 1987), alteraciones en los marcadores sinápticos (Poirel et al., 2018), cambios en la plasticidad sináptica (Kumar et al., 2019) y en la excitabilidad en la PFCm, que correlacionan con deterioros cognitivos y ejecutivos (Joseph et al., 2021).

Los pacientes con EA que además son portadores del alelo ApoEε4, que predispone a padecer la EA (Grady et al., 2001), muestran una reducción en la conectividad funcional entre el HP y la PFCm (Grady et al., 2001). El análisis de estado en reposo durante la obtención de imágenes de fMRI en pacientes con EA, demuestra una reducción en la conexión HP-PFCm, pero un incremento en la conexión entre el HP y la PFCm (L. Wang et al., 2006). Siendo este último fenómeno, posiblemente, un cambio compensatorio para reclutar mayor información (L. Wang et al., 2006). Análisis con teoría de grafos demuestran que hay una atenuación en la conectividad a larga distancia y una reducción en la eficiencia de la red global en los pacientes con la EA, conduciendo a deterioros cognitivos más generalizados (Y. Liu et al., 2014). Por otra parte, se observa un incremento en la conectividad dentro de la red intracortical de la PFCm en sujetos con la EA (Menon, 2013).

Las alteraciones en la PFCm presentadas en los pacientes con la EA, también se han descrito en modelos transgénicos de esta enfermedad (Lok et al., 2013; Zhuo et al., 2007). En este tipo de modelos, también se presentan cambios en los marcadores sinápticos (Pervolaraki et al., 2019) y modificaciones en la transmisión sináptica (Gu et al., 2003; Liu et al., 2011; Proulx et al., 2015). Por otro lado, se sabe que en estos modelos transgénicos hay una disminución en la coherencia de la banda theta entre el HP y la PFCm durante la fase de sueño REM (Zhurakovskaya et al., 2019). Aunado a estos cambios, hay una disminución en el poder de la banda gamma en el HP y en la PFCm, así como una disminución la coherencia en el circuito HP-PFCm en esta misma banda (Bazzigaluppi et al., 2017).

Las alteraciones a nivel celular en los modelos transgénicos de la EA se ven acompañadas de deterioros en comportamientos dependientes del PFCm (Shah et al., 2018;

Van den Broeck et al., 2019; Zhuo et al., 2007, 2008). Por ejemplo, los ratones Tg2576 presentan alteraciones en la MT y en la FC (Zhuo et al., 2007, 2008), que también se han observado en ratones APP/PS1-21 (Van den Broeck et al., 2019) y en ratones APPNL-F/NL-F (Shah et al., 2018). Estas alteraciones se correlacionan con cambios en el acoplamiento funcional entre la PFCm y el HP (Shah et al., 2018). Es importante considerar que la mayoría de los modelos transgénicos de la EA sobreproducen a la APP y, por lo tanto, estos pueden inducir cambios independientes del A β (Mondragón-Rodríguez et al., 2018; Pousinha et al., 2019; Xu et al., 2015), pues ya se mencionó que la vía amiloidogénica de degradación de la APP produce otros péptidos (Koukoulis et al., 2016; Thinakaran & Koo, 2008), que pueden tener efectos patológicos independientes a los del A β (Mondragón-Rodríguez et al., 2018; Pousinha et al., 2019; Xu et al., 2015).

Otra estrategia para reproducir los cambios generados por la EA en modelos murinos es infundir A β directamente en la PFCm (G.-J. Chen et al., 2013; Eslamizade et al., 2015; Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017; Gu et al., 2003; Haghani et al., 2012; Tyszkiewicz & Yan, 2005). Los experimentos *in vitro* han probado que la aplicación del A β en rebanadas de la PFC, generan cambios dependientes de la concentración en la excitabilidad de la PFC y su respuesta a diferentes neurotransmisores (Chen et al., 2013; Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017; Gu et al., 2003; Tyszkiewicz & Yan, 2005). Por ejemplo, la aplicación del A β en rebanadas de la PFC por un periodo de tiempo prolongado puede tener un efecto dual, ya que una concentración baja del A β (1nM) reduce la excitabilidad de las neuronas piramidales, incrementando el umbral de disparo y el postpotencial hiperpolarizante (AHP, por sus siglas en inglés). En cambio, concentraciones altas del A β (50 nM) genera el efecto inverso, reduciendo el umbral de disparo y el AHP, incrementando así la excitabilidad de las neuronas piramidales de la capa V de la PFCm (Y. Wang et al., 2009).

Estudios previos de nuestro grupo de investigación, han demostrado que, en preparaciones *in vitro* de la PFCm, la perfusión aguda del péptido A β ₁₋₄₂ reduce la actividad eléctrica poblacional espontánea en la PFC, mientras que reduce la amplitud de los

potenciales EPSP de campo (fEPSP, por sus siglas en inglés) evocados por la estimulación de las conexiones directas provenientes del HP (Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017).

A pesar de la gran cantidad de pruebas de que el A β tiene efectos directos sobre la PFC *in vitro*, no hay estudios relativos a sus efectos *in vivo* y la correlación de esos efectos con las funciones ejecutivas. Por lo tanto, en el presente estudio, se evaluaron los efectos del A β inyectado directamente en el PFCm (A β local) (Eslamizade et al., 2015; Haghani et al., 2012) o infundido globalmente en el cerebro mediante su administración intracerebroventricular (ICV) (Martínez-García et al., 2021; Stepanichev et al., 2003; L. Zhang et al., 2015), sobre las propiedades sinápticas e intrínsecas de las neuronal de la PFC y así como en los comportamientos dependientes de la PFCm.

2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La EA es la demencia más diagnosticada a nivel mundial y es la más frecuentemente asociada con el envejecimiento por lo que se prospecta que será uno de los problemas de salud más importante a nivel mundial en las próximas décadas (Rajan et al., 2021). El síntoma más conspicuo de la EA es el deterioro de la memoria a corto plazo, por lo que las alteraciones producidas por el péptido A β en el circuito hipocampal local han sido ampliamente estudiadas (Selkoe, 2011).

No obstante, durante las etapas tempranas del desarrollo de EA, se presentan problemas en las funciones ejecutivas (Guarino et al., 2018) como la MT (Huntley & Howard, 2010) y la FC (Salat et al., 2001), dichos cambios patológicos pueden ayudar a distinguir la EA de otros tipos de demencias (R G Morris & Baddeley, 1988). Se hipotetiza que las funciones ejecutivas residen en la PFCm, así como en sus interacciones con otras estructuras subcorticales como el HP (Diamond, 2013).

Si bien existen estudios que han mostrado el efecto del A β en la función de la PFCm (Eslamizade et al., 2015; Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017; Haghani et al., 2012), no se conoce el efecto crónico del péptido A β en la comunicación eléctrica y plasticidad sináptica en la vía HP-PFCm, así como el impacto de este péptido en tareas asociadas a este circuito como en la MT y la FC.

Dada la aparición temprana de síntomas asociados con el circuito HP-PFCm es importante estudiar el efecto del péptido A β en esta vía. En específico, es relevante estudiar cambios en la transmisión sináptica y su plasticidad, tanto en la vía proveniente del HP, así como en la vía intracortical. De igual manera es importante conocer los cambios generados por el péptido A β en tareas asociadas a la PFCm, como son tareas de MT y FC.

3 OBJETIVO GENERAL

Conocer el efecto del péptido $A\beta_{1-42}$ sobre la comunicación sináptica y la plasticidad de las vías HP-PFC e intracortical, así como el efecto del péptido en la resolución de tareas asociadas a la memoria de trabajo.

3.1 *Objetivos específicos*

- Estandarizar pruebas conductuales que permitan estudiar la memoria de trabajo y la flexibilidad cognitiva, así como el efecto del péptido $A\beta_{1-42}$ sobre las mismas.
- Caracterizar las alteraciones eléctricas en las neuronas piramidales de la PFCm tras la inyección del $A\beta_{1-42}$.
- Estudiar los cambios en la transmisión sináptica, y modificaciones en la plasticidad de corto y de largo plazos de las conexiones hipocampales e intracorticales de la PFCm después de la inyección del péptido $A\beta_{1-42}$.

4 HIPÓTESIS

- La administración global del péptido $A\beta_{1-42}$ reducirá el desempeño en la memoria de trabajo y reducirá la flexibilidad cognitiva.
- La administración local del péptido $A\beta_{1-42}$ reducirá en mayor medida el desempeño en la memoria de trabajo.
- La administración del péptido $A\beta_{1-42}$ modificará en las propiedades pasivas y activas de las neuronas piramidales de la región IL y PrL de la PFCm.
- Una inyección única del $A\beta_{1-42}$ alterará la plasticidad sináptica a corto y largo plazos, reduciendo ambos procesos en las sinapsis intracorticales y las provenientes del HP.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 *Animales*

Los experimentos fueron aprobados por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la UNAM y se realizaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana para el Uso y Cuidado de los Animales de Laboratorio (NOM-062-ZOO-1999). Se utilizaron ratas Wistar macho (5, 7 u 8 semanas de edad) (Fig. 8). Los animales se alojaron en grupos de 2-3 animales en jaulas de acrílico transparente y se mantuvieron en un bioterio con temperatura controlada ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) y bajo un ciclo normal de luz-oscuridad (12/12 h). Los animales recibieron comida y agua *ad libitum* antes del experimento. Durante la evaluación conductual, se restringió de agua a los animales durante 22 h. En los experimentos electrofisiológicos *ex vivo* se utilizaron ratas macho de 8 semanas al inicio del experimento, las cuales fueron mantenidas en condiciones idénticas a las previamente descritas.

5.2 *Administración del $A\beta_{1-42}$*

Para la administración del $A\beta_{1-42}$ o su vehículo (medio F12), los animales fueron anestesiados con una mezcla de Ketamina (80mg/kg) y Xilacina (9mg/kg) (University of Minnesota, 2018). El $A\beta_{1-42}$ se oligomerizó utilizando un protocolo descrito previamente (Balleza-Tapia et al., 2010; Hernández-Soto et al., 2019) en el que $A\beta_{1-42}$ se disuelve finalmente en medio de cultivo F12, lo cual permite la obtención de oligómeros (Hernández-Soto et al., 2019; Peña- Ortega et al., 2010). Después de verificar los niveles de anestesia adecuados, por la ausencia de reflejo plantar, los animales fueron colocados en un marco estereotáxico. A continuación, se realizó una pequeña craneotomía para la infusión del $A\beta_{1-42}$ o su vehículo (medio F12). El microinyector se construyó con una aguja de acero inoxidable conectada a una jeringa Hamilton (10 μl ; Hamilton Company) por medio de un tubo de plástico y la jeringa fue controlada por una bomba de microinfusión (WPI 220i). Se utilizaron las siguientes coordenadas para la infusión ICV (global): AP-0.7 mm, ML \pm 1-5 mm y DV 3.5 mm, con respecto a Bregma y a la superficie craneal (Paxinos & Watson, 2009). En estas coordenadas se microinyectaron 10 μl del $A\beta_{1-42}$ (100 pmoles/ μl) o 10 μl de medio F12 (vehículo) a una velocidad de 1 $\mu\text{l}/\text{min}$. Para la infusión en la PFCm (local), se microinyectó

bilateralmente un volumen 4 μl (0.5 $\mu\text{l}/\text{min}$) del $\text{A}\beta_{1-42}$ (o 4 μl de su vehículo) en las siguientes coordenadas: AP +3.2 mm, ML \pm 0.7 mm y DV -4.2 mm, con respecto a Bregma y la superficie craneal. El microinyector se recubrió con 1,1'-Dioctadecil-3,3,3',3'-tetrametilindocarbocianina perclorato (DiI; Invitrogen) 1% (p/v; en dimetilsulfóxido; Sigma-Aldrich) para teñir el tejido que lo rodeaba (Fig. 11; Méndez-Salcido et al., 2022). Tras la cirugía, los animales fueron tratados inmediatamente con Meloxicam (2 mg/kg), que se repitió durante los 2 días siguientes, para reducir la inflamación y el dolor. Se dejó a los animales en recuperación durante 14 días antes de cualquier manipulación experimental (Fig. 4).

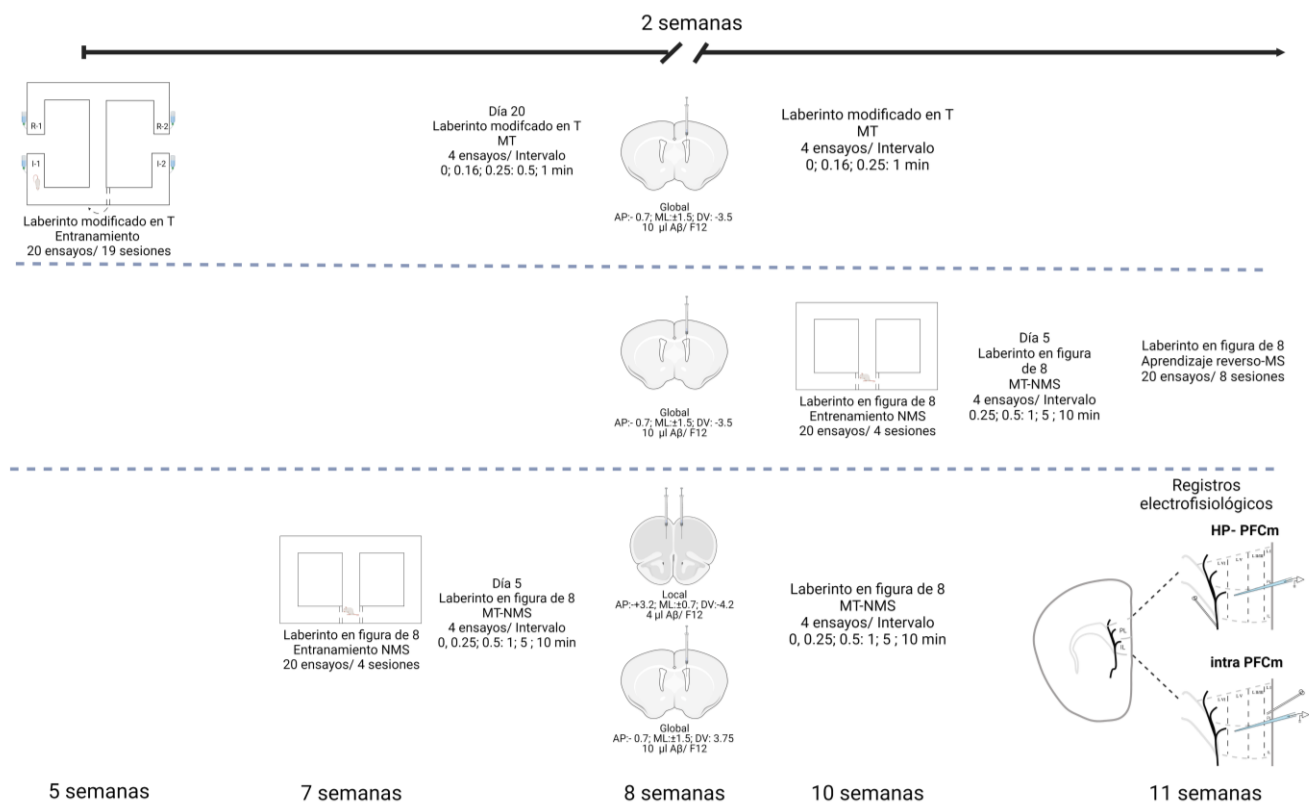


Fig. 8. Protocolo experimental.

Se muestra el protocolo experimental al que fueron sometidos los grupos de experimentación independientes de ratas macho Wistar con diferentes pruebas conductuales para la evaluación de la MT y la FC. También, se muestran los sitios de inyección del $\text{A}\beta_{1-42}$ (o medio F12), así como los sitios de registro y estimulación.

5.3 ***Inmunofluorescencia***

Dos semanas después de la inyección local del A β , las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital (70 mg / kg). En ausencia de reflejo plantar, los animales fueron perfundidos transcardialmente con una solución salina + solución amortiguadora de fosfatos (PBS, por sus siglas en inglés) fría (0.1 M) y, posteriormente, perfundidos con una solución de paraformaldehído (PFA) al 4% en PBS. Los cerebros se diseccionaron y post-fijaron en la misma solución de PFA 4% durante 24 h. Tras la post-fijación, los cerebros se dejaron en una solución de sacarosa al 30% hasta su precipitación. Se obtuvieron cortes coronales a nivel de la PFCm (30 μ m de grosor) con un criostato CM350S (Leica, Alemania). Las secciones se almacenaron en PBS 0.1 M a 4 °C. En flotación libre, los cortes fueron lavados tres veces, por 10 min con PBS 0.1 M. A continuación, los cortes se incubaron durante 1 h con una solución de bloqueo (2% de suero normal de burro (NDS) + 0.3% de Triton X-100 en PBS 0.1 M). A continuación, los cortes fueron sumergidos en una solución de incubación (1% de NDS + 0.2% de Triton X-100 en PBS 0.1 M) con un anticuerpo monoclonal de ratón contra A β ₁₋₄₂ (BAM-10, dilución 1:100, Sigma-Aldrich, Jordã et al., 2010; Orta-Salazar et al., 2019) durante 48 h a temperatura ambiente en agitación. Tras la incubación, los cortes se lavaron 3 veces con PBS 0.1 M durante 10 min y se volvieron a sumergir en la solución de incubación con el anticuerpo secundario (anti-mouse Alexa 488, 1:100, Molecular Probes) durante 2 h a temperatura ambiente. Por último, las rebanadas se lavaron 3 veces con 0.1 M PBS durante 10 min, se montaron en portaobjetos gelatinizados y se cubrieron con el medio de montaje Fluoromount-G con DAPI (Invitrogen). Las imágenes de epifluorescencia se obtuvieron con un microscopio Axiolmager (Zeiss) con un objetivo de 10X.

5.4 ***Paradigmas conductuales para la evaluación de la MT y la FC***

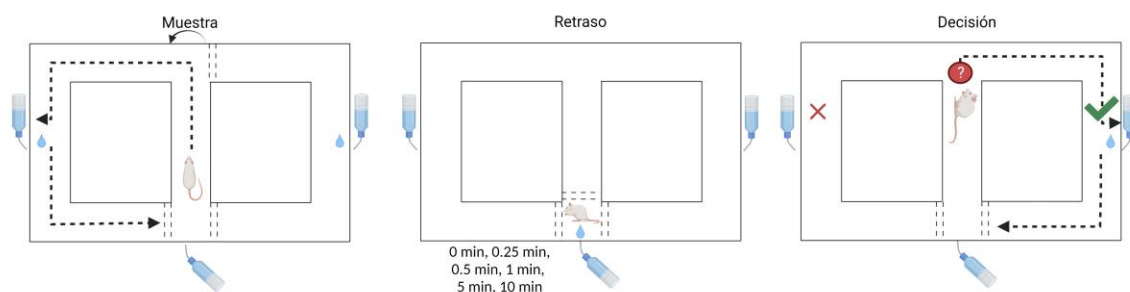
5.4.1 *Laberinto en Figura de 8*

Para estudiar la MT se utilizó un laberinto en Figura 8, hecho con acrílico negro de 4 mm de grosor y paredes de 6 cm de altura. El aparato constaba de un pasillo central y dos laterales de 90 cm de largo (13 cm de ancho), que estaban conectados por dos pasillos perpendiculares de 170 cm de largo. El laberinto estaba situado a 56 cm por encima del

suelo. A los animales se les restringió el agua durante 22 h y fueron habituados al laberinto durante 2 días. Este régimen de restricción de agua se mantuvo durante el resto del experimento. La tarea de la Figura de 8 (Fig. 10) incluía una fase de muestra y una fase de decisión. Para la fase de muestra, los animales comenzaban cada ensayo cruzando el corredor central hasta llegar al corredor perpendicular, donde una barrera removible les obligaba a girar hacia uno de los corredores laterales seleccionados al azar. En medio del corredor lateral, se les proporcionaba la muestra (una gota de agua de 50 μ l, como recompensa). Una vez obtenido el reforzador, los animales continuaban caminando por este corredor lateral hasta alcanzar el corredor perpendicular opuesto y regresar al punto de partida en el corredor central, donde los animales también eran recompensados, finalizando así el ensayo (Pedigo et al., 2006). Se colocaron barreras desmontables para regular el acceso a los distintos corredores.

Laberinto en figura de 8

No igualación a la muestra (NMS)



Igualación a la muestra (MS)

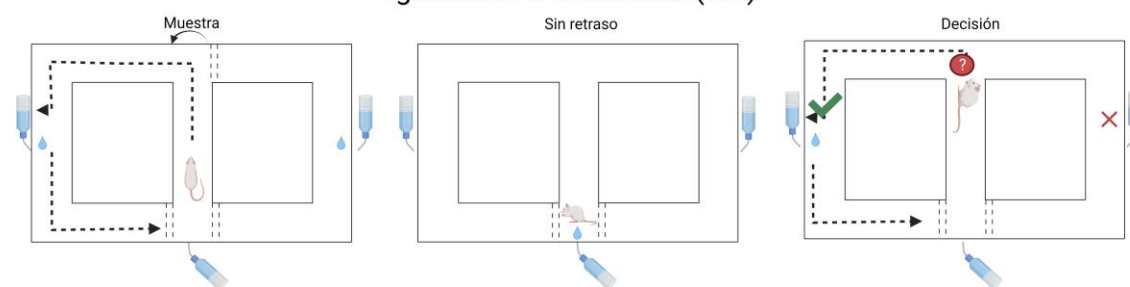


Fig. 9. Laberinto en Figura de 8

Se muestra el protocolo de igualación a la muestra (NMS) del laberinto en Figura de 8 con las diferentes fases que lo componen (panel superior) para medir la MT; así como el protocolo de igualación a la muestra (MS), con las diferentes fases que lo componen (panel inferior). El cambio entre protocolos permite estudiar la FC.

5.4.1.1 *Protocolo de no igualdad a la muestra*

Para la versión NMS de la tarea, los animales fueron entrenados para elegir el corredor contralateral al visitado previamente durante la fase de muestra, para recibir una recompensa (Pedigo et al., 2006). Después, los animales volvían al principio del corredor central para obtener un cuarto reforzador. Así, ratas Wistar macho de siete semanas de edad fueron entrenadas con este paradigma durante 20 ensayos por sesión (1 sesión = 1 día; Fig. 9), durante cuatro sesiones. El último día de entrenamiento (día 5), se mantuvo a los animales en la sección inicial del laberinto durante diferentes intervalos de retraso entre las fases de muestra y elección: 0.25 (15 s), 0.5 (30 s), 1, 5 y 10 min (4 ensayos cada uno; Fig. 9). El entrenamiento en este protocolo comenzó 14 días después de la infusión ICV con 10 μ l del $A\beta_{1-42}$ (n=8) o 10 μ l de medio F12 (control; n=9; Fig. 8).

Un grupo independiente de ratas Wistar macho de 7 semanas de edad (n=26) fue entrenado en la versión NMS de la tarea sin ITIs hasta obtener el 75% de respuestas correctas (RC) durante 4 días consecutivos. Al día siguiente, se presentaron intervalos de retraso entre las fases de muestra y elección. Tras el entrenamiento, los animales recibieron una infusión ICV (Control= 7 y $A\beta_{1-42}$ =8) o una microinyección intra-mPFC ($A\beta_{1-42}$ local; control= 6, $A\beta_{1-42}$ =5), como se describió previamente (Fig. 8). Tras dos semanas de recuperación de la cirugía, los animales fueron reentrenados con el protocolo NMS durante 5 días, durante los cuales se mezclaron aleatoriamente bloques de cuatro ensayos con diferentes ITIs (o sin retrasos) a lo largo de los días (Fig. 8).

5.4.1.2 *Protocolo de igualdad a la muestra (MS)*

Un grupo independiente de ratas Wistar macho de 10 semanas de edad que recibieron una microinyección ICV (Control= 6 y $A\beta_{1-42}$ = 6) fueron entrenadas en la versión NMS de la tarea (sin retraso) hasta obtener un 75 % de RC durante 4 días consecutivos. A continuación, para estudiar la FC, se sometió a los animales a un entrenamiento reverso durante 8 días, en el que se requería la regla de MS (es decir, volver al corredor ipsilateral durante la fase de elección) para recibir una recompensa (Dudchenko, 2004; Fig. 10).

5.4.2 *Laberinto modificado en T*

Como segunda tarea para estudiar la MT se utilizó un laberinto modificado en T, el cual por su tamaño y protocolo de MS, presenta una mayor demanda cognitiva (Jones & Wilson, 2005b). El laberinto modificado en T está hecho de acrílico negro y cuenta con dos cajones de inicio (I-1 e I-2) conectados por un pasillo central y dos cajones de reforzamiento (R-1 y R-2), con un largo de 174 cm y 174 cm de ancho (ancho de pasillos 13 cm), con una distancia al piso de 56 cm. Las paredes del laberinto eran de 6 cm de altura y 4 mm de grosor (Jones & Wilson, 2005a).

Ratas macho Wistar de 5 semanas (n=16) se restringieron de agua durante 22 h y fueron habituadas al laberinto durante 2 días. La restricción de agua se mantuvo a lo largo de todo el experimento. Los animales fueron entrenados en un protocolo de MS (Fig.9). Al inicio de la fase de muestra se colocaron a los animales en uno de los cajones de inicio, sin permitir el paso hacia el cajón de inicio contralateral. A continuación, en la fase elección, los animales debían caminar por el pasillo central para dirigirse a algún cajón de reforzamiento. Si los animales elegían el cajón de reforzamiento ipsilateral al cajón de inicio, eran recompensados con 1 gota de agua (50 μ l) y se consideraba como un acierto producto de una buena memoria. Obtenido este reforzador, comenzaba la fase de giro forzado donde se permitió al animal regresar al pasillo central y se le obligó a regresar a alguno de los cajones de inicio, en donde se obtiene un segundo reforzador, finalizando el ensayo. La fase de giro forzado permite separar el componente motor, del componente de la MT (Jones & Wilson, 2005). Se entrenó a las ratas con 20 ensayos por día hasta obtener el 80 % de ensayos correctos durante al menos 3 días consecutivos.

Laberinto modificado en T

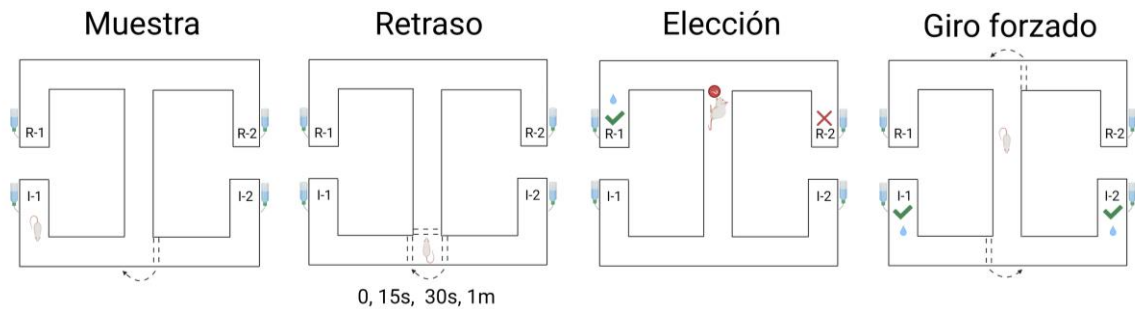


Fig. 10. Laberinto modificado en T.

Se muestran las diferentes fases del laberinto modificado en T (Jones & Wilson, 2005). Durante la fase de muestra se coloca en uno de los cajones iniciales (I-1 o I-2) sin tener paso al cajón de inicio contralateral. Durante la fase de retraso se contiene al animal al inicio del pasillo central con diferentes intervalos; pasado este retraso se permite al animal hacer una elección a fin de obtener un reforzador (cajón R1 o R-2). Para finalizar el ensayo el animal debe regresar a alguno de los cajones de inicio.

Durante el último día de entrenamiento, se presentaron diferentes intervalos de retención entre la fase de muestra y la de elección. Durante la fase de retraso, los animales eran contenidos en la primera mitad del pasillo central por intervalos de 0.16 (10 s), 0.25(15 s), 0.5(30 s) y 1 min. Al término del intervalo de retraso, se permitió que los animales entraran a la fase de elección. Si la ejecución era correcta se permitió que continuaran con la tarea hasta obtener el segundo reforzador. Estos intervalos fueron incorporados a la prueba a fin de medir la labilidad o persistencia de la MT (Dudchenko, 2004).

Concluido el entrenamiento, se permitió que los animales regresaran a un régimen de consumo de agua y alimento *ad libitum*, por dos días, para después ser infundidos globalmente (ICV) con vehículo (control, n=8) o el péptido $A\beta_{1-42}$ (n=8). Pasados 14 días, las ratas regresaron al régimen de restricción de agua previamente descrito. En las 2 semanas subsiguientes, se reentrenó a los animales en el laberinto modificado en T para conocer el impacto del péptido $A\beta_{1-42}$ sobre la MT. Durante el reentrenamiento, los animales tenían que ejecutar ensayos simples (sin intervalo de retención durante la fase de elección) y ensayos con intervalos de retraso previamente descritos, intercalados por bloques aleatorios. Durante el periodo de entrenamiento y reentrenamiento se contabilizó el porcentaje de RC.

5.4.3 *Evitación pasiva*

Por último, para comprobar el efecto del péptido A β ₁₋₄₂ sobre la consolidación de memorias nuevas (Salgado-Puga, 2017); los animales estudiados fueron sometidos a un paradigma de evitación inhibitoria (Stepanichev et al., 2003). Dicho paradigma consiste en que la rata aprenda a evitar un choque eléctrico en un compartimento oscuro, aunque esto signifique permanecer en un área iluminada (Jarvik & Kopp, 1967). El aparato consiste en una caja de dos compartimentos, uno con luz y otro oscuro, divididos por una puerta central tipo guillotina. El piso del cuarto oscuro puede producir una descarga eléctrica para producir un choque en las patas de las ratas. La tarea consta de 3 fases experimentales. Una fase habituación, en la cual los animales pueden explorar solo el compartimento iluminado por 30 s, al término de este periodo la puerta es abierta y se contabiliza la latencia de paso al compartimento oscuro. En la fase de choque, la rata se coloca en el compartimento iluminado durante 30 s, después se abre la puerta central y se registra la latencia de paso hacia el compartimento oscuro. Una vez que la rata ha cruzado, se cierra la compuerta y, 2 s después, recibe un choque eléctrico de 0.8 mA de intensidad (Grass-Instruments Co., modelo S48) (Salgado-Puga et al., 2017). Durante la fase de prueba, el animal es colocado en el compartimento iluminado y después de 30 s la compuerta es abierta. Se contabiliza la latencia de paso (retención) al compartimento oscuro. Se considera que una rata aprendió si se alcanzaba la latencia de paso máxima (150 s) (Jarvik & Kopp, 1967).

5.5 ***Obtención de las rebanas de PFCm que incluyen la entrada del HP***

Para los registro de *patch clamp* se utilizaron animales de 10 semanas de edad infundidos global y localmente con A β ₁₋₄₂ y medio F12 (vehículo), se obtuvieron rebanadas coronales de la PFCm que contenían las fibras aferentes del HP (Fig. 8, Parent et al., 2010). Esta preparación permite estudiar diferentes entradas a la PFC (Parent et al., 2010), incluyendo el haz HP-PFC (Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017; Parent et al., 2010), así como las entradas intracorticales (Parent et al., 2010). Las rebanadas se obtuvieron cuando los efectos del A β ₁₋₄₂ ya están bien establecidos (Fig. 8; Alcantara-Gonzalez et al., 2019; Alvarado-Martínez et al., 2013; Salgado-Puga et al., 2017).

Para ello, las ratas fueron anestesiadas intraperitonealmente con una dosis letal de pentobarbital sódico (150mg/kg) (University of Minnesota, 2018). Ante la ausencia de reflejo plantar, las ratas fueron perfundidas transcárdialmente con una solución neuroprotectora de sacarosa fría que contenía (en mM): 75 sacarosa, 25 glucosa, 25 NaHCO₃, 2.5 KCl, 78 NaCl, 1.25 NaH₂ PO₄, 0.5 CaCl₂, 7 MgCl₂ (Bischofberger et al., 2006) continuamente burbujeada con carbógeno (95% O₂, 5% CO₂). A continuación, las ratas se decapitaron, el cerebro extraído y sumergido en una solución neuroprotectora helada y burbujeada con carbógeno. Se seccionó el cerebelo y los hemisferios se unieron con cianoacrilato a un bloque inclinado (10-12°) de agar (Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017; Parent et al., 2010). Se obtuvieron cortes de la PFCm de 385 µm de grosor, utilizando un vibratomo (HM-650-V, Thermo Fisher, EE.UU., o VT1000S, Leica, Alemania), mientras el tejido se sumergía en solución neuroprotectora helada y burbujeada con carbógeno. Sólo los cortes que contenían el haz hipocampal (Parent et al., 2010), se conservaron y se transfirieron a una solución de recuperación (mM): 125 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂ PO₄, 25 NaHCO₃, 10 glucosa, 1 CaCl₂, y 4 MgCl₂ a 34 °C durante 30 min y luego se dejaron a temperatura ambiente durante al menos 1 h (Bischofberger et al., 2006).

5.6 ***Registro de células con la técnica de Patch Clamp***

Al final del periodo de recuperación, se transfirió un corte de PFCm a una cámara sumergida con líquido cefalorraquídeo artificial (LCRA) circulante que contenía (en mM): 125 NaCl, 2.5 KCl, 1,25 Na₂ HPO₄, 25 NaHCO₃, 2 CaCl₂, 2 MgCl₂, y 10 glucosa, mantenida a 33-34°C y burbujeado continuamente con carbógeno. Las células piramidales de la capa V de las áreas IL y PL se identificaron visualmente con iluminación de contraste de interferencia diferencial en un microscopio E-600FN-Nikon. Las neuronas se registraron en una configuración de célula completa con pipetas de borosilicato con una resistencia de 3-6 MΩ y llenas de una solución interna que contenía (en mM): 120 gluconato de potasio, 10 KCl, 10 HEPES, 1 MgCl₂, 0.05 EGTA, 0.3 LiGTP, 2 Na₂ ATP (Debanne et al., 1996). Los registros en fijación de corriente o de voltaje se amplificaron y filtraron a 10 kHz con un

amplificador Axopatch 200b (Molecular Devices, EE. UU.). La señal se digitalizó a 30 kHz (Digidata 1550, Molecular Devices, EE. UU.).

En la configuración de fijación de corriente, se obtuvieron curvas estándar de corriente/voltaje (I/V) y corriente/frecuencia (I/F) utilizando pulsos de corriente cuadrados de 1 segundo de duración a 0.2 Hz, para determinar las propiedades pasivas y activas de las células piramidales. Para la curva I/V, se inyectó corriente para mantener el potencial de membrana a -70 mV y se aplicaron pulsos cuadrados de corriente desde -250 pA, en pasos de 25 pA, hasta alcanzar el umbral de disparo. Para la curva I/F, con el potencial de membrana mantenido a -70 mV, se aplicaron pulsos de corriente despolarizante de intensidad creciente (de 50 a 500 pA, en pasos de 50 pA) (Peña-Ortega et al., 2010; Vargas-Barroso et al., 2016).

En el modo de fijación de voltaje, se registraron las corrientes postsinápticas espontáneas (sPSCs, por sus siglas en inglés) durante 3 min con un potencial de -70 mV. Tras caracterizar las propiedades de las células, se aplicaron pulsos de corriente extracelular de 100 μ s de duración, a 0.03 Hz, con un electrodo bipolar situado en el haz hipocámpal o en la capa I de la PFCm para evocar corrientes postsinápticas excitadoras (EPSCs, por sus siglas en inglés; Fig. 8). La activación del haz HP-PFC da lugar a un patrón de actividad de las neuronas de la PFCm distinto al que se induce por la estimulación de la capa superficial I (Parent et al., 2010; Fig. 8). El umbral de estimulación se estableció como la corriente de estimulación mínima necesaria para evocar un EPSC diferenciable del ruido en el 50 % de las estimulaciones y se determinó en cada una de las rebanadas (Salgado-Puga et al., 2017). Las curvas de entrada-salida (I-O, por sus siglas en inglés) se obtuvieron incrementando la intensidad de estimulación, en múltiplos de la corriente umbral, hasta alcanzar la amplitud máxima. Para evaluar la plasticidad sináptica a corto y largo plazos, se ajustó la intensidad de la estimulación para inducir un EPSC con una amplitud del 30 al 50 % de la respuesta sináptica máxima (Salgado-Puga et al., 2017). La plasticidad a corto plazo se evaluó aplicando trenes de cinco estímulos a diferentes frecuencias (5, 10, 20 y 50 Hz; Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017). Para la LTP, tras 5 min de registro basal, se aplicó estimulación tetánica (HFS; 3 trenes de 100 pulsos a 100 Hz con un intervalo entre trenes

de 10 s) y se continuaron los registros postetánicos durante 45 min con las mismas características de estimulación a las aplicadas previo al *tétanus* (Herry & Garcia, 2002; Salgado-Puga et al., 2017).

5.7 **Análisis de datos**

5.7.1 *Análisis de la conducta*

Todos los ensayos en el laberinto modificado en T, en el laberinto en Figura de 8 y en la prueba de evitación pasiva se grabaron en video y se almacenaron en una computadora personal con una cámara web (Logitech C920) para su análisis *off-line*.

En el laberinto modificado en T, al ser un protocolo de entrenamiento de MS, las RC se definieron como el visitar el cajón R que fuera ipsilateral al cajón I durante la fase elección. Para el laberinto en Figura de 8 durante el protocolo de NMS, las RC se definieron como las visitas al pasillo contralateral durante la fase de elección en la tarea o como las visitas al pasillo ipsilateral durante la fase de elección en el protocolo MS. Las mediciones de ambos laberintos se presentan como el porcentaje de RC.

Para el análisis de la prueba de evitación pasiva, se contabilizó la latencia de paso(s) del compartimiento iluminado al compartimiento oscuro en las diferentes fases de la tarea.

5.7.2 *Análisis de los registros electrofisiológicos*

Los registros de patch-clamp se analizaron *off-line* con Clampfit v.10 (Molecular Devices, USA). La resistencia de entrada (R_n) se calculó como la pendiente de la porción lineal de la curva I/V. La constante de tiempo se calculó ajustando una función exponencial a la respuesta capacitiva en dos puntos adyacentes al paso de 0 pA (Armenta-Resendiz et al., 2018). Para el sag, se calculó la diferencia absoluta entre la hiperpolarización constante (tardía) y la mayor disminución de voltaje (temprana) durante el paso de -250 pA (Armenta-Resendiz et al., 2018). La corriente rehobase se definió como la corriente mínima necesaria para provocar al menos un potencial de acción (PA). El potencial posthiperpolarizante rápido (AHPf, por sus siglas en inglés) se midió como el potencial negativo máximo tras el primer PA en la corriente rehobase. (Armenta-Resendiz et al., 2018). El componente lento

del AHP (AHPs, por sus siglas en inglés) se midió como el máximo potencial negativo después de un tren de disparos evocado tras una despolarización de 200 pA (Wu et al., 2016). La frecuencia de disparo se definió como el número de PAs durante un pulso cuadrado de 1 segundo de duración. Las sPSCs se identificaron con una plantilla supervisada manualmente con al menos 10 trazos representativos y un umbral de corriente de 0.5 pA (Lara-Valderrábano et al., 2017). La adaptación de la frecuencia de disparo se midió en los trenes de disparo evocados por una inyección de corriente de 400 pA, midiendo la constante de tiempo (τ_{Adapt}) con una función exponencial simple ajustada a la frecuencia de disparo instantánea en el tiempo (Villanueva-Castillo et al., 2017). También, se calculó el factor de atenuación (f_{adapt}) como $f_{\text{adapt}} = (f_0 - f_{\text{SS}}) / f_0$ donde f_0 es la frecuencia de disparo inicial y f_{SS} es la frecuencia de disparo en estado estacionario (Gabbiani y Krapp, 2006). Para las EPSC inducidas durante los protocolos de estimulación a corto plazo, se midió su amplitud y se normalizó con respecto a la amplitud de la primera respuesta del tren (establecida como 100%). Para los experimentos de LTP, la amplitud de la EPSC se midió durante el periodo basal y se fijó como 100%, mientras que la amplitud durante el periodo post-tetánico se normalizó como el porcentaje de la amplitud basal (Salgado-Puga et al., 2017).

5.8 **Estadística**

Los datos se analizaron con GraphPad Prism (GraphPad Software V.8, San Diego, CA). Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para definir la normalidad de la distribución de los datos y el posterior uso de pruebas paramétricas o no paramétricas para las comparaciones de datos. Para todas las comparaciones entre dos grupos, se utilizó la prueba t de Student o la U de Mann-Whitney según lo definido por la prueba de normalidad. Para los análisis que requerían comparaciones múltiples, se aplicó un ANOVA de modelo mixto con *post-hoc* de Bonferroni. La mayoría de los datos se ajustaron a una función logarítmica simple de una fase flanqueada por una regresión en meseta. De este análisis se extrajeron los parámetros tau y R^2 . Las curvas ajustadas se compararon con la prueba U de Mann-Whitney. Para el análisis de la adaptación de la frecuencia de disparo, se ajustó una función de decaimiento

exponencial simple. Para las curvas I-O y los experimentos de plasticidad a corto plazo, se ajustó una función agonista-respuesta logarítmica y una curva de unión hiperbólica, respectivamente. En ambos casos se reportó el parámetro R^2 . Cualquier otro análisis se describirá según sea necesario. En todas las pruebas estadísticas se asumió significancia al encontrar una $p \leq 0.05$. La existencia de diferencias significativas se representará en las gráficas como: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

6 RESULTADOS

6.1 *Acumulación del A β ₁₋₄₂ tras su infusión*

La infusión del A β ₁₋₄₂ replica varios de los síntomas asociados a la EA (Benarroch, 2018; Salgado-Puga et al., 2017), por lo que se estudió el efecto de la infusión local (intra PFCm) o global (ICV) de este péptido. Con el fin de corroborar la presencia del A β en la PFCm varias semanas después de su administración, se realizó una inmunofluorescencia utilizando el anticuerpo BAM-10 como marcador del A β (Jordã et al., 2010; Orta-Salazar et al., 2019). Dos semanas después de su infusión local, se observa que el A β se encuentra en el sitio de la inyección (marcado con Dil; Fig. 11B), y tiene la capacidad de alcanzar otras regiones, como lo es el sitio de registro (aproximadamente 1 mm posterior al sitio de inyección (Fig. 11D)). Por su parte, en los animales inyectados con medio F12 (Control) no se encontró presencia del A β ni en el sitio de inyección (Fig. 11A) ni en el sitio de registro (Fig. 11C).

En cuanto a la administración ICV (global), en el presente trabajo no se realizaron comprobaciones histológicas de la difusión de A β , sin embargo datos de otros grupos de investigación han demostrado que una sola inyección de A β ₁₋₄₂ es capaz de incrementar los niveles de A β en la PFC (Bergin et al., 2015b; Ledezma et al., 2021, 2022), el HP (Bergin et al., 2015b; Nag et al., 1999; Navigatore Fonzo et al., 2021) y otras regiones cerebrales (Cortez et al., 2022; Martínez-García et al., 2021).

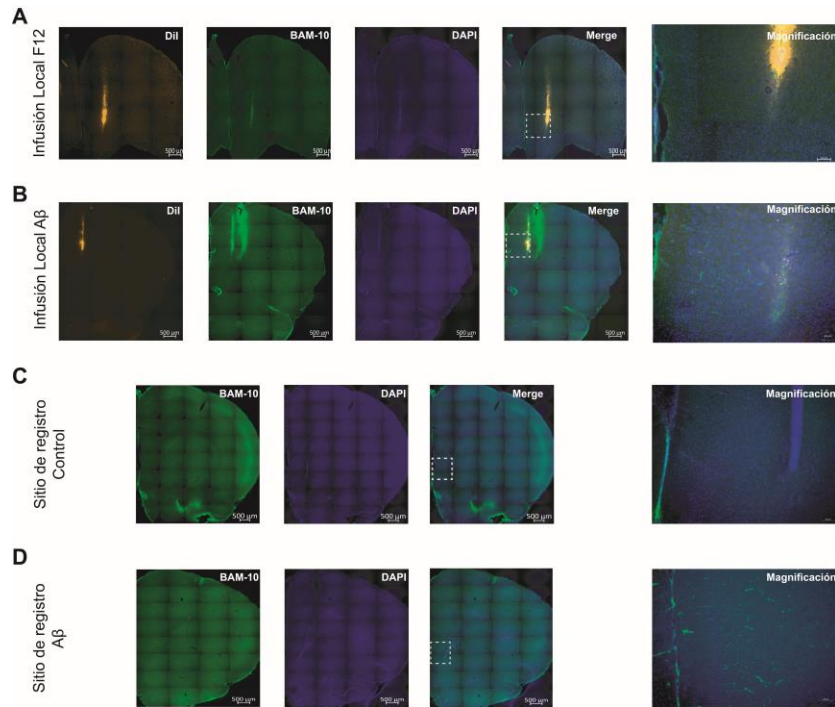


Fig. 11. Verificación histológica del sitio de inyección y acumulación del A β

Los microinyectores fueron recubiertos con Dil para conocer su trayectoria una vez insertos en el tejido. Se realizó una inmunotinción con el anticuerpo BAM-10 para revelar la acumulación del péptido A β mientras que los núcleos celulares fueron teñidos con DAPI. Se obtuvieron rebanadas alrededor del sitio de inyección del A β (B) y del vehículo (A). También se realizaron inmunotinciones adyacentes al sitio de registro tanto en los animales controles (C) como en sujetos experimentales (A β , D). Las ampliaciones del lado derecho, tomadas de los recuadros punteados, muestran la presencia de tinción de BAM-10 en animales del grupo A β , pero no en los controles

6.2 Efecto de la infusión global y local del A β_{1-42} en el aprendizaje y la memoria contextuales

Como parte de los controles positivos y con el fin de corroborar que el A β_{1-42} bloquea la consolidación de memorias nuevas (Stackman et al., 2003), los animales infundidos ICV (control n= 26; A β global n = 27) o intra PFCm (control n=6; A β local n=6) fueron sometidos a la prueba de evitación inhibitoria (Stepanichev et al., 2003). Durante las fases de habituación y choque las latencias de paso fueron muy similares, sin importar el sitio de infusión del vehículo o el A β_{1-42} (Habitución: control global= 21.6 \pm 3.44 s; A β global =22.93 \pm 2.94s; control local= 17.33 \pm 4.01 s; A β local =11.66 \pm 2.97s. Choque: control global= 12.25 \pm 1.43 s; A β global =12.76 \pm 2.18s; control local= 11.66 \pm 1.92 s; A β local =13.50 \pm 2.26s).

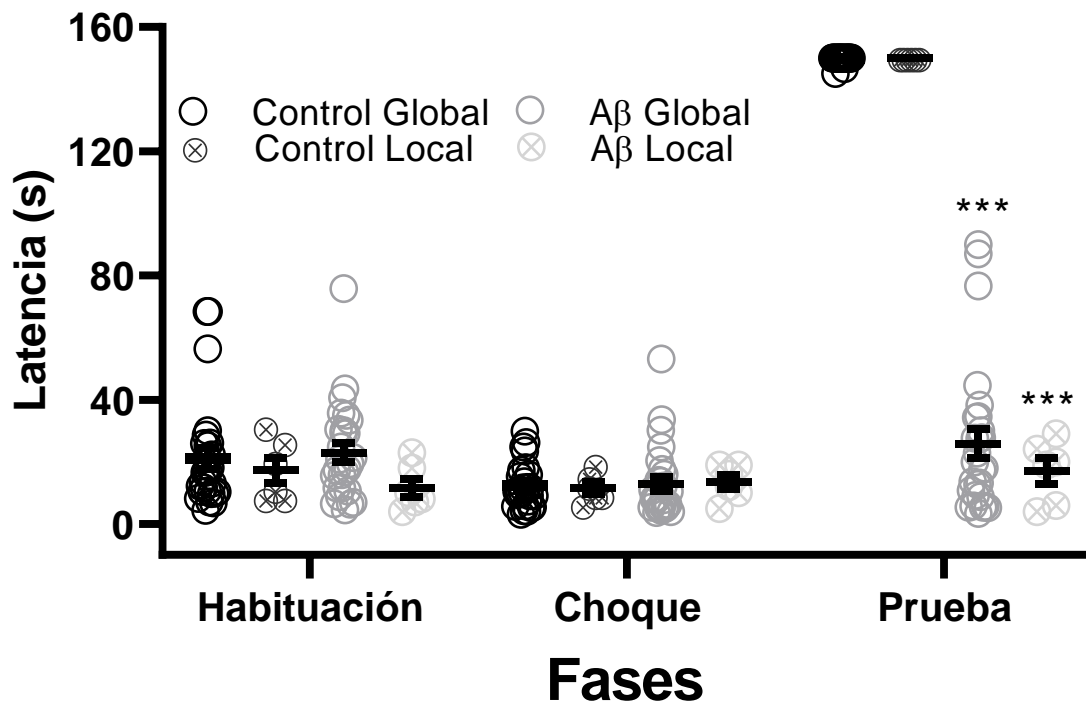


Fig. 12. Efecto de la infusión del Aβ sobre el aprendizaje y la memoria contextual.

La inyección del Aβ global o local no modifica el desempeño durante las fases de habituación y choque en la tarea de evitación pasiva, sin embargo, impacta en la memoria contextual, observada como una reducción en la latencia de paso durante la fase de prueba sin importar el lugar de infusión [ANOVA de Modelo mixto, fase: $F(2,122) = 312.0$, $p = 0.001$; grupo: $F(3,61) = 173.1$, $p = 0.001$; fase X grupo $F(6,122) = 139.2$, $p = 0.001$, *post-hoc* de Bonferroni]. Los datos se presentan individualmente, así como la media \pm EE

Sin embargo, durante la fase de prueba los grupos Aβ global tiene una reducción significativa en la latencia de paso (25.75 ± 4.64 s) al compartimiento oscuro comparada con el grupo control global (149.68 ± 0.22 s; prueba de comparaciones múltiple de Bonferroni, $t(183) = 32.53$, $p = 0.0001$) y el grupo control local (150 ± 0 s; prueba de comparaciones múltiple de Bonferroni, $t(183) = 19.86$, $p = 0.0001$). Un escenario similar se presentó al comparar las latencias del grupo Aβ local (17.00 ± 4.06 s) con el vehículo global (prueba de comparaciones múltiple de Bonferroni, $t(183) = 21.13$, $p = 0.0001$) y el vehículo intra-PFCm (t de Student, $t(183) = 16.63$, $p = 0.0001$). Si bien existe una tendencia de mayor impacto del Aβ₁₋₄₂ en el grupo infundido intracorticalmente, estos resultados no fueron diferentes estadísticamente [ANOVA de Modelo mixto, fase: $F(2,122) = 312.0$, $p = 0.001$;

grupo: $F(3,61) = 173.1$, $p = 0.001$; fase X grupo $F(6,122) = 139.2$, $p = 0.001$, *post-hoc* de Bonferroni; Fig. 12].

Resultados similares ya han sido reportado por nuestro grupo de investigación (Salgado-Puga et al., 2015, 2017) y es consistente con los resultados de diversos grupos de investigación que demuestra que el $A\beta_{1-42}$ interfiere con la consolidación de aprendizajes contextuales y la memoria a largo plazo (Borlikova et al., 2013; Comery et al., 2005; Dineley et al., 2010; Kittelberger, Piazza, Tesco, & Reijmers, 2012; Nakamura, Murayama, Noshita, Annoura, & Ohno, 2001; Yamaguchi et al., 2006).

6.3 Efecto de la inyección global del $A\beta_{1-42}$ sobre la MT, la FC y la actividad eléctrica de la PFCm

6.3.1 La infusión del $A\beta_{1-42}$ disminuye la MT y la FC

Durante las etapas tempranas de la EA hay fallas en diversas funciones ejecutivas, como lo son la MT y la FC (Joseph et al., 2021; Robin G. Morris, 1994; Shah et al., 2018). En el presente trabajo, estudiamos los efectos del péptido $A\beta_{1-42}$ sobre la MT en dos paradigmas conductuales que implican diferentes grados de dificultad, como lo son el laberinto modificado en T (Jones & Wilson, 2005b) y el laberinto en Figura de 8 (Baeg et al., 2007; Pedigo et al., 2006).

6.3.1.1 La inyección global (ICV) del $A\beta_{1-42}$ reduce la MT en el laberinto en Figura de 8

Primeramente, los animales fueron entrenados en la versión NMS del laberinto en Figura de 8 (Pedigo et al., 2006), aprendiendo fácilmente la regla y mejorando su rendimiento del 89% RC (alternancias) durante el primer día de entrenamiento al 100% de RC el quinto día ($n=26$; Fig. 13A). Al ajustar una función logarítmica flanqueada por una meseta ($R^2 = 0.9$) a los datos, incluyendo un 50% teórico de respuestas correctas el día cero, se reveló una tau de 0.6 días (Fig. 13A, inserto), con lo que se concluye que los animales pueden adquirir fácilmente la regla de NMS en el laberinto en Figura de 8.

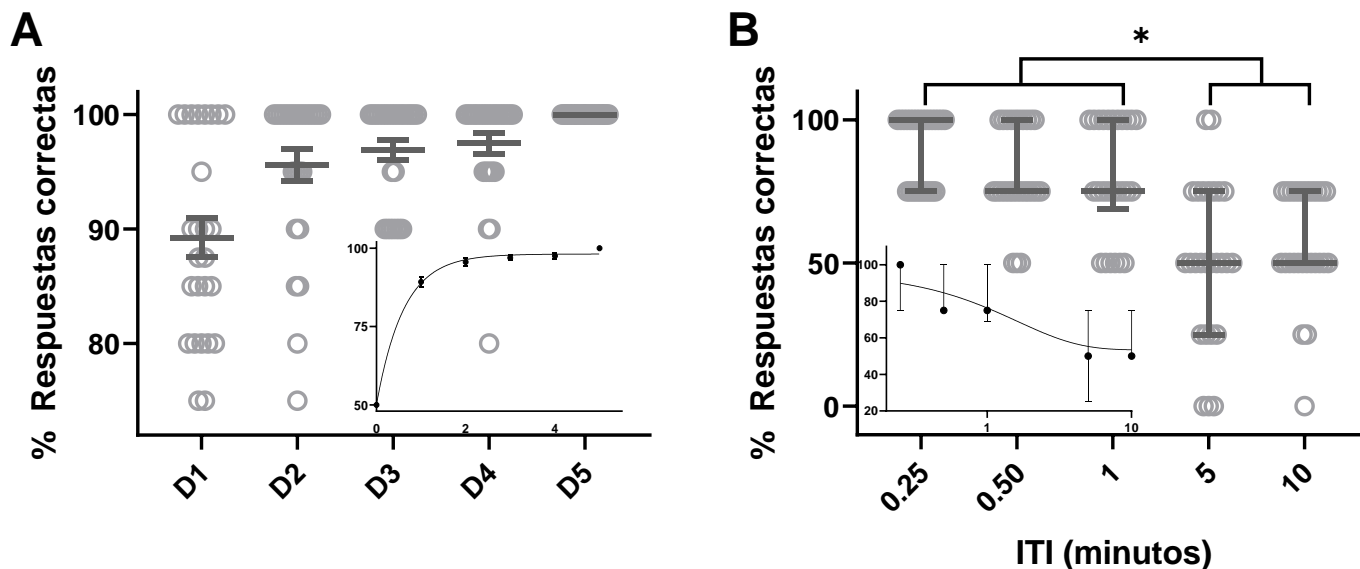


Fig. 13. Aprendizaje de la regla de NMS en el laberinto en Figura de 8 y evaluación de la MT.

A) Curva de aprendizaje de la regla NMS, sin retraso, representada como la proporción de RC. *Inserto.* Ajuste a la media de RC con una función de decaimiento logarítmico de una fase flanqueado por una meseta. **B)** Evaluación de la MT mediante la incorporación de ITIs variables entre las fases de muestra y elección. Obsérvese que en los retrasos más largos se produce una reducción de las RC (Kruskal-Wallis $k=50.11$, $p=0.0001$; *post-hoc* de Dunn). *Inserto.* Media de las RC ajustadas a una función de decaimiento logarítmico de una fase flanqueado por una meseta. Los datos agrupados se presentan individualmente, así como media \pm EE (**A**) o como mediana \pm rango intercuartilar (**B**)

En el quinto día, probamos la MT en estos animales introduciendo ITIs variables, los animales redujeron significativamente su rendimiento a 90, 82, 80, 50 y 57 % de respuestas correctas con los ITIs de 0.25, 0.5, 1, 5 y 10 min, respectivamente (Fig. 13B). Los ITIs más largos (5 y 10 min) redujeron significativamente el rendimiento en esta tarea en comparación con los retrasos más cortos (Kruskal-Wallis, $k=50.11$, $p=0.0001$, *post-hoc* de Dunn; Fig. 13B). El ajuste de una función exponencial flanqueada por una meseta al rendimiento durante los ensayos retrasados ($R^2=0.4$) reveló una tau de 1.6 min (Fig. 13B inserto).

Para caracterizar los efectos del $A\beta_{1-42}$ sobre el aprendizaje y la MT en el laberinto en Figura de 8, se evaluó el desempeño de los animales inyectados ICV con $A\beta_{1-42}$ ($A\beta$ global, $n=9$) o su vehículo (control, $n=8$); mostrando que la aplicación del $A\beta$ global retrasó ligeramente el aprendizaje de la versión NMS del laberinto Figura-8 [ANOVA de Modelo mixto, día: $F(4,32)=28.88$, $p=0.001$; grupo: $F(1,8)=6.847$, $p=0.03$; día X grupo $F(4,22)$

=4.313, $p=0.01$, *post-hoc* de Bonferroni; Fig. 14A]. Por ejemplo, el primer día de entrenamiento, el grupo A β global exhibió un porcentaje de RC (79 %) significativamente menor que el del grupo de control (90 %; *post-hoc* de Bonferroni, $t = 4.41$ $p = 0.0001$). Además, el tau exhibido en las curvas de decaimiento de una fase para el grupo del A β global (0.9 días) fue más dos veces mayor que el del grupo de control (0.4 días; U de Mann-Whitney, $U = 39$, $p = 0.001$; Fig. 14A, inserto). A pesar de las diferencias en el aprendizaje inducidas después de la inyección global del A β_{1-42} durante el primer día de entrenamiento, los grupos control y A β global alcanzaron puntuaciones perfectas al final de sus periodos de entrenamiento (100 % de RC en el quinto día de entrenamiento; Fig. 14A).

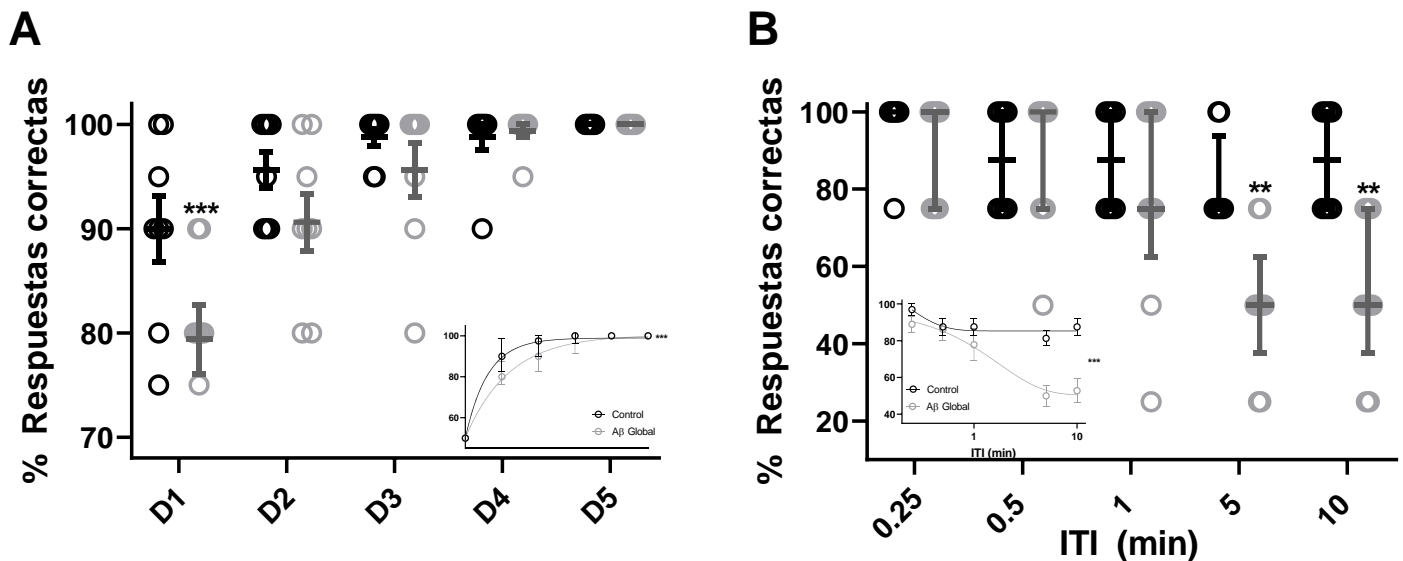


Fig. 14. El A β global reduce el aprendizaje y la MT en el laberinto en Figura de 8.

A) Curva de aprendizaje de la regla NMS sin retraso en animales inyectados ICV con A β_{1-42} o su vehículo (control), representada como el porcentaje de RC (Modelo mixto ANOVA, día: $F(4,32) = 28,88$, $p = 0.001$; grupo: $F(1,8) = 6.847$, $p = 0.03$; día X grupo $F(4,22) = 4.313$, *post-hoc* de Bonferroni) **Inserto.** Ajuste logarítmico de una fase flanqueado por una meseta de la media de RC (U de Mann-Whitney, $U = 39$, $p = 0.0001$). **B)** Evaluación de la MT en ensayos con ITIs entre las fases de muestra y elección en ambos grupos. Obsérvese que A β_{1-42} redujo las RC (U de Mann-Whitney; 5 min $U = 6$, $p = 0.0015$; 10 min $U = 6$, $p = 0.0023$). **Inserto.** Ajuste de una función de decaimiento logarítmico de una fase flanqueado por una meseta de las RC medias (U Mann-Whitney, $U = 46$, $p = 0.0001$). Los datos se presentan individualmente, así como media \pm EE (**A**) o como mediana \pm rango intercuartilar (**Inserto A y B**)

En el quinto día, también se probó la MT en los sujetos experimentales introduciendo ITIs variables, mostrando que el desempeño del grupo A β global se redujo significativamente cuando el retraso entre las fases de muestra y elección fue de 5 min (50 % de RC frente al 83 % de RC del grupo control; U de Mann-Whitney, U= 6, p = 0.001; Fig. 14B). Del mismo modo, el rendimiento del grupo A β global se redujo significativamente cuando el ITI entre la muestra y elección fue de 10 min (53 % de RC frente al 88 % de RC del grupo de control; U de Mann-Whitney, U = 6, p = 0.002; Fig. 14B). El ajuste de una función de decaimiento de una fase para los ensayos con ITIs para los grupos A β global y control (R^2 =0.13 y 0.44, respectivamente) reveló una tau significativamente más larga en el grupo A β global (1.75 min) que en el grupo control (0.16 min; U de Mann-Whitney, U= 46, p= 0.0001; Fig. 14B, inserto).

Para corroborar que las alteraciones en la MT se debían al efecto del péptido A β_{1-42} tras la inyección ICV, y no al aprendizaje defectuoso de la tarea, se entrenaron a animales naïve en la versión NMS del laberinto en Figura de 8 (Figs. 8 y 15). Una vez que alcanzaron puntuaciones perfectas, los animales fueron inyectados con el A β ICV (grupo A β global) o con medido F12 (grupo control; Fig. 15A). Dos semanas después de la inyección, los animales fueron reentrenados en el laberinto en Figura-8 durante cinco días.

Durante el reentrenamiento, los animales de ambos grupos experimentales mantuvieron un desempeño sin errores en los intervalos sin retraso (Fig.15 A). Sin embargo, cuando se incluyeron ITIs entre las fases de muestra y elección, el grupo A β global (n=8) mostró un desempeño significativamente reducido en los retrasos de 5 y 10 min (63 y 50 % de RC, respectivamente), en comparación con el grupo control (81 % de RC; U de Mann-Whitney, 5 min, U= 3, p= 0.001; 10 min, U =1, p= 0.0001; Fig. 15B). Las funciones exponenciales ajustadas para los ensayos con retrasos para los grupos A β global y control (R^2 =0.6 y 0.2, respectivamente) revelaron una tau significativamente más larga en el grupo A β global (16.7 min) que en el grupo control (0.6 min; U de Mann-Whitney, U= 57, p= 0.0001; Fig. 15B inserto).

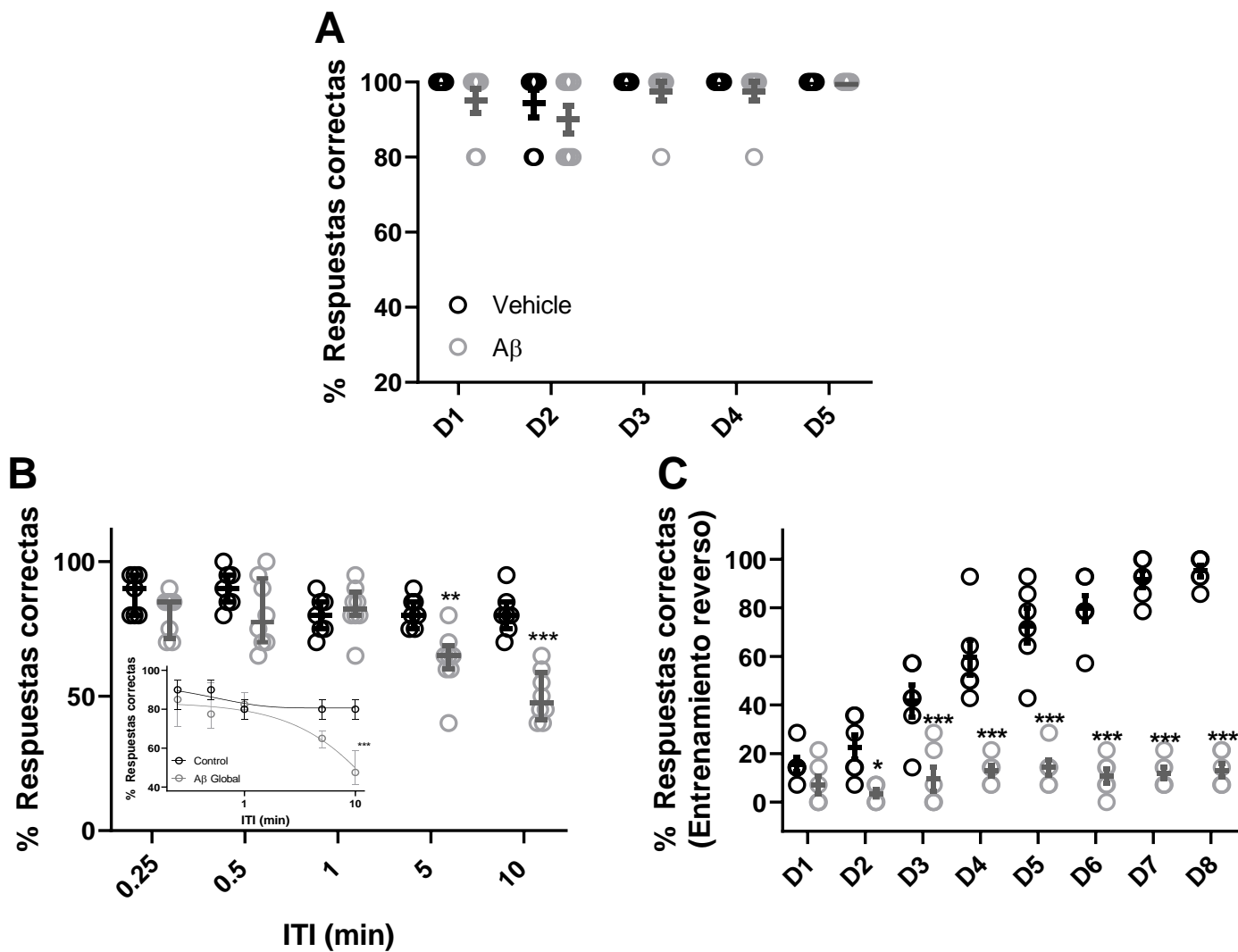


Fig. 15. El Aβ global reduce la MT del laberinto en Figura de 8 previamente aprendido y la FC

A) Evaluación de la MT en ensayos sin retraso entre las fases de muestra y elección en animales -que previamente aprendieron la regla de NMS y a los que luego se les inyectó ICV con Aβ (Aβ Global) o su vehículo (Control). Los datos son posteriores a la inyección. Los datos se presentan individualmente, así como media ± EE. **B)** Evaluación de la MT en ensayos con ITIs variables entre las fases de muestra y elección en animales que previamente aprendieron la regla de NMS. Obsérvese que el Aβ global reduce el rendimiento con retrasos de 5 min (U Mann-Whitney, (U =3, p= 0.0014) y 10 min (U =0, p= 0.003) en comparación con el grupo Control. *Inserto.* Ajuste de una función de decaimiento logarítmico de una fase flanqueado por una meseta de las RC medias (U de Mann-Whitney, U= 57, p= 0.0001). **C)** Evaluación de la FC cambiando de una regla NMS a una MS, destaca que los animales tratados con Aβ₁₋₄₂ nunca aprendieron la regla MS (Modelo mixto ANOVA, día: (F (7, 35) = 41.74, p= 0.0001); grupo: (F (1, 5) = 127.5, p= 0.0001); día X grupo (F (7, 35) = 28.66, p= 0.0001), post- hoc de Bonferroni post-hoc). Los datos se presentan individualmente, así como media ± EE (**A y C**) o como mediana ± rango intercuartil (**B**).

6.3.1.2 *La inyección global del $A\beta_{1-42}$ bloquea la FC*

El funcionamiento adecuado de la PFCm no solo se relaciona con una buena MT, también está correlacionado con otras funciones ejecutiva como la FC (Diamond, 2013); la cual también se ve disminuida durante la EA (Boone et al., 1993; Van den Broeck et al., 2019). Para medir la FC, se cambió la regla para resolver satisfactoriamente el laberinto en Figura de 8, pasando de una versión NMS a una versión MS (Figs. 8 y 15). Encontramos que los animales control mejoran su rendimiento del 15 % RC en el primer día de entrenamiento reverso al 95 % de RC durante el octavo día de entrenamiento reverso (Fig. 15C).

Por el contrario, los animales $A\beta$ global fueron completamente incapaces de cambiar su comportamiento, manteniendo sólo el 13 % de RC después de ocho días de entrenamiento de entrenamiento reverso (ANOVA de Modelo mixto, día: (F (7, 35) = 41.74, $p= 0.0001$); grupo: (F (1, 5) = 127.5, $p= 0.0001$); día X grupo (F (7, 35) = 28.66, $p= 0.0001$), *post-hoc* de Bonferroni; Fig. 15C). Estos hallazgos muestran que la inyección del $A\beta_{1-42}$ global afecta al aprendizaje, a la MT y la FC.

6.3.1.3 *La infusión global del $A\beta_{1-42}$ modifica el aprendizaje del laberinto modificado en T.*

Los resultados obtenidos con el laberinto en Figura de 8 mostraron que este laberinto es una buena herramienta para medir los efectos del $A\beta_{1-42}$ sobre el aprendizaje de una tarea asociada a la conexión HP-PFC (Wang & Cai, 2006), así como el impacto del $A\beta_{1-42}$ en la MT (Zhang et al., 2013) y la FC (Deacon & Rawlins, 2006). Sin embargo, este laberinto mostró rápidamente un efecto de techo, lo cual denota que el requerimiento cognitivo para resolver este laberinto es bajo, ello podría enmascarar efectos más finos del $A\beta_{1-42}$ (Nakamura et al., 2001; Salgado-Puga et al., 2015; Stepanichev et al., 2003). Además, para poder observar las diferencias entre los grupos experimentales se requirió el uso de ITIs de una duración muy larga. ITIs muy largos podrían estar más bien asociados a la memoria a corto plazo (Dudchenko, 2004; Pedigo et al., 2006). A fin de contar con una evaluación conductual de la MT más completa, un grupo independiente de animales fueron entrenados en el laberinto modificado en T, el cual requiere una respuesta tipo MS para poder resolverse satisfactoriamente.

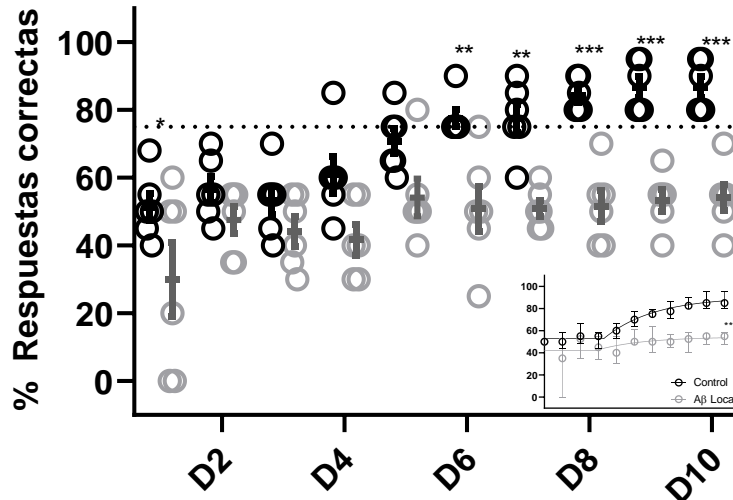


Fig. 16. El A β global (ICV) reduce el aprendizaje del laberinto modificado en T.

Curva de aprendizaje de la regla MS sin retraso en animales inyectados ICV con A β_{1-42} o su vehículo (control) en el laberinto modificado en T, representada como el porcentaje de RC (ANOVA de Modelo mixto, día: $F(9,90) = 18.90$, $p = 0.001$; grupo: $F(1,10) = 21.14$, $p = 0.001$; día X grupo $F(9,90) = 3.767$, $p = 0.005$, *post-hoc* de Bonferroni). **Inserto.** Ajuste logarítmico de una fase flanqueado por una meseta ($R^2 = 0.74$ Veh, 0.11 A β ; $\tau = 2.77$ días Veh, 2.57 días A β) de la media de RC (U de Mann-Whitney, $U = 0$, $p = 0.0001$). Los datos se presentan individualmente, así como media \pm EE o como mediana \pm rango intercuartilar (**Inserto**).

Un grupo de ratas macho Wistar de 8 semanas fue infundido ICV (control $n = 6$; A β global $n = 6$) y se entrenaron en el laberinto modificado en T durante 10 días (Fig. 8). Durante primer día de entrenamiento, las ratas del grupo A β global mostraron un menor número de respuestas (30.0% de RC) comparado con el grupo control (51.3% de RC). A partir del día de entrenamiento 6 las ratas del grupo Vehículo alcanzaron un 77.5% de RC en comparación con el 50.83% de RC del grupo A β global que mantuvieron sus respuestas alrededor del azar.

En los días de entrenamiento subsiguientes (D7- D10), mientras que en el grupo control incrementó progresivamente las RC (77.5%; 84.17 %; 86.67%; 86.67% de RC, respectivamente), el grupo A β global no mostró mejoras (50.83%; 51.67%; 53.33%; 54.17% de RC, respectivamente) [ANOVA de Modelo mixto, día: $F(9,90) = 18.90$, $p = 0.001$; grupo: $F(1,10) = 21.14$, $p = 0.001$; día X grupo $F(9,90) = 3.767$, $p = 0.005$, *post-hoc* de Bonferroni; Fig.16]. Sin embargo, al intentar ajustar una función de decaimiento logarítmico, como en los casos anteriores, el ajuste era ambiguo. Esto, debido a que los animales pasan un

periodo muy largo de tiempo (4 días) en cambiar la estrategia utilizada para resolver el laberinto. Por ello, se utilizó un ajuste que asumiera la presencia de un desempeño basal persistente, al ajustar una función exponencial flanqueada por una meseta ($R^2 = 0.74$ Veh; 0.11 A β global), reveló una tau de 2.77 y 2.57 días para el grupo control y el grupo A β global respectivamente, siendo los cambio en la pendiente mínimos. El aprendizaje del grupo experimental es significativamente menor comparado con el control (U de Mann-Whitney, $U=0$, $p= 0.0001$; Fig. 16, inserto).

Dado que los animales del grupo A β global no pudieron adquirir la regla para responder satisfactoriamente al laberinto modificado en T, y con el fin de remover los efectos del A β_{1-42} sobre el aprendizaje, un grupo independiente de ratas naïve de 5 semanas de edad fueron entrenadas en el laberinto modificado en T ($n=16$). Este grupo experimental requirió de un mayor número de días de entrenamiento para alcanzar y mantener el criterio de aprendizaje (75 % de RC) a lo largo de 3 días (D16- D19). El ajuste de una función sigmoideal operacionalizada ($R^2=0.57$) mostró una tau de 16.95 días (Fig. 17A). Concluido el entrenamiento, los animales fueron separados en dos grupos aleatoriamente, e inyectados ICV con A β_{1-42} (A β global, $n=8$) o su vehículo (control, $n=8$). Pasadas dos semanas de la inyección, los animales fueron reentrenados en el laberinto modificado en T durante 5 días (Fig. 8).

Durante el reentrenamiento se presentaron ensayos sin ITI (Fig. 17B) y ensayos con ITIs variables (10s, 15s, 30s, 60s; Fig. 17C). En los ensayos simples (sin retraso) los animales pertenecientes al grupo A β global tuvieron un desempeño por debajo del criterio de aprendizaje (56.26%; 56.25 %; 63.75%; 71.25%; 66.25% de RC, por día), comparado con el grupo control (79.38%, 91.88%, 95.00%; 91.88%; 95.00% de RC, por día) [ANOVA de Modelo mixto, día: $F(4,56) = 3.64$, $p= 0.013$; grupo: $F(1,14) = 22.18$, $p= 0.003$; día X grupo $F(4,56) = 0.96$, $p=0.43$, *post-hoc* de Bonferroni; Fig. 17B]. Los porcentajes de RC fueron ajustados con una exponencial de una fase de asociación ($R^2=0.77$ Veh; $R^2= 0.12$ A β), con lo que se observó una tau de 5.20 días para el grupo A β global y de 0.87 días para el control (U de Mann-Whitney, $U= 521$ $p= 0.0001$, Fig. 17B, inserto).

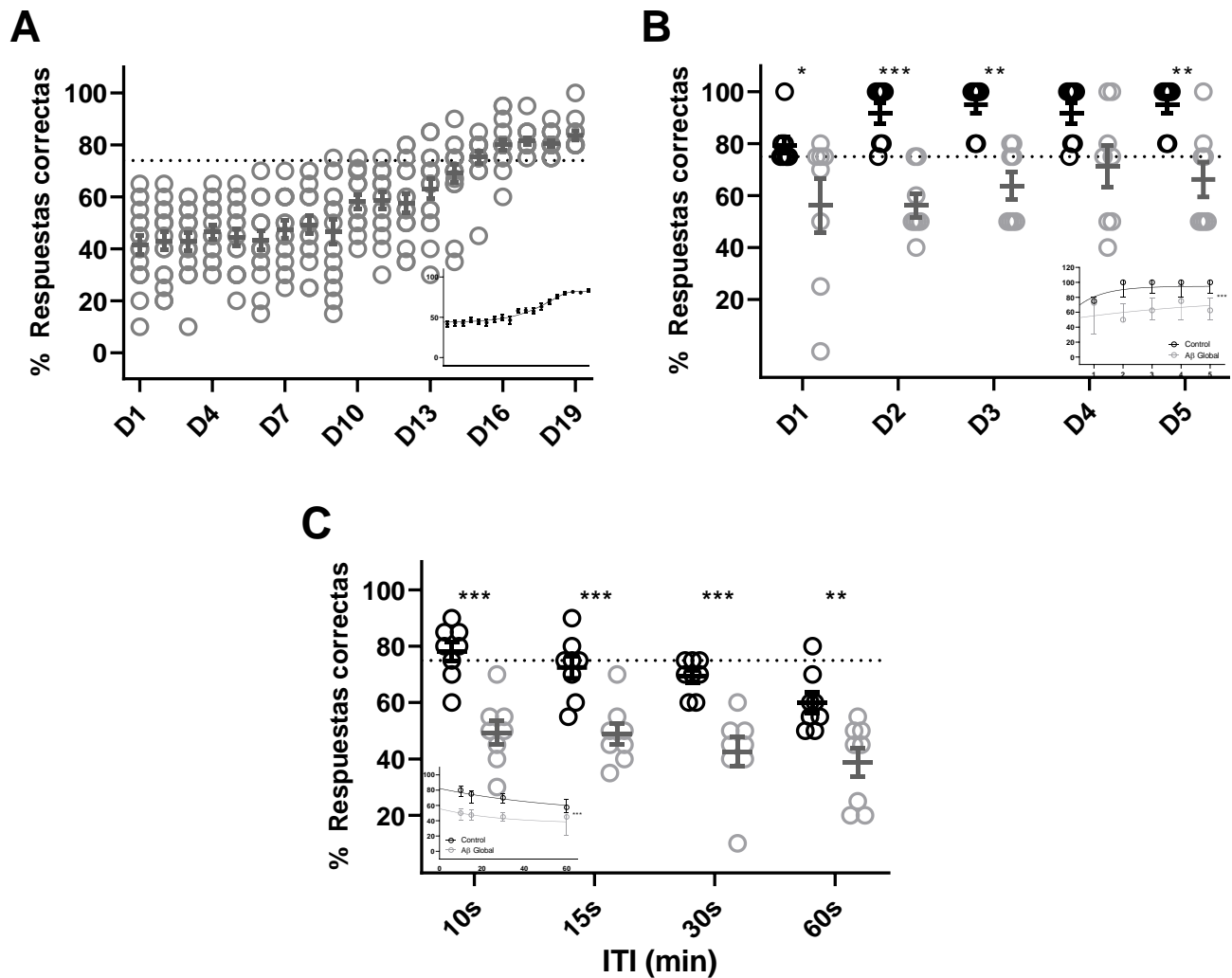


Fig. 17. La inyección del A β_{1-42} global reduce el desempeño en el laberinto modificado en T.

A) Curva de aprendizaje, antes de la infusión ICV (n=16). Se observa que los animales alcanzan el criterio de aprendizaje a partir del día 16. **Inserto.** Ajuste de una función sigmoide operacionalizada de las RC medias ($R^2=0.57$) con una tau de 16.95 días **B)** Curva de reentrenamiento tras infusión ICV del A β_{1-42} (n=6) o su vehículo (control, n=6). Nótese que los animales pertenecientes al grupo A β global no recuperan un desempeño por encima del criterio de aprendizaje (75% de RC) [ANOVA de Modelo mixto, día: $F(4,56) = 3.64, p = 0.013$; grupo: $F(1,14) = 22.18, p = 0.003$; día X grupo $F(4,56) = 0.96, p = 0.43$, *post-hoc* de Bonferroni]. **Inserto.** Ajuste de una función exponencial de una fase de asociación de las RC medias del grupo control ($R^2=0.77$) y del A β global ($R^2=0.12$) y con una tau de 0.87 y de 5.20 días para el grupo control y A β global, respectivamente (U de Mann-Whitney, $U = 512, p = 0.0001$). **C)** Evaluación de la MT en ensayos con ITIs en animales que fueron previamente entrenados y a los que luego se les inyectó ICV con el A β (A β Global) o su vehículo (Control). Obsérvese una reducción en las RC dependiente de los ITIs en el grupo control. Por su parte hay una reducción significativamente mayor de las RC en el grupo A β global comparado con el control en todos los ITIs [ANOVA de dos vías, ITIs: $F(3,42) = 4.59, p = 0.0072$; grupo: $F(1,14) = 91.87, p = 0.0001$; ITIs X grupo $F(3,42) = 0.32, p = 0.88$, *post-hoc* de Bonferroni] en comparación con el grupo Control [prueba de comparación múltiple de Bonferroni, 10s ($t(56) = 5.04, p = 0.0001$), 15s ($t(56) = 4.17, p = 0.0004$), 30s ($t(56) = 4.71, p = 0.0001$), 60s ($t(56) = 3.73, p = 0.001$)]. **Inserto.** Ajuste de una función de decaimiento logarítmico de una fase flanqueado por una meseta de las RC medias (U de Mann-Whitney, $U = 0, p = 0.0001$). Los datos se presentan individualmente, así como media \pm EE (**A, B y C**) o como mediana \pm rango intercuartil (**Inserto B y C**)

En cuanto a la evaluación de la MT con los ITIs (Dudchenko, 2004), se observó un decaimiento en la RC del grupo control de manera dependiente del intervalo (10s: 78.13% , 15s : 72.5 %; 30s: 69.38%; 60s: 60.0% de RC). Esta disminución en el grupo control demuestra que este paradigma conductual es más sensible para medir modificaciones en la MT. Por su parte, el grupo A β global tuvo un decremento significativamente mayor en las RC (10s: 49.38%, 15s: 48.75 %; 30s: 42.5%; 60s: 38.75% de RC) comparado con el grupo control [ANOVA de dos vías, ITIs: $F(3,42) = 4.59$, $p = 0.0072$; grupo: $F(1,14) = 91.87$, $p = 0.0001$; ITIs X grupo $F(3,42) = 0.32$, $p = 0.88$, *post-hoc* de Bonferroni; Fig. 17C] [prueba de comparación múltiple de Bonferroni, 10s ($t(56) = 5.04$, $p = 0.0001$), 15s ($t(56) = 4.17$, $p = 0.0004$), 30s ($t(56) = 4.71$, $p = 0.0001$), 60s ($t(56) = 3.73$, $p = 0.001$)]. El ajuste de una función de decaimiento logarítmica a la media de las RC durante los ITIs ($R^2 = 0.34, 0.11$; control y A β global respectivamente) mostró una tau de 28.44s y de 60.11s para el grupo A β global y control, respectivamente (U de Mann-Whitney, $U = 0$, $p = 0.0001$, Fig. 17C inserto). Estos resultados, son concordantes con los obtenidos en el laberinto en Figura de 8, demostrando que A β global reduce la MT.

6.3.2 La infusión global del A β_{1-42} afecta la excitabilidad de la PFCm

Una vez estudiado el efecto del A β_{1-42} en conductas asociadas a la PFCm y su conexión con el HP, se procedió a estudiar los efectos de la inyección global del A β en la actividad eléctrica del circuito HP-PFCm. Para ello, se realizaron registros de *patch clamp*, en la modalidad de célula completa, en neuronas piramidales de la capa V de la PFCm. Los registros se realizaron en las regiones IL y PrL, ya que la vía directa del HPv a la PFC arriba a estas regiones de la PFCm (Parent et al., 2010; Siapas et al., 2005).

Una vez identificada la célula y roto el giga-sello (configuración de célula completa), se caracterizaron las propiedades subumbrales y supraumbrales de las neuronas piramidales de la PFCm en cortes obtenidos 2-3 semanas después de que los animales fueran inyectados ICV con A β (grupo A β global, $n = 36$) o su vehículo (grupo control, $n = 34$) (semana 10-11 postnatal, Fig. 8).

Encontramos que las propiedades pasivas, como el potencial de membrana en reposo (RMP; U Mann-Whitney, U= 527, p= 0.33), la Rm (U Mann-Whitney, U= 602, p= 0.74), la Tau (U de Mann-Whitney, U= 567, p= 0.60), la reobase (U de Mann-Whitney, U= 525, p= 0.3019) y el potencial *sag* (U de Mann-Whitney, U=508, p=0.22) (Fig. 18A-E, F) eran similares entre los grupos.

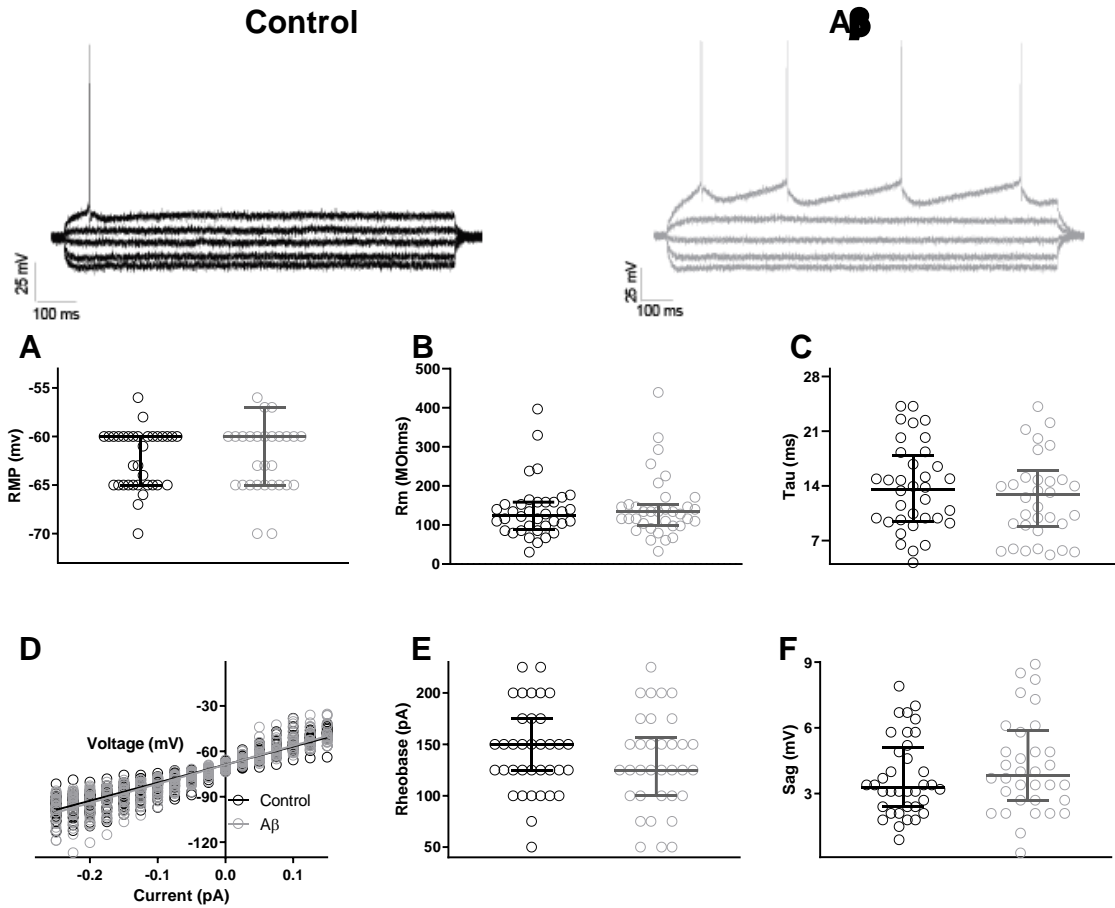


Fig. 18. Propiedades pasivas de las células piramidales de la capa V de la PFCm tras la aplicación del Aβ global.

Arriba. Trazos representativos del potencial de membrana de neuronas piramidales de la capa V de la PFCm en respuesta a pulsos cuadrados de corriente hiperpolarizante y despolarizante (curva I/V) de los grupos Control (izquierda) y Aβ local (derecha). Cuantificación de **A)** el RMP (U Mann-Whitney, U= 527, p= 0.33), **B)** la Rm (U de Mann-Whitney, = 602, p= 0.74), **C)** la Tau (U de Mann-Whitney, U= 567, p= 0.60), **D)** la Curva I/V (U de Mann-Whitney, U= 199, p= 0.98), **E)** la Reobase (U de Mann-Whitney, U= 525, p= 0.3019), **F)** el *Sag* (U de Mann-Whitney, U=508, p=0.22) para ambos grupos. Los datos se presentan individualmente, así como mediana ± rango intercuartilar.

Cuando evaluamos las propiedades de disparo de las células piramidales de la capa V de la PFCm (Fig. 19), descubrimos que la aplicación global del A β ₁₋₄₂ aumentaba significativamente el número promedio PA inducidos por estímulos de magnitud creciente [ANOVA de Modelo mixto, $I = F(1.34, 90.10) = 345.7$, $p = 0.0001$]; grupo ($F(1, 67) = 1.354$, $p = 0.24$); $I \times$ grupo ($F(9, 603) = 2.84$, $p = 0.002$), Bonferroni *post-hoc*; Fig. 19A]. Las comparaciones por pares muestran que el aumento en el disparo de PA fue significativamente mayor en el grupo del A β ₁₋₄₂ solo en la corriente despolarizante de 500 pA (27.91 ± 9.98 PA), en comparación con el grupo control (23.08 ± 7.60 PA; prueba de comparación múltiple de Bonferroni; Fig. 19A).

En comparación con reportes de otros grupos de investigación (Haghani et al., 2012; Y. Wang et al., 2009) no encontramos que las células del grupo A β tuvieran modificaciones en el AHP (t de Student, $t(29) = 1$, $p = 0.38$, Fig. 19B). También, evaluamos la adaptación de los PA inducidos por una corriente despolarizante de 400 pA y descubrimos que el grupo A β global no presentaba una frecuencia de disparo inicial diferente al grupo control (t de Student, $t(76) = 0.85$, $p = 0.33$; Fig. 19C). Por otra parte, hay una tendencia de mayor la tasa de disparo durante el estado estacionario en el grupo A β , sin alcanzar significancia estadística (A β : 22.46 ± 1.10 Hz, Veh: 19.07 ± 1.09 Hz; t de Student, $t(27) = 2.8$, $p = 0.09$, Fig. 19D). Tampoco se encontraron diferencias en la constante de tiempo de adaptación (τ_{Adapt} ; t de Student, $t(76) = 0.65$, $p = 0.5$; Fig. 19E); o en el factor de atenuación (ver Materiales y Métodos) (t de Student, $t(76) = 1.3$, $p = 0.18$, Fig. 19F).

6.3.3 El A β ₁₋₄₂ global incrementa la actividad sináptica espontánea

Los daños generados por el péptido A β ₁₋₄₂ en la MT y la FC, pueden deberse a modificaciones en la transmisión sináptica, así como su plasticidad a corto y largo plazos (Joseph et al., 2021; Kumar et al., 2019). Por ello, se caracterizaron las propiedades sinápticas de las neuronas piramidales de la PFC en cortes obtenidos 2-3 semanas (semana postnatal 10-11) después de la inyección ICV en la PFCm con A β ₁₋₄₂ o su vehículo (Fig. 8).

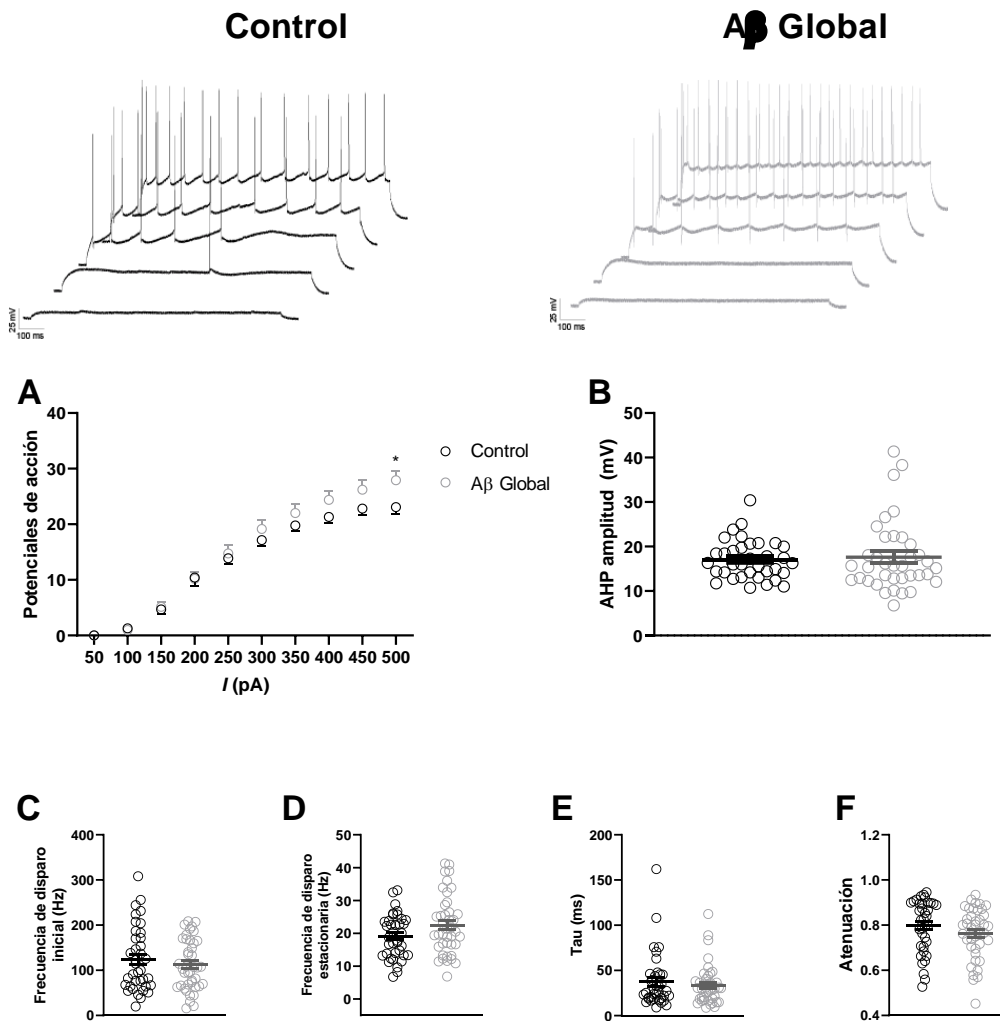


Fig. 19. El Aβ global aumenta la frecuencia de disparo

Arriba. Trazos representativos del disparo de neuronas piramidales de la capa V de la PFCm en respuesta a pulsos cuadrado de corrientes despolarizante (curva I/F) para los grupos Control (izquierda) y Aβ Local (derecha). **A)** Media y EE para cada punto de la curva I/F (ANOVA de Modelo mixto, $I = F(1.34, 90.10) = 345.7, p = 0.0001$); grupo ($F(1, 67) = 1.354, p = 0.24$); $I \times$ grupo ($F(9, 603) = 2.84, p = 0.002$), *post hoc* de Bonferroni). **B)** Amplitud del AHP (mV) (t de Student, $t(29) = 1, p = 0.038$). **C)** Frecuencia de disparo inicial (Hz) (t de Student, $t(76) = 0.85, p = 0.33$). **D)** Disparo en estado estacionario (Hz) (t de Student, $t(27) = 2.8, p = 0.009$). **E)** Tau de adaptación (ms) (t de Student, $t(76) = 0.65$). **F)** Los factores de atenuación se cuantifican para cada grupo (t de Student, $t(76) = 1.3, p = 0.18$). Los datos se presentan individualmente, así como media \pm EE.

Al evaluar las sPSCs registradas a -70 mV del grupo A β global (n=22) y vehículo (control, n= 19), se encontró un incremento de la frecuencia de las sPSCs en el grupo A β global (12.08 ± 1.22 Hz) en comparación con el grupo control (8.50 ± 0.50 Hz, t de Student $t(39) = 2.5$, $p = 0.01$, Fig. 20B). También, la amplitud de las sPSCs es significativamente mayor en el grupo A β global (26.70 ± 1.89 pA) a la observada en el grupo control (19.55 ± 1.09 pA; t de Student $t(39) = 31$, $p = 0.003$, Fig. 20A).

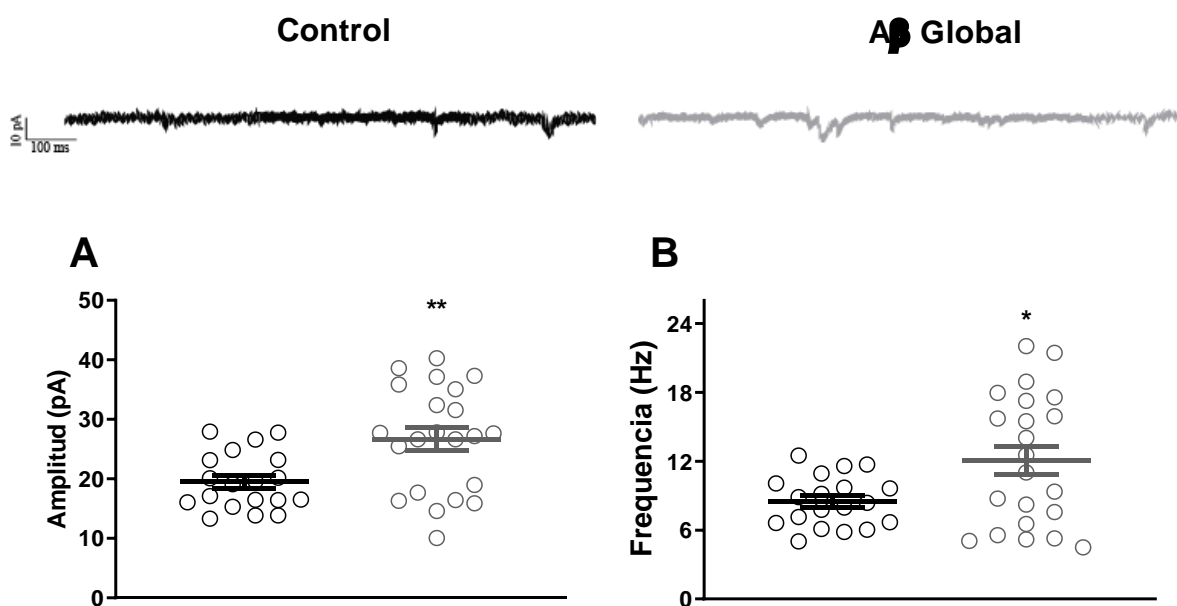


Fig. 20. El A β global incrementa la amplitud y frecuencia de las sPSCs.

Arriba. Trazos representativos de las sPSCs de los grupos Control (izquierda) y A β local (derecha). **A)** Amplitud de las sPSCs t (de Student $t(39) = 31$, $p = 0.003$). **B)** Frecuencia instantánea de las sPSCs (t de Student $t(39) = 2.5$, $p = 0.01$). Los datos se presentan individualmente, así como media \pm EE

6.3.4 *La inyección global del A β ₁₋₄₂ no genera modificaciones de la actividad sináptica de corto plazo, pero bloquea la LTP*

Debido a que el A β ₁₋₄₂ puede producir efectos diferenciales, y a veces opuestos, en diferentes sinapsis que llegan al mismo blanco celular en condiciones experimentales idénticas (Brown et al., 2005; Kurudenkandy et al., 2014; Riegel et al., 2007; Shipton et al., 2022; Y. Wang et al., 2013), se estudiaron los EPSCs de las neuronas piramidales ya sea evocados por la estimulación de la entrada del HPv o por la vía intra-PFCm. Al evaluar la entrada HP-mPFC (Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017; Fig. 8), no se encontraron cambios ni en la amplitud ante diferentes magnitudes de estimulación [ANOVA de Modelo mixto, I= F (3, 38) = 13.40, p= 0.001); grupo (F (1, 21) = 1.20, p= 0.28); I X grupo (F (3, 38) = 1.27, p=0.29), *post-hoc* de Bonferroni; Fig. 21A], ni en su STP ante diferentes frecuencias de estimulación [ANOVA de Modelo mixto, Frecuencias= F (4,272) = 12.49, p= 0.001); grupo (F (7, 68) = 1.32, p= 0.25); Frecuencias X grupo (F (28, 272) = 1.807, p=0.009), *post-hoc* de Bonferroni; Fig.22A-B] en comparación con el grupo control.

Al evaluar los EPSCs evocados en las neuronas piramidales de la PFCm por su entrada intracortical (intra-PFC; Fig. 21B), no se encontraron diferencias entre los grupos en su amplitud cuando se estimuló con diferentes intensidades [ANOVA de modelo mixto, I= F (3, 41) = 11.41, p= 0.001); grupo (F (1, 21) = 0.008, p= 0.99); I X grupo (F (3, 41) = 0.68, p= 0.56), *post-hoc* de Bonferroni ; Fig.21B] o en la STP intracortical [ANOVA de Modelo mixto, Frecuencia= F (4, 192) = 8.68, p= 0.001); grupo (F (7, 48) = 1.23 p= 0.21); Frecuencias X grupo (F (28, 192) = 0.95, p= 0.53, Fig. 22C-D). La plasticidad a corto plazo observada en nuestros experimentos se asemeja mucho a los patrones de plasticidad descritos anteriormente (Flores- Martínez & Peña-Ortega, 2017; Parent et al., 2010), con coeficientes de facilitación a corto plazo de las conexiones HP-PFC superiores a los de la estimulación intra PFC (es decir, conexiones cortico- corticales; Parent et al., 2010).

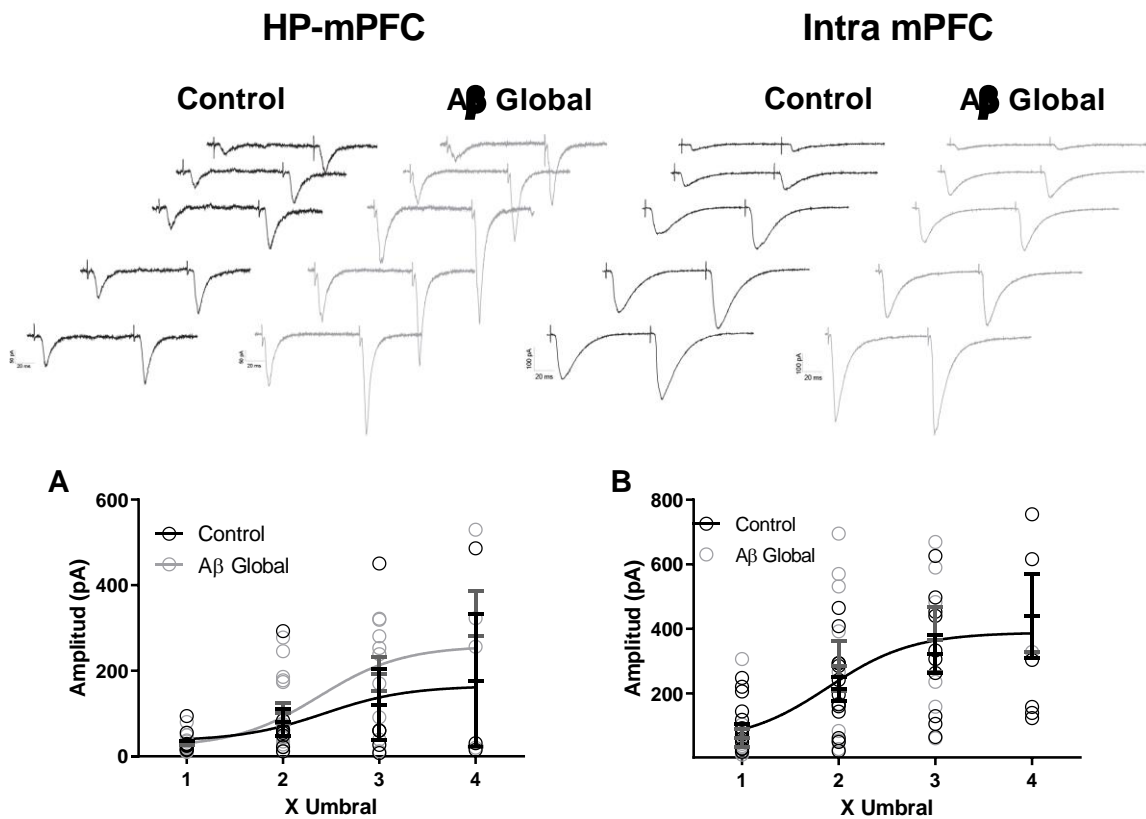


Fig. 21. El Aβ global no modifica los EPSCs de las neuronas de la capa V de la PFCm.

Arriba. Trazos representativos de los EPSCs de las células piramidales de la capa V de la PFCm evocadas por pulsos pareados aplicados en el haz hipocampal (izquierda) o en la capa I (Intra PFCm; derecha) del grupo Control (izquierda) y Aβ (derecha). **A)** Amplitud de los EPSCs en función de la intensidad de estimulación (en unidades de Umbral) para la vía HP-PFCm [ANOVA de Modelo mixto, $I = F(3, 38) = 13.40$, $p = 0.001$; grupo ($F(1, 21) = 1.20$, $p = 0.28$); $I \times$ grupo ($F(3, 38) = 1.27$, $p = 0.29$), *post-hoc* de Bonferroni]. **B)** Amplitud de los EPSCs en función de la intensidad de estimulación (en unidades de umbral) para la vía Intra-PFCm [ANOVA de modelo mixto, $I = F(3, 41) = 11.41$, $p = 0.001$; grupo ($F(1, 21) = 0.008$, $p = 0.99$); $I \times$ grupo ($F(3, 41) = 0.68$, $p = 0.56$), *post-hoc* de Bonferroni]. Se presentan ajuste a curva logarítmica a cada grupo de datos (mostrados individualmente), así como media \pm EE.

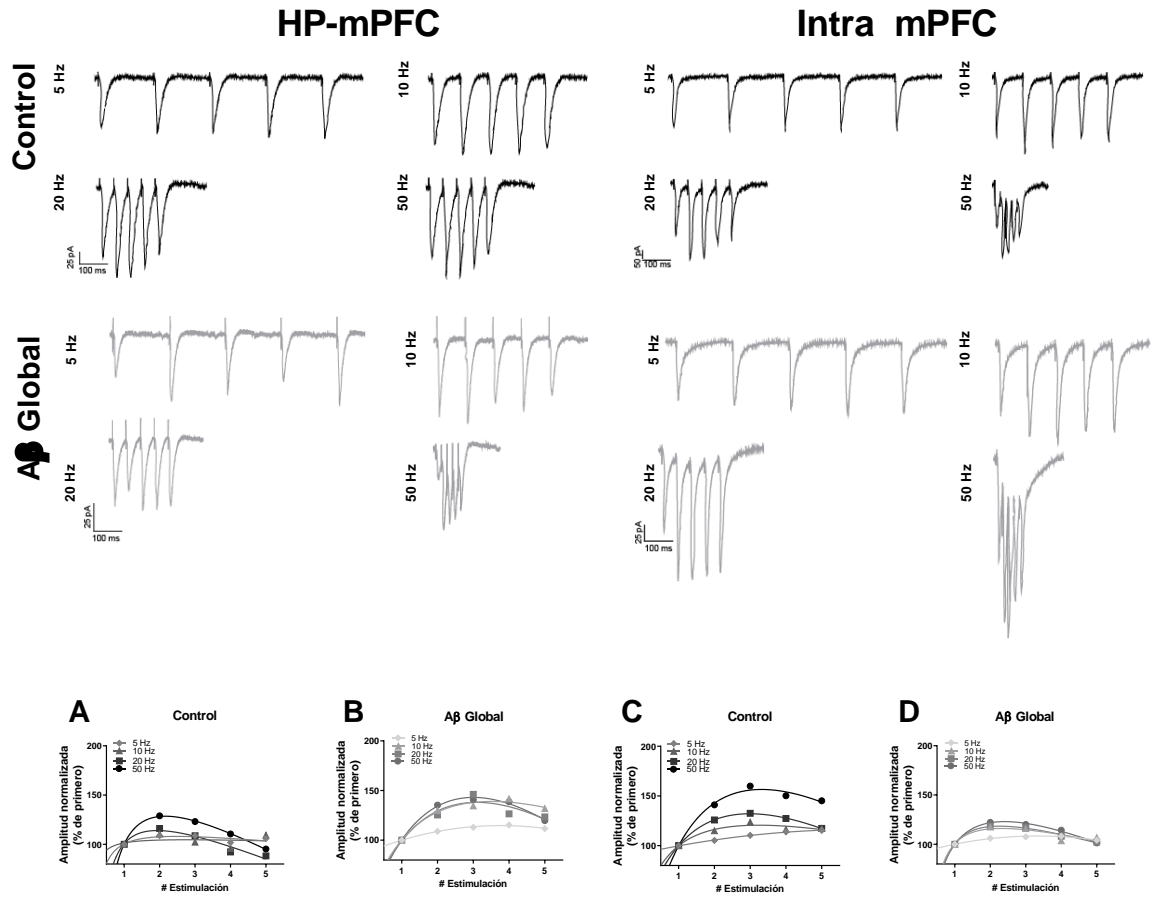


Fig. 22. El Aβ global no afecta a la STP de neuronas de la capa V de la PFCm.

Arriba. Trazos representativos de EPSCs de células piramidales de la capa V de la PFCm evocados por trenes de estimulación a diferentes frecuencias, en la vía HP-mPFC (izquierda) o intra-PFCm (derecha) para grupo Control (arriba) y Aβ (abajo). Se presenta la amplitud normalizada (primer EPSP como 100%) ante diferentes frecuencias de estimulación en la vía HP-mPFC de los grupos Control y Aβ (A-D) [ANOVA de Modelo mixto, Frecuencias= F (4,272) = 12.49, p= 0.001]; grupo (F (7, 68) = 1.32, p= 0.25); Frecuencias X grupo (F (28, 272) = 1.807, p=0.009), *post-hoc* de Bonferroni], así como por trenes de estímulos a diferentes frecuencias en la vía Intra-PFCm en el control y Aβ (E-D) [ANOVA de Modelo mixto, Frecuencia= F (4, 192) = 8.68, p= 0.001]; grupo (F (7, 48) = 1.23 p= 0.21); Frecuencias X grupo (F (28, 192) = 0.95, p= 0.53]. Se presentan ajuste a curvas hiperbólicas a cada grupo de datos y frecuencia (mostrados como la media).

Por último, en la vía HP-PFCm y en la sinapsis intra-PFC, se evaluó la LTP inducida por la estimulación tetánica (Herry & Garcia, 2002; Salgado-Puga et al., 2017; Fig. 23). La infusión global del Aβ (n=6) bloquea la LTP en la vía HP-mPFC (Fig. 23A). El grupo control (n=6) mostró una LTP de 133.60 ± 7.23 % del basal 40 min después de la estimulación tetánica de la vía HP-mPFC (Fig. 23B). En contraste, el grupo Aβ global la no pudo mantener la potenciación post-tetánica y 40 min más tarde de la HFS, se había inducido una disminución de la amplitud del EPSC (76.54 ± 8.054 % de la basal; U de Mann Whitney, U=

0, $p=0.01$). Resultados similares se encontraron al estudiar la sinapsis intracortical. En estos experimentos el grupo control ($n=5$) mostró una LTP de 124.90 ± 1.75 del basal 40 min después de la estimulación tetánica de la vía intracortical ($n=5$; U de Mann-Whitney, $U=1$, $p=0.015$; Fig. 23C). En contraste, el grupo $A\beta$ mostró LTD 40 min después de la HFS de la vía intracortical ($n=5$; 69.21 ± 25.13 % de la basal; Fig. 23D).

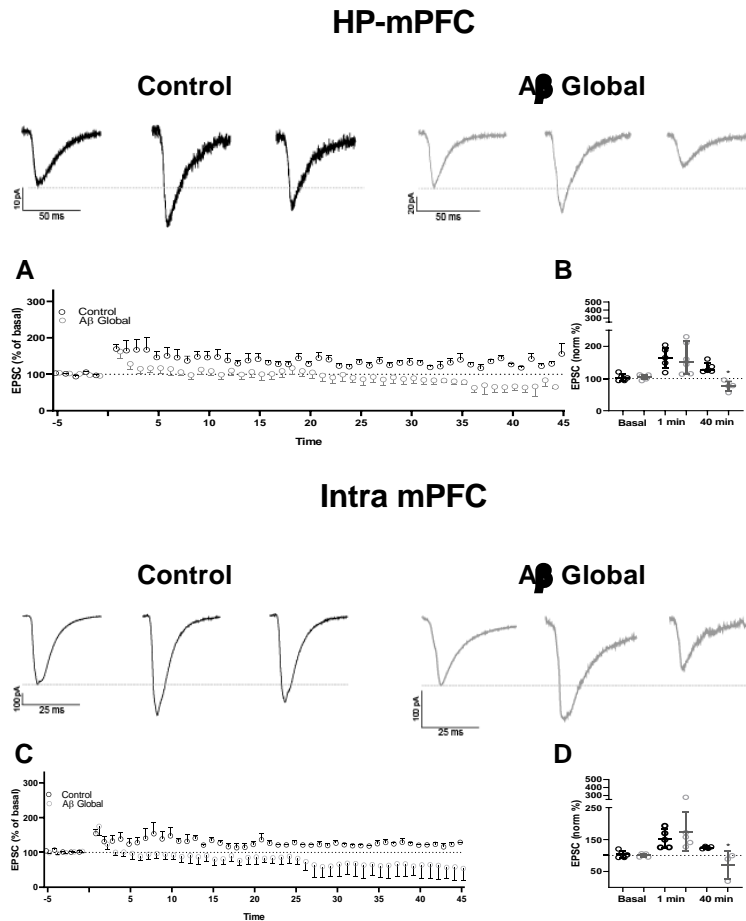


Fig. 23. El $A\beta$ global bloquea la LTP de las células piramidales de la capa V de la PFCm e induce LTD.

Arriba. Trazos representativos de EPSCs evocados en la vía HP-PFCm en condiciones basales (izquierda), tras la HFS (centro) y 40 min después de la HFS (derecha) para el grupo Control (arriba) y $A\beta$ Local (abajo). **A)** Curso temporal de la amplitud EPSC normalizada antes y después de la HFS de la vía HP-mPFC. **B)** Cuantificación de la amplitud EPSC normalizada 1 min y 40 min después de la HFS (U de Mann-Whitney, $U=0$, $p=0.01$). **Abajo.** Trazos representativos de EPSCs evocados en la vía Intra-PFCm en condiciones basales (izquierda), tras la HFS (centro) y 40 min después de la HFS (derecha) para controles (arriba) y grupo $A\beta$ Local (abajo). **C)** Curso temporal de la amplitud EPSC normalizada antes y después de la tetanización de la vía Intra-PFCm. **D)** Cuantificación de la amplitud EPSC normalizada 1 min y 40 min después de la HFS (U de Mann-Whitney, $U=1$, $p=0.015$). Los datos se presentan como media \pm EE (A y C) o como mediana \pm rango intercuartil (B y D).

6.4 Efecto de la inyección local (intra-PFCm) del $A\beta_{1-42}$ sobre la MT y la actividad eléctrica de la PFCm

6.4.1 La inyección local del $A\beta_{1-42}$ bloquea la MT

Dado que la MT requiere del funcionamiento adecuado de la PFCm (Miller & Cohen, 2001); y ya que se observaron efectos deletéreos tras la inyección global del $A\beta_{1-42}$ sobre la MT y que hasta el momento de la revisión bibliográfica del presente trabajo no se encontraron reportes del efecto de la inyección intra-PFCm sobre la MT; se procedió a evaluar el efecto de la inyección local del $A\beta_{1-42}$ en la MT.

Con el fin controlar los efectos que podría tener el $A\beta_{1-42}$ local sobre el aprendizaje del laberinto en Figura de 8, animales naïve se entrenaron inicialmente en la versión NMS (Fig. 8). Alcanzado un desempeño perfecto, los animales fueron inyectados con $A\beta$ (grupo $A\beta$ local) o su vehículo (grupo control) intra PFCm (Fig. 24). Dos semanas después de la inyección, los animales fueron reentrenados en el laberinto en Figura de 8 durante cinco días.

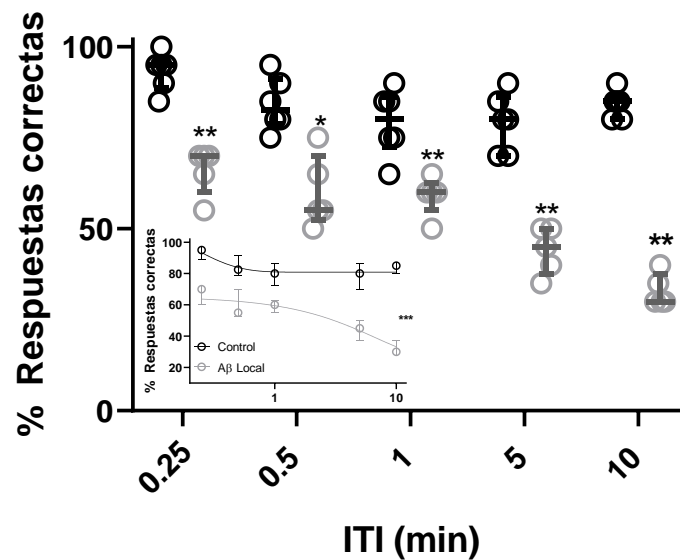


Fig. 24. El $A\beta$ local reduce la MT evaluada en el laberinto en Figura de 8 previamente aprendido

Evaluación de la MT en ensayos con ITIs variables entre las fases de muestra y elección en animales que previamente aprendieron la regla de NMS y a los que luego se les inyectó ICV con $A\beta$ ($A\beta$ Global) o su vehículo (Control). Obsérvese que el grupo $A\beta$ local muestra una reducción en todos los ITIs en comparación con el grupo Control (U de Mann-Whitney, 0.25 min (U =0, p= 0.0043); 0.5 min (U =0, p= 0.0043), 1 min (U =0.5, p= 0.0065), 5 min (U =0, p= 0.0022), 10 min (U =0, p= 0.0022). *Inserto.* Ajuste de una función de decaimiento logarítmico de una fase de las RC medias (U de Mann-Whitney, U=0, p= 0.0001). Los datos se presentan individualmente, así como mediana \pm rango intercuartilar.

Como fue observado en los animales inyectados ICV, durante el reentrenamiento los animales de los grupos experimentales continuaron con una ejecución sin ningún error en los ensayos sin retraso (datos no mostrados). Sin embargo, al incluir los ITIs, los efectos sobre la MT fueron más marcados que lo reportado en el grupo A β Global, ya que se redujo significativamente el desempeño en todos los ITIs probados en comparación con el grupo control (U de Mann-Whitney, 0.25 min (U =0, p= 0.0043); 0.5 min (U =0, p= 0.0043), 1 min (U =0.5, p= 0.0065), 5 min (U =0, p= 0.0022), 10 min (U =0, p= 0.0022), Fig. 24). Así, las funciones exponenciales ajustadas para los ensayos con ITIs para los grupos A β local y control (R^2 =0.8 y 0.3, respectivamente) revelaron una tau significativamente más larga en el grupo A β local (6.7 min) que en el grupo control (0.2 min; U de Mann-Whitney, U= 0, p= 0.0001; Fig. 24, inserto).

6.4.2 La infusión local del A β induce hiperexcitabilidad de las neuronas piramidales de la capa V de la PFCm

A fin de encontrar un correlato fisiológico que explicara las alteraciones en la MT tras la inyección de intra-PFCm del A β_{1-42} , se caracterizaron las propiedades pasivas y activas de las neuronas piramidales de la PFC en cortes obtenidos 3-4 semanas (semana 11 postnatal, Fig. 8) después de que los animales fueran inyectados localmente (grupo A β local, n= 13) o su vehículo (grupo control, n= 17).

Encontramos que la mayoría de las propiedades subumbrales, como el potencial de membrana en reposo (RMP; U Mann-Whitney, U= 106, p= 0.85), la Rm (U Mann-Whitney, U= 81, p= 0.21), la Tau (U de Mann-Whitney, U= 103, p= 0.77) y la rebase (U de Mann-Whitney, U= 85, p= 0.2844) (Fig. 25A-E) eran iguales entre los grupos. Sin embargo, las células piramidales del grupo A β local presentan un potencial sag mayor (5.0 ± 0.4 mV) que el del grupo control (3.5 ± 0.5 mV; U de Mann-Whitney, U= 59, p= 0.03; Fig. 25F).

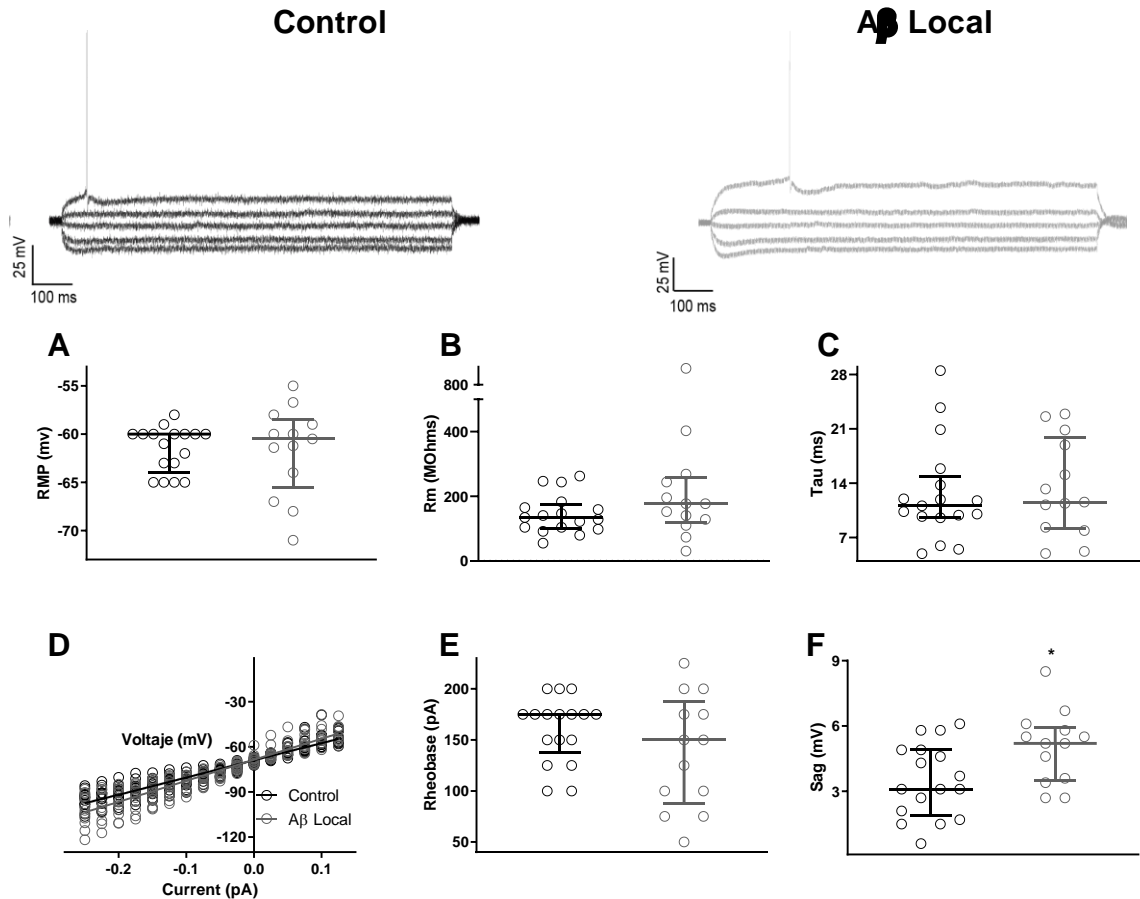


Fig. 25. Propiedades pasivas de las células piramidales de la capa V la PFCm en presencia del Aβ local
Arriba. Trazos representativos del potencial de membrana de neuronas piramidales de la capa V de la PFCm en respuesta a pulsos cuadrados de corriente hiperpolarizante y despolarizante (curva I/V) de los grupos Control (izquierda) y Aβ local (derecha). Cuantificación de **A**) el RMP (U de Mann-Whitney, U= 106, p= 0.85), **B**) la Rm (U de Mann-Whitney, U= 81, p= 0.21), **C**) la Tau (U de Mann-Whitney, U= 103, p= 0.77), **D**) la curva I/V (U de Mann-Whitney, U= 192, p= 0.42), **E**) la Reobase (U de Mann-Whitney, U= 85, p= 0.2844), **F**) el Sag (U de Mann-Whitney, U= 59, p= 0.031) para ambos grupos. Los datos se presentan individualmente, así como mediana ± rango intercuartilar.

Quando evaluamos las propiedades activas de las células piramidales de la PFCm (Fig. 26), descubrimos que la aplicación local del Aβ₁₋₄₂ aumentaba significativamente el promedio de PA inducidos por estímulos de magnitud creciente [ANOVA de Modelo mixto, $I = F(1.376, 38.53) = 171.3$, $p = 0.001$]; grupo ($F(1, 28) = 13.55$, $p = 0.001$); $I \times$ grupo ($F(9, 252) = 6.80$, $p = 0.001$), Bonferroni *post-hoc*; Fig. 26A]. Las comparaciones por pares muestran que el aumento en el disparo PA fue significativamente mayor en las corrientes despolarizantes de 400 pA (23.08 ± 1.6 PA, $p = 0.017$), 450 pA (25.23 ± 1.5 PA, $p = 0.0005$) y 500 pA (26.77 ± 1.48 PA, $p = 0.0006$), en comparación con el grupo control (15.76 ± 1.38 ;

15.41 ± 1.31; 16.47 ± 1.61 PA, respectivamente; prueba de comparación múltiple de Bonferroni; Fig. 26A).

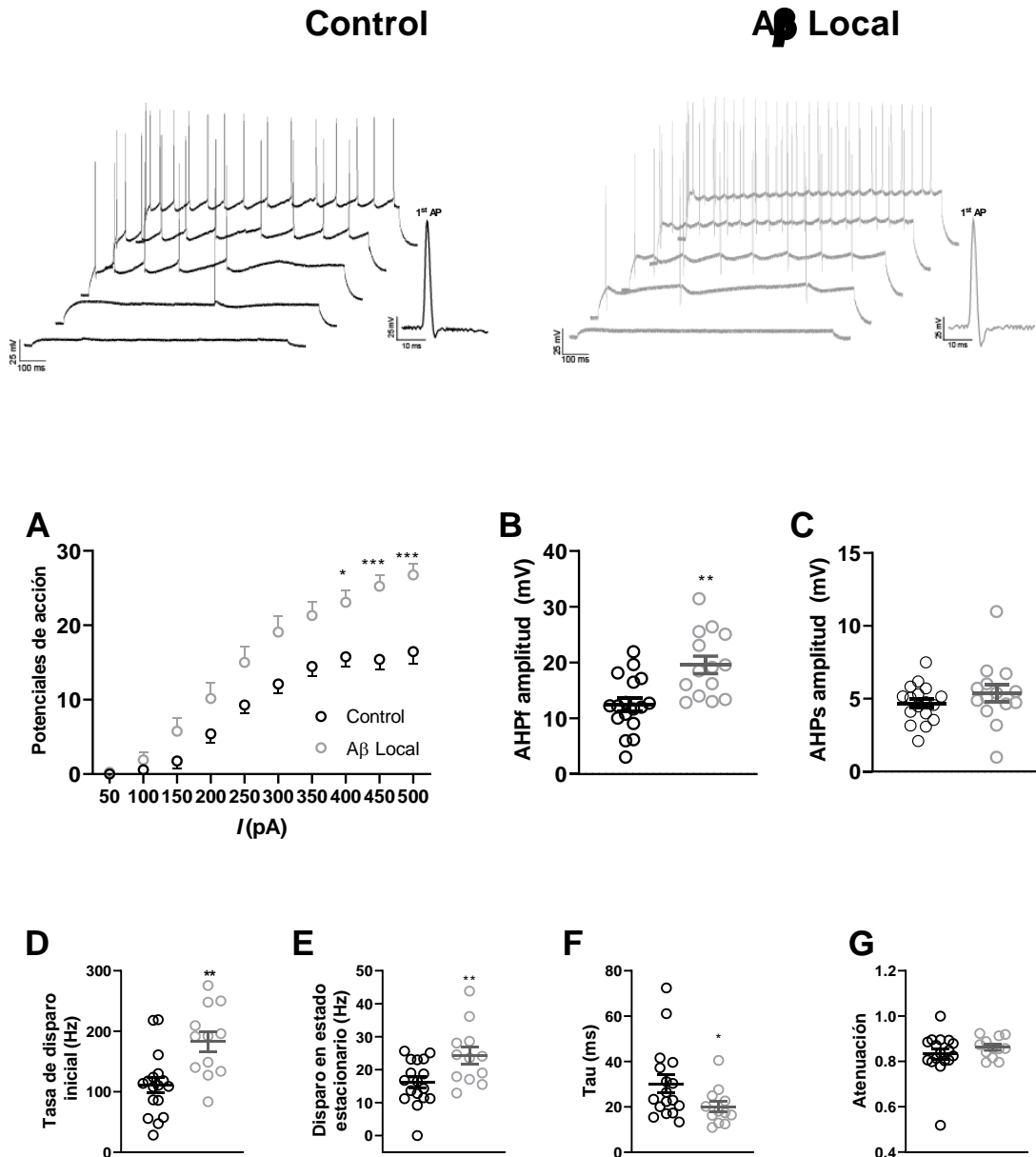


Fig. 26. El Aβ local aumenta la frecuencia de disparo e induce cambios en el AHP y en la adaptación del disparo.

Arriba. Trazos representativos del disparo de neuronas piramidales de la capa V de la PFCm en respuesta a pulsos cuadrado de corrientes despolarizante (curva I/F) para los grupos Control (izquierda) y Aβ Local (derecha). Se muestra el primer PA evocado en la rehobase. **A)** Media y EE para cada punto de la curva I/F (ANOVA de modelo mixto, I (F (1.376, 38.53) = 171.3, p = 0.001); grupo (F (1, 28) = 13.55, p = 0.001); I X grupo (F (9, 252) = 6.801, p = 0.001), *post-hoc* de Bonferroni). **B)** Amplitud de la corriente AHPf (mV) (t de Student, t (29) = 3.6, p = 0.0011). **C)** Amplitud de la corriente AHPs (mV) (t de Student, t (29) = 1, p = 0.3058). **D)** Frecuencia de disparo inicial (Hz) (t de Student, t(27) = 3.5, p = 0.001). **E)** Disparo en estado estacionario (Hz) (t de Student, t (27) = 2.8, p = 0.009). **E)** Tau de adaptación (ms) (t de Student, t (27) = 2, p = 0.05). **F)** Los factores de atenuación se cuantifican para cada grupo (t de Student, t (27) = 0.96, p = 0.34). Los datos se presentan individualmente, así como media ± EE.

Como en reportes anteriores a nuestro trabajo (Haghani et al., 2012; Y. Wang et al., 2009), en esta tesis encontramos que las células del grupo A β local presentan un AHPf de mayor amplitud (19.6 ± 1.56 mV; t de Student, $t(29) = 3.6$, $p = 0.001$) que el grupo control (12.49 ± 1.21 mV; t de Student, Fig.26B). Por el contrario, no encontramos diferencias en la amplitud de los AHPs (Vehículo: 4.68 ± 0.31 mV; A β : 5.35 ± 0.58 mV; t de Student, $t(29) = 1$, $p = 0.38$, Fig. 26C). También evaluamos la adaptación de los PA inducidos por una corriente despolarizante de 400 pA y descubrimos que el grupo A β local generaba una frecuencia de disparo inicial más rápida (A β : 183.05 ± 16.68 Hz vs Veh: 111.30 ± 12.75 Hz; t de Student, $t(27) = 3.5$, $p = 0.001$, Fig. 26D) y una tasa de disparo en estado estacionario más rápida (A β : 24.27 ± 2.58 Hz, Veh: 16.17 ± 1.63 Hz; t de Student, $t(27) = 2.8$, $p = 0.009$, Fig. 26E) que las mostradas por el grupo control. Si bien el grupo A β local mostró una constante de tiempo de adaptación más corta (τ_{Adapt} ; A β : 20.05 ± 2.36 ms, t de Student, $t(27) = 2$, $p = 0.05$) que el grupo control (Veh: 30.14 ± 3.93 ms, Fig. 26F), la adaptación medida como el factor de atenuación (ver Materiales y Métodos) no mostró diferencias entre los grupos (A β : 0.86 ± 0.01 , Veh: 0.84 ± 0.02 , Fig. 26G).

6.4.3 *El A β_{1-42} local no genera cambios en la transmisión sináptica basal o en la STP, pero bloquea el mantenimiento de la LTP*

Los efectos deletéreos del péptido A β_{1-42} se han relacionado con cambios en la plasticidad sináptica a corto y largo plazo (Joseph et al., 2021; A. Kumar et al., 2019; Salgado-Puga et al., 2017). Por ello, caracterizamos las propiedades sinápticas de las neuronas piramidales de la PFC en cortes obtenidos 3-4 semanas (semana postnatal 11) después de la inyección local en la PFCm con A β_{1-42} (local, $n = 10$) o su vehículo (control, $n = 11$) (Fig. 8).

Al evaluar las sPSCs en las neuronas registradas a -70 mV no encontramos diferencias en la frecuencia de estas sPSCs entre los grupos A β local y control (10.7 ± 1.9 y 10.0 ± 0.6 Hz, respectivamente, U de Mann-Whitney $U = 50$, $p = 0.75$, Fig. 27B). Sin embargo, la amplitud de las sPSCs tendió a ser mayor en el grupo A β local (16.7 ± 0.7 pA) en

comparación con el grupo control (15.2 ± 0.7 pA; U de Mann-Whitney $U = 35$, $p = 0.17$, Fig. 27A)

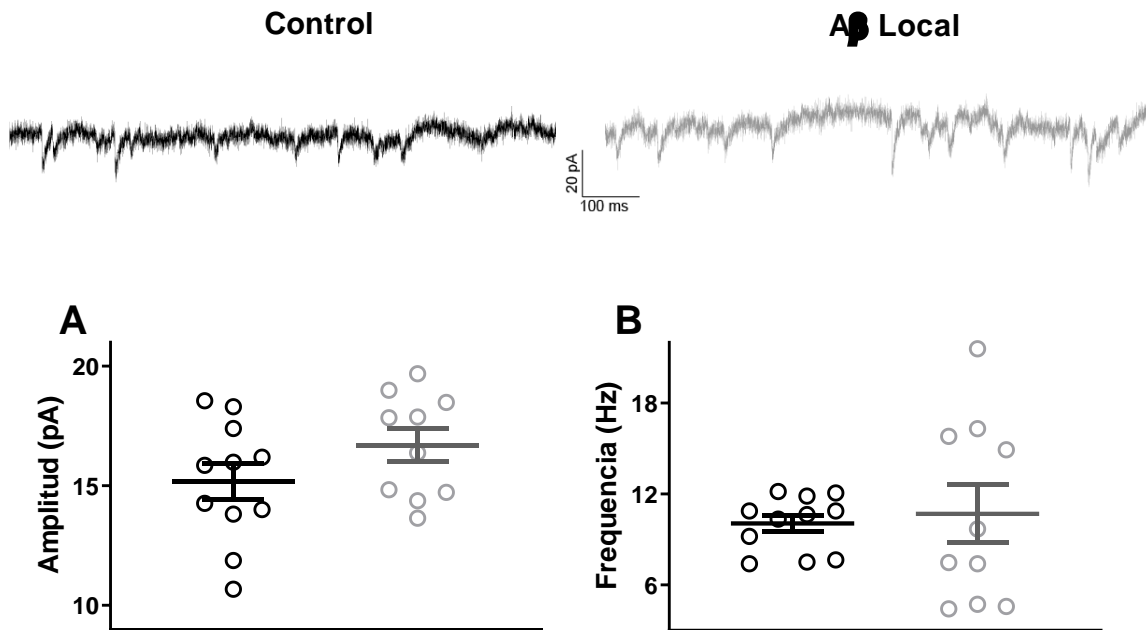


Fig. 27. El Aβ local no modifica las sPSCs de las células piramidales de la capa V de la PFCm.

Arriba. Trazos representativos de las sPSCs de los grupos Control (izquierda) y Aβ local (derecha). **A)** Amplitud de las sPSCs (t de Student $t(19) = 1.5$, $p = 0.15$). **B)** Frecuencia instantánea de las sPSCs (t de Student $t(19) = 0.33$, $p = 0.74$). Los datos se presentan individualmente, así como media \pm EE.

Así como con la administración del Aβ global, se estudiaron los EPSCs registrados en las neuronas piramidales y evocados por la estimulación de diferentes entradas sinápticas. Al evaluar la entrada del circuito HP-mPFC (Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017; Fig. 8), no se encontraron cambios ni en la amplitud ante diferentes magnitudes de estimulación [ANOVA de Modelo mixto, $I = F(4, 44) = 13.86$, $p = 0.001$]; grupo ($F(1, 11) = 1.21$, $p = 0.29$); $I \times$ grupo ($F(4, 44) = 0.51$, $p = 0.72$), *post-hoc* de Bonferroni; Fig. 28A] ni en su STP ante diferentes frecuencias de estimulación [ANOVA de Modelo mixto, Frecuencias = $F(4, 112) = 10.08$, $p = 0.001$]; grupo ($F(7, 28) = 0.4217$, $p = 0.88$); Frecuencias \times grupo ($F(28, 112) = 0.47$, $p = 0.98$), *post-hoc* de Bonferroni; Fig. 29A-B] en comparación con el grupo control.

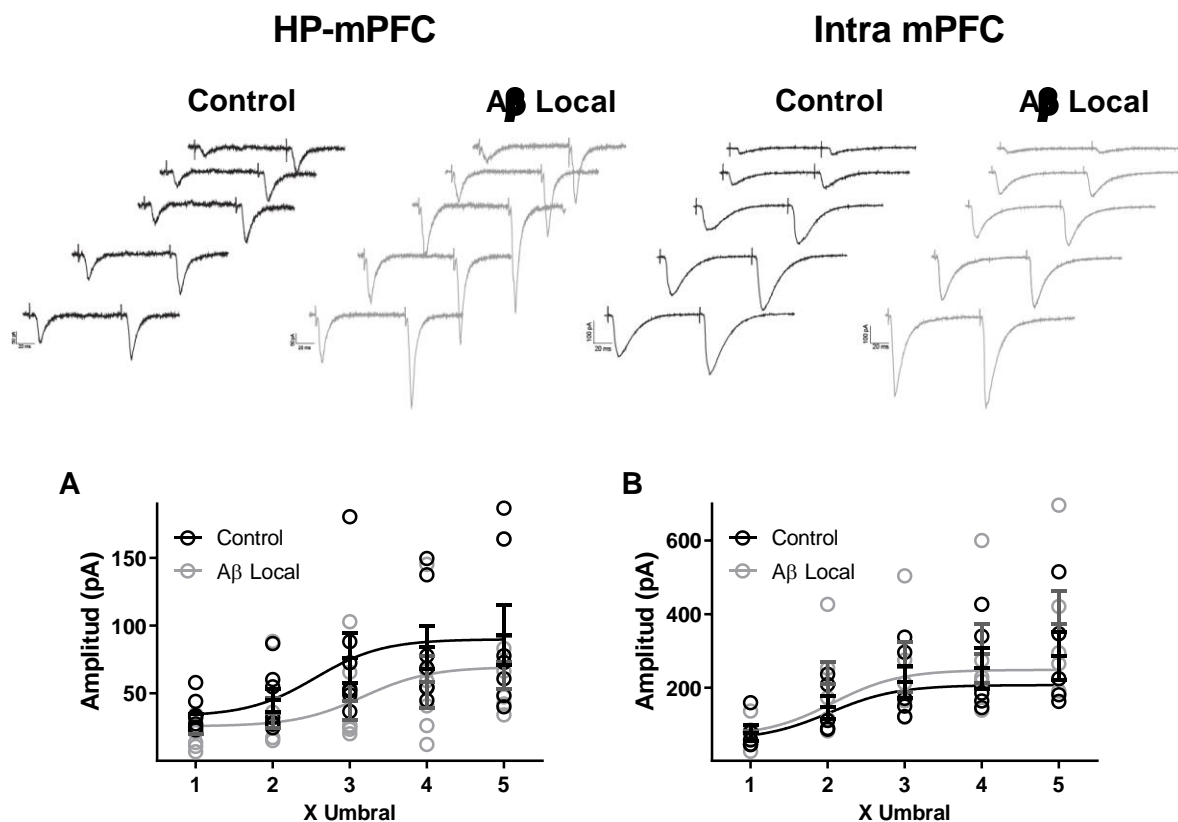


Fig. 28. El Aβ local no modifica a los EPSCs de las neuronas de la capa V de la PFCm.

Arriba. Trazos representativos de los EPSCs de las células piramidales de la capa V de la PFCm evocadas por pulsos pareados aplicados en el haz hipocampal (izquierda) o en la capa I (Intra PFCm; derecha) del grupo Control (izquierda) y Aβ (derecha). **A)** Amplitud de los EPSCs en función de la intensidad de estimulación (en unidades de Umbral) para la vía HP-PFCm [ANOVA de Modelo mixto, I= F (4, 44) = 13.86, p= 0.001]; grupo (F (1, 11) = 1.21, p= 0.29); I X grupo (F (4, 44) = 0.51, p= 0.72), *post-hoc* de Bonferroni]. **B)** Amplitud de los EPSCs en función de la intensidad de estimulación (en unidades de umbral) para la vía Intra-PFCm [ANOVA de Modelo mixto, I= F (4, 32) = 18.39, p= 0.001]; grupo (F (1, 8) = 0.42, p= 0.53); grupo X I (F (4, 32) = 0.49, p= 0.74), *post-hoc* de Bonferroni]. Se presentan ajuste a curva logarítmica a cada grupo de datos (mostrados individualmente), así como media ± EE.

Las similitudes entre los grupos experimentales, también se encontraron al evaluar los EPSCs evocados en las neuronas piramidales de la PFCm por su entrada intracortical (intra-PFC; Fig. 28B). No se encontraron diferencias entre los grupos en la amplitud cuando se estimuló a diferentes intensidades [ANOVA de modelo mixto, I= F (4, 32) = 18.39, p= 0.001]; grupo (F (1, 8) = 0.42, p= 0.53); I X grupo (F (4, 32) = 0.49, p= 0.74), *post-hoc* de Bonferroni ; Fig.28B] o en su STP ante la estimulación a diferentes frecuencias [ANOVA de Modelo mixto, Frecuencia= F (4, 100) = 28.36, p= 0.001]; grupo (F (6, 25) = 1.52 p= 0.21); Frecuencias X grupo (F (24, 100) = 1.21, p= 0.24, Fig. 29C-D].

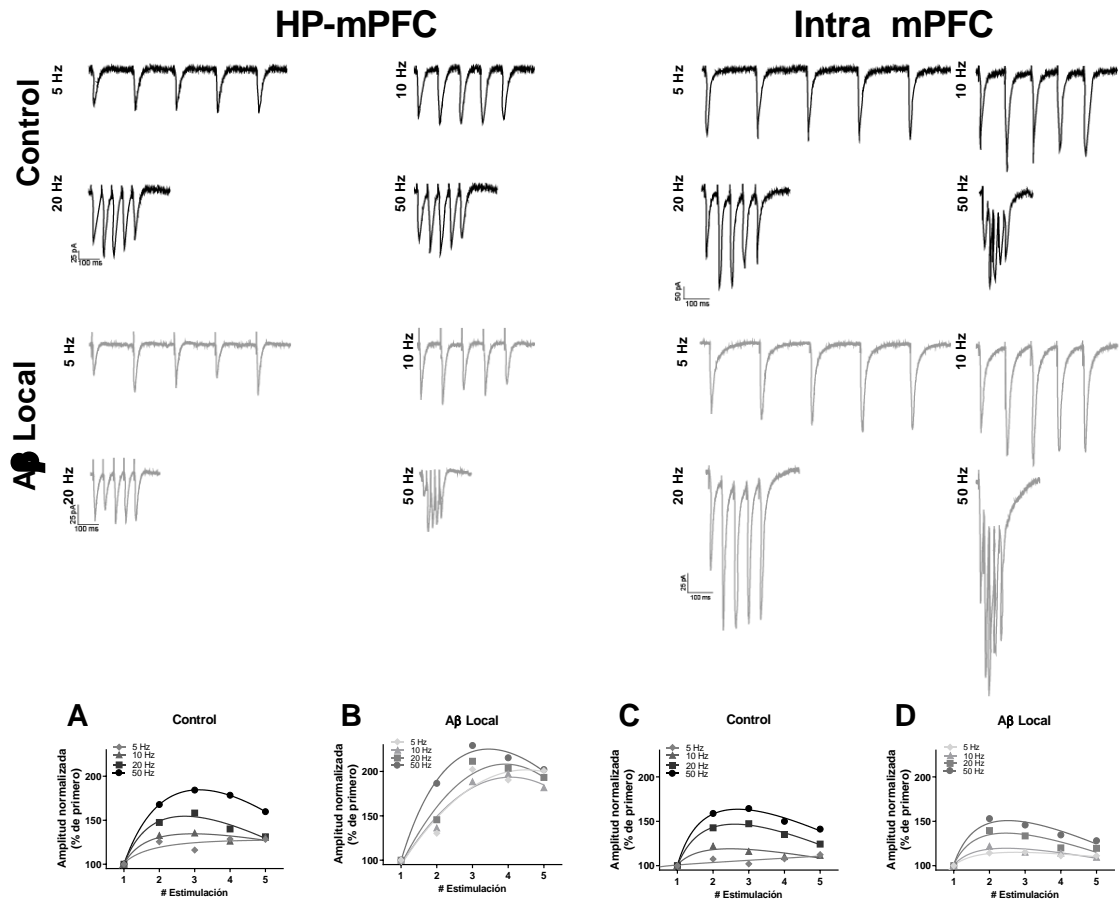


Fig. 29. El Aβ local no afecta a la STP de neuronas de la capa V de la PFCm.

Arriba. Trazos representativos de EPSCs de células piramidales de la capa V de la PFCm evocados por trenes de estimulación a diferentes frecuencias, en la vía HP-mPFC (izquierda) o intra-PFCm (derecha) para grupo Control (arriba) y Aβ (abajo). Se presenta la amplitud normalizada (primer EPSP como 100%) ante diferentes frecuencias de estimulación en la vía HP-mPFC de los grupos Control y Aβ (**A-D**) [ANOVA de Modelo mixto ANOVA, Frecuencia= $F(4, 112) = 10.08$, $p = 0.001$]; grupo ($F(7, 28) = 0.4217$, $p = 0.88$); Frecuencias X grupo ($F(28, 112) = 0.47$, $p = 0.98$), *post-hoc* de Bonferroni], así como por trenes de estímulos a diferentes frecuencias en la vía Intra-PFCm en el control y Aβ (**E-D**) [ANOVA de Modelo mixto, Frecuencia= $F(4, 100) = 28.36$, $p = 0.001$]; grupo ($F(6, 25) = 1.52$, $p = 0.21$); Frecuencia X grupo ($F(24, 100) = 1.21$, $p = 0.24$), *post-hoc* de Bonferroni]. Se presentan ajuste a curvas hiperbólicas a cada grupo de datos (mostrados como la media)

Por último, evaluamos la LTP inducida por la estimulación tetánica (Herry & Garcia, 2002; Salgado-Puga et al., 2017; Fig. 30) de la sinapsis intracortical y de la vía HP-PFCm. La infusión local del Aβ ($n=5$) bloquea la LTP en la vía HP-mPFC (Fig.30A). Mientras que el grupo control ($n=5$) mostró una LTP de 159.80 ± 33.43 % del basal 40 min después de la estimulación tetánica de la vía HP-mPFC (Fig. 30B). Más aún, en el grupo Aβ local existió inducción de la potenciación post-tetánica, pero no mantenimiento de LTP, e incluso se condujo una LTD como respuesta tardía a la estimulación tetánica de la vía HP-mPFC (91.41

$\pm 3.6\%$ de la basal; U de Mann-Whitney, $U=0$, $p=0.0079$). Encontramos resultados similares en la sinapsis intracortical (Fig. 30). El grupo control ($n=5$) mostró una LTP de 173.30 ± 35.05 del basal 40 min después de la estimulación tetánica de la vía intracortical ($n=5$; Fig. 30C). Por el contrario, el grupo $A\beta$ mostró una LTD 40 min después de la estimulación tetánica de la vía intracortical ($n=5$; $68.98 \pm 20.47\%$ de la basal; U de Mann-Whitney, $U=1$, $p=0.015$; Fig. 30D).

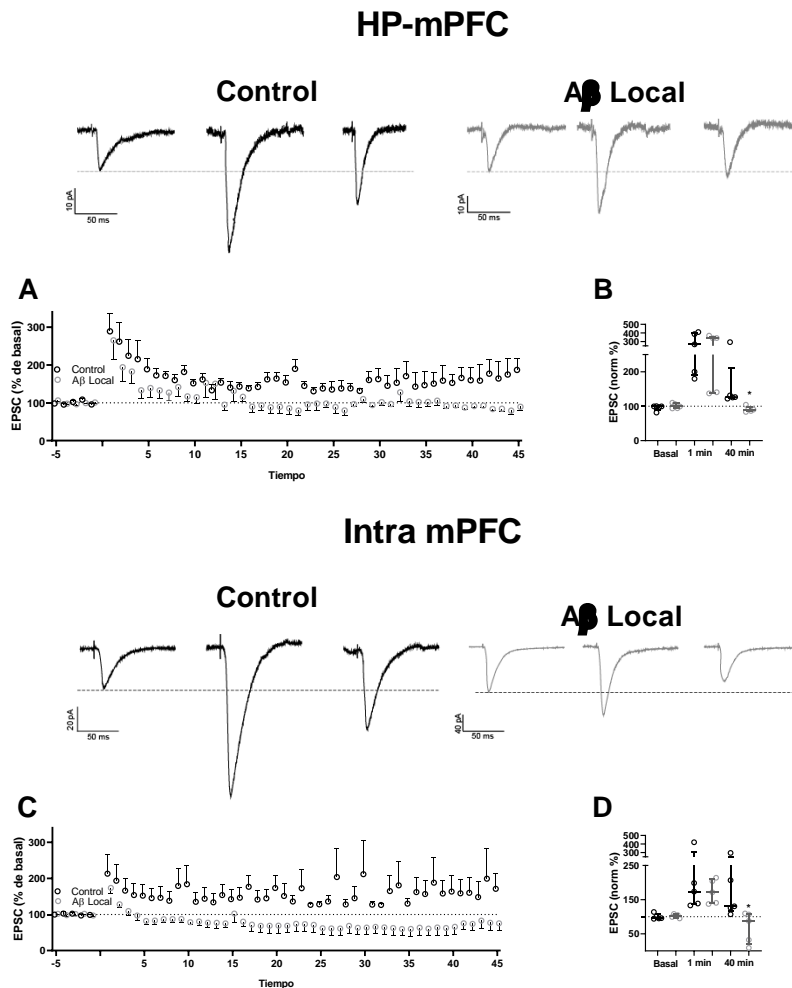


Fig. 30. El $A\beta$ local bloquea la LTP de las células piramidales de la capa V de la PFCm e induce LTD.

Arriba. Trazos representativos de EPSCs evocados en la vía HP-PFCm en condiciones basales (izquierda), tras la HFS (centro) y 40 min después de la HFS (derecha) para el grupo Control (arriba) y $A\beta$ Local (abajo). **A)** Curso temporal de la amplitud EPSC normalizada antes y después de la HFS de la vía HP-mPFC. **B)** Cuantificación de la amplitud EPSC normalizada 1 min y 40 min después de la HFS (U de Mann-Whitney, $U=0$, $p=0.0079$). **Abajo.** Trazos representativos de EPSCs evocados en la vía Intra-PFCm en condiciones basales (izquierda), tras la HFS (centro) y 40 min después de la HFS (derecha) para controles (arriba) y grupo $A\beta$ Local (abajo). **C)** Curso temporal de la amplitud EPSC normalizada antes y después de la tetanización de la vía Intra-PFCm. **D)** Cuantificación de la amplitud EPSC normalizada 1 min y 40 min después de la HFS (U de Mann-Whitney, $U=1$, $p=0.015$). Los datos se presentan como media \pm EE (A y C) o como mediana \pm rango intercuartilar (B y D).

7 DISCUSIÓN

Los estadios tempranos de la EA, se caracterizan por el deterioro cognitivo asociado a las funciones ejecutivas, como la MT y la FC (Morris y Baddeley, 1988, Kensinger et al., 2003, Klupp et al., 2015). Este deterioro se ha relacionado con la acumulación del $A\beta_{1-42}$ en la PFC (Jack et al., 2008; Mander et al., 2015; Mori et al., 2014) y con alteraciones en la actividad eléctrica asociada a esta acumulación (Joseph et al., 2021; Klupp et al., 2015; Kumar et al., 2019; Mander et al., 2015). A fin de relacionar estos procesos patológicos, en el presente trabajo mostramos que una sola inyección del $A\beta_{1-42}$ (tanto ICV, como intra-PFC), conduce a la acumulación del $A\beta_{1-42}$, reduce el aprendizaje, la MT y la FC, estudiadas en dos paradigmas conductuales. Las alteraciones conductuales se asociaron con cambios electrofisiológicos. La aplicación de una sola inyección ICV del $A\beta_{1-42}$, incrementa la actividad sináptica espontánea y bloquea la LTP, mientras que los efectos de la inyección local del $A\beta_{1-42}$ generan un mayor número de cambios en la actividad de las neuronas piramidales de la capa V de la PFCm como es un aumento de la frecuencia de disparo, un mayor potencial sag, un aumento del AHPf, así como el bloqueo del mantenimiento de la LTP tanto en la vía HP-PFC como en las sinapsis intracorticales. Estos hallazgos muestran que el $A\beta_{1-42}$ puede afectar la excitabilidad de la PFCm y a su plasticidad sináptica, dañando las funciones dependientes de la PFC, lo que podría constituir la base de las alteraciones tempranas de las funciones ejecutivas en los pacientes con EA.

Tanto nuestro grupo de trabajo como otros grupos de investigación han demostrado que una inyección única del $A\beta$, ya sea por las vías ICV (Martínez-García et al., 2021; Stepanichev et al., 2003; Y. Zhang et al., 2013), intracisternal (Alcantara-Gonzalez et al., 2019) o intraparenquimatosa (Haghani, Janahmadi, et al., 2012; Hruska & Dohanich, 2007; Salgado-Puga et al., 2017), afecta a la actividad de diversos circuitos neuronales (Alcantara-Gonzalez et al., 2019; Martínez-García et al., 2021; Salgado-Puga et al., 2017) y altera diferentes aspectos del aprendizaje y la memoria dependiente de varios circuitos neuronales (Eslamizade et al., 2015; Haghani, Janahmadi, et al., 2012; Hruska & Dohanich, 2007; Martínez-García et al., 2021; Salgado-Puga et al., 2017; Stepanichev et al., 2003; S.

Wang et al., 2016; Zhen & Zhang, 2015). Sin embargo, nuestra reciente revisión bibliográfica muestra que, este tipo de caracterización nunca se ha realizado en la PFCm, aunque sí que se han explorado las consecuencias de la administración intra-PFC sobre la función hipocampal (Eslamizade et al., 2015; Haghani, Shabani, et al., 2012).

En el presente trabajo, encontramos que una sola inyección ICV o intra-PFC del A β redujo el aprendizaje, el desempeño sin retrasos, así como la MT en el laberinto de la Figura-8, mientras que impide la FC en este mismo laberinto (Figs. 14, 15, 24). Como ha sido reportado anteriormente (Pedigo et al., 2006; Schaefers & Winter, 2011; Van Heusden et al., 2021), los animales aprenden rápidamente y mantienen el máximo rendimiento en la versión NMS del laberinto Figura-8, lo que requiere de la función normal de la PFC (Pedigo et al., 2006; Yoon et al., 2008).

Por su parte, los experimentos con el laberinto modificado en T, mostraron que una sola inyección ICV del A β_{1-42} bloquea el aprendizaje de una regla MS *de novo*, así como impide la evocación de ésta y afecta la MT (Figs. 16, 17). Efectos similares del A β sobre la adquisición de un nuevo aprendizaje espacial ya han sido reportados previamente (Nakamura et al., 2001; Stackman et al., 2003; Stepanichev et al., 2003). Nakamura et al (2001), reportó que la inyección ICV del A β_{1-42} reduce el desempeño en la tarea de alternancia espacial espontánea presentada por primera vez en un laberinto en Y, además de incrementar las latencias de escape durante el aprendizaje del laberinto acuático de Morris (Nakamura et al., 2001). Este efecto en la adquisición de una tarea de memoria espacial no es exclusiva del A β_{1-42} , pues efectos similares han sido reportados con la inyección ICV del A β_{25-35} , que reduce la alternancia espontánea en el laberinto en Y, así como reduce el desempeño en el entrenamiento y reentrenamiento en el laberinto radial de ocho brazos (Stepanichev et al., 2003). Por su parte, en el modelo transgénico Tg2576 se ha reportado un aprendizaje deficiente y, por lo tanto, daños en la adquisición de una regla espacial en el laberinto acuático de Morris (Stackman et al., 2003).

En el presente trabajo, durante el primer día de entrenamiento, las ratas del grupo A β global mostraron deterioros en el aprendizaje de la regla MS en laberinto modificado en T, ya que mostraron un porcentaje de RC por debajo del azar. Ello no necesariamente indica una preferencia por un sitio del laberinto, sino la reiteración en el uso de una regla que es innata, como es la alternancia espacial (Dember & Fowler, 1958), que es la base de la regla NMS (Hughes, 2004). La alternancia espacial se define como la tendencia natural de responder de forma sucesiva ante dos o más alternativas espaciales y permite explorar sucesivamente diferentes lugares (Dember & Fowler, 1958; Hughes, 2004). Este tipo de conducta está altamente preservada en diferentes especies, incluidos los humanos y roedores (Deacon et al., 2003; Dember et al., 1989; Richman et al., 1986) Esta conducta tiene un alto valor adaptativo dada su importancia para la búsqueda de alimento (Richman et al., 1986); por lo que, solo daños considerables a las estructuras involucradas producen un cambio en este tipo de conductas (Deacon et al., 2003).

Investigaciones previas han mostrado que, aunque una inyección única del A β intrahipocampal o intra-PFC no afecta al aprendizaje de la memoria dependiente del contexto (Eslamizade et al., 2015; Haghani, Janahmadi, et al., 2012; Salgado-Puga et al., 2017), puede afectar su evocación (Sánchez-Rodríguez et al., 2019). Aquí encontramos que una sola inyección ICV del A β_{1-42} afecta ligeramente el aprendizaje de la versión NMS del laberinto de la Figura-8 (Fig. 14), mientras que en una memoria más lábil como la estudiada en el laberinto modificado en T, podemos observar un cambio más robusto (Fig. 17). En esta línea, hallazgos previos indican que la inyección ICV del A β induce un deterioro en el aprendizaje del laberinto radial de ocho brazos (el cual es un laberinto de un alto requerimiento cognitivo, como el laberinto modificado en T) (Stepanichev et al., 2003), el laberinto Y (Fukuda et al., 2020) y el laberinto acuático de Morris (Zhang et al., 2015). Estos resultados se contraponen a lo encontrado por McDonald, et al., (1994), quienes reportaron que la inyección del A β en el HP no tuvo impacto en la resolución de un laberinto radial de 8 brazos previamente aprendido. Por su parte Sweeney et al., (1997), también en un laberinto radial de 8 brazos, mostraron que el entrenamiento previo bloquea el efecto del

A β . Lo anterior, indica que los mecanismos celulares implicados en el aprendizaje son altamente resistentes al A β , pero pueden verse afectados por este péptido en condiciones específicas y en determinados circuitos (Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015), como lo fue observado en el presente trabajo para la PFCm y la MT.

Como se ha demostrado previamente (Pedigo et al., 2006; Schaefers & Winter, 2011; Van Heusden et al., 2021), en esta tesis también encontramos que la cantidad de las RC en el laberinto de la Figura-8 disminuye con la introducción de ITIs, en particular con los de duración más larga (5 min y 10 min), lo que reafirma que el laberinto de la Figura-8 es sensible para medir la MT (Jin & Maren, 2015; Pedigo et al., 2006; Schaefers & Winter, 2011; Van Heusden et al., 2021). Si bien la inyección del A β_{1-42} intrahipocampal o en otras regiones corticales afecta el desempeño en varios aspectos cognitivos (McLarnon & Ryu, 2008; Peña-Ortega, 2013); nosotros encontramos que la inyección del A β local deteriora la MT, lo que se refleja en una potenciación de la reducción de respuestas correctas en el laberinto de la Figura-8 cuando se introducen ITIs, reduciendo el desempeño incluso en retrasos más cortos. Por otra parte, los resultados con el laberinto modificado en T muestran efectos dañinos del A β_{1-42} aún sin ITIs. Originalmente, el laberinto modificado en T (Jones & Wilson, 2005) se propuso como una prueba que no requiere de ITIs para poder evaluar satisfactoriamente la MT, ya que las dimensiones del laberinto requieren de periodos de tiempo largos para poder ser resuelto. No obstante, al no poseer una modalidad con intervalos variables a lo largo de la resolución de la prueba, es difícil poder evaluar eficazmente la extinción dependiente del tiempo de la MT (Dudchenko, 2004). No es de nuestro conocimiento, que algún otro grupo de investigación haya utilizado ITIs en el laberinto modificado en T, y destaca que observamos un efecto aún más marcado en la MT tras la inyección ICV del A β_{1-42} . Efectos similares en la MT se han reportado recientemente en ratones transgénicos APP/PS1 evaluados en el laberinto en figura de 8 (Van Heusden et al., 2021), en el laberinto radial de ocho brazos (Stepanichev et al., 2003), en el laberinto Y (Fukuda et al., 2020) y en el laberinto acuático de Morris (Zhang et al., 2015).

Aunque se han observado alteraciones en la MT después de la inyección intrahipocampal del A β en el laberinto en Y (S. Wang et al., 2016), en el laberinto acuático de Morris y en el laberinto radial de 8 brazos (Hruska & Dohanich, 2007); hasta donde sabemos, esta tesis es la primera demostración de que el aumento de los niveles del A β en la PFCm es suficiente para inducir una alteración en la MT. De hecho, encontramos que el efecto deletéreo del A β es más robusto cuando se aplica en la PFCm (en contraposición a su aplicación ICV). Es bien sabido que los efectos deletéreos del A β dependen de la dosis (Salgado-Puga et al., 2015, 2017; Y. Wang et al., 2009), por lo que es probable que la aplicación local del péptido alcance concentraciones más altas en la PFCm, que aquellas alcanzadas por su aplicación ICV, produciendo probablemente mayores alteraciones. Esta diferencia entre el A β local y global se ha observado previamente comparando la infusión global e intrahipocampal en el laberinto radial de ocho brazos y el laberinto en Y (Stepanichev et al., 2003). En resumen, aquí hemos demostrado que el aumento del A β en el PFCm afecta a la MT, la cual es una función cognitiva que soporta las actividades diarias no rutinarias (Fuster, 2001; Miller & Cohen, 2001) y cuyas alteraciones inducidas por el A β tendrían un gran impacto en las funciones cognitivas de los pacientes durante las primeras etapas de la EA (Kensinger et al., 2003; Klupp et al., 2015; Morris & Baddeley, 1988).

En esta tesis también describimos que la administración global del A β afecta la FC, ya que los animales eran incapaces de cambiar de una regla NMS a una MS (Fig. 15). Como se mencionó previamente, la resolución de tareas con una regla NMS requiere de la alternancia espacial la cual está altamente conservada (Dember et al., 1989; Richman et al., 1986), por lo que el cambio a una regla MS requiere de FC (Dember & Fowler, 1958). Si los animales tiene daños en la flexibilidad cognitiva hay un incremento en la perseveración de las respuestas incorrectas y en el bloqueo del aprendizaje reverso (Schwabe et al., 2004), como fue observado en la presente tesis.

Diversos estudios han demostrado que la FC está afectada en ratones Tg2576 APPsw, junto con otras funciones cognitivas (Zhuo et al., 2008), lo que se reproduce en

ratones APP/PS1-21 (Van den Broeck et al., 2019), ratones TgCRND8 (Romberg et al., 2013), ratones APPsw (Zhuo et al., 2007), ratones APPNL- G-F (Latif-Hernandez et al., 2019) y ratones 5XFAD (Kim et al., 2021). Cabe destacar que la desconexión de la vía HP-PFCm en ratas genera conductas impulsivas y compulsivas, es decir, los animales reiteran constantemente en reglas previamente aprendidas y, por tanto, no son capaces de utilizar una nueva regla, lo cual muestra déficits en el control inhibitorio y en la FC (Chudasama et al., 2012). Por lo tanto, los daños en la FC causados por el A β podrían deberse a un efecto sobre esta vía. Lo anterior, se relaciona con observaciones en sujetos con la EA, que probablemente cursan con niveles altos del A β en la PFC (Kim et al., 2021), y que presentan cambios en la conectividad funcional de la PFC con diferentes áreas, incluido el HP (Latif-Hernandez et al., 2019). Es de destacar que, hasta donde sabemos, esta es la primera demostración de que el A β afecta directamente a la FC, lo que sería la base de lo que se ha encontrado en pacientes con EA, los cuales presentan deterioros para adaptarse continuamente a entornos y demandas cambiantes (Mueller et al., 2019; Scheltens et al., 2021).

Sin embargo, no descartamos que los efectos en la FC causados por el A β global, sean producto de modificaciones en la actividad del HP. En otros modelos transgénicos de la EA como el APP^{h/h} se observan déficits en el aprendizaje reverso de una regla operante, que está acompañado con la acumulación preferencial de A β en el HP (Pham et al., 2022). Efectos similares sobre la FC también se han observado en el modelo transgénico 5xFAD (Gray et al., 2018), en el modelo APP/PSEN1 (Wilcox et al., 2021), así como con la infusión ICV de A β ₁₋₄₂ (Petrasek et al., 2016).

Por otra parte, la inyección global de A β ₁₋₄₂ podría estar afectando otras regiones cerebrales afectadas en las etapas iniciales de la EA. Por ejemplo, Wu et al., (2018) reportaron que la inyección de A β ₂₅₋₃₅ en el septo medial, el cual es el principal núcleo colinérgico que proyecta al HP; lentifica la adquisición del laberinto acuático de Morris y bloquea el aprendizaje reverso. Además de bloquear la LTP, sin modificar los procesos de plasticidad sináptica a corto plazo de la región CA1 del HP (Wu et al., 2018), efecto similar

a lo reportado en el presente trabajo. Resultados similares fueron encontrados en el modelo transgénico APPSwe/PS1dE9, en donde los fallos en el aprendizaje espacial, así como en la FC estuvieron acompañados con la acumulación de A β en el HP y en la corteza, además de cursar con una disminución del tono colinérgico (Savonenko et al., 2005).

Ello sugiere que los efectos en la FC observados en la presente tesis tras la infusión global de A β_{1-42} podrían generar daños en otras regiones cerebrales que modifican la actividad hipocampal y por tanto su comunicación con la PFCm (Wu et al., 2018). Cabe destacar que otros núcleos colinérgicos como el núcleo pedúnculo pontino y sus proyecciones a regiones como la sustancia nigra y el núcleo medial dorsal del tálamo, modulan la adquisición del aprendizaje reverso y la FC (Ruan et al., 2022). La actividad colinérgica también está asociada a la MT (Deiana et al., 2011), la FC (Prado et al., 2017; Saber & Cain, 2003), a la extinción de las respuestas condicionadas (Deiana et al., 2011), y al deterioro inducido por la infusión ICV de A β_{1-42} (Petrasek et al., 2016), lo cual mimetiza lo observado en las etapas iniciales de las EA (Slotkin et al., 1990).

En la presente tesis no se evaluó el efecto de la inyección local de A β sobre la FC. Debido a los cambios en la actividad eléctrica y sináptica tras la infusión de A β local fueron más prominentes que aquellos causados por la inyección global; hipotetizamos que la inyección intra-PFC generará un mayor daño en la FC que el causado por la inyección global. Estudios posteriores podrían ser encaminados a conocer el impacto de A β en otras regiones cerebrales y sistemas de neurotransmisión, así como su posible interacción con el funcionamiento de la vía HP-PFCm y las funciones cognitivas asociadas a esta vía (Pettit et al., 2001).

En esta tesis se describe que, sin importar el sitio de inyección y sin afectar a la mayoría de las propiedades subumbrales de las neuronas (Tamagnini et al., 2015), las alteraciones inducidas por el A β_{1-42} en las funciones dependientes de la PFCm se correlacionaron con un aumento de los disparos de las células piramidales de la capa V, lo

que se asemeja a los cambios en la actividad neuronal inducidos por la inducción viral de la presencia intra-PFC del A β (Koukouli et al., 2016) o por su administración directamente sobre rebanadas de la PFC (Gu et al., 2003; Ren et al., 2018; Y. Wang et al., 2009). En específico, nuestros hallazgos coinciden con los que muestran que la aplicación aguda del A β en rebanadas de PFCm aumenta la excitabilidad de las células piramidales de la PFC (Gu et al., 2003, Wang et al., 2009, Ren et al., 2018). En este caso, el aumento en la excitabilidad inducido por el A β se asoció a un aumento en la resistencia de entrada (Ren et al., 2018) y la despolarización del potencial de membrana (Gu et al., 2003), la reducción de la inhibición sináptica (Ren et al., 2018) y/o el aumento de la excitación sináptica (Gu et al., 2003). Si bien, nuestros resultados muestran que la presencia crónica del A β no cambia ni la resistencia de entrada de las células piramidales de la PFC, ni su potencial de membrana (Fig. 18, 25), en esta tesis no probamos el estado de la inhibición sináptica en nuestras condiciones experimentales, lo que representa una perspectiva de este trabajo.

El aumento en la frecuencia de disparo inducido por el A β en las células piramidales de la PFCm coincide con la hiperexcitabilidad mostrada por las células piramidales de la PFC en animales envejecidos con deterioro cognitivo (Luebke & Amatrudo, 2012), con la observada en ratones transgénicos APP^{swe}/PS1^{dE9} (Kellner et al., 2014) y con el aumento de la excitabilidad en la PFC de pacientes con EA (Joseph et al., 2021). Curiosamente, mientras que concentraciones bajas del A β reducen la sincronización de la PFC (Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017; Y. Wang et al., 2009), dosis altas de este péptido cambian este efecto hacia la hiperexcitación y la hipersincronización (Y. Wang et al., 2009), como podría ser el caso del presente estudio. Las alteraciones funcionales encontradas en esta tesis y en los antecedentes podrían explicar por qué la acumulación del A β en el PFC (Jack et al., 2008; Mander et al., 2015; Mori et al., 2014) se asocia con alteraciones en la actividad de la PFC (Klupp et al., 2015; Mander et al., 2015) y la excitabilidad (Joseph et al., 2021) en pacientes con EA, lo que se correlacionan con sus deterioros cognitivos y ejecutivos (Joseph et al., 2021).

Los cambios en la excitabilidad neuronal inducidos por el A β se deben a alteraciones en diversos canales iónicos (Eslamizade et al., 2015; Haghani, Shabani, et al., 2012), que pueden incluir a los canales activados por hiperpolarización y nucleótidos cíclicos (HCN, por sus siglas en inglés), implicados en la generación de la corriente activada por hiperpolarización (I_h) y la generación del potencial de membrana sag (Eslamizade et al., 2015; Haghani, Janahmadi, et al., 2012; Peña- Ortega et al., 2006). De hecho, en el presente trabajo encontramos que el A β local (intra-PFCm) aumenta el potencial sag en las neuronas piramidales de la PFCm, lo que es muy similar a lo que se ha encontrado en las neuronas piramidales del HP tras la administración intra-PFC del A β (Eslamizade et al., 2015; Haghani, Janahmadi, et al., 2012). Este cambio en el potencial sag se correlaciona con el aumento de la I_h inducido por el A β , lo que a su vez correlacionó con un incremento en la expresión de los canales HCN (Eslamizade et al., 2015). Curiosamente, los canales HCN contribuyen al disparo persistente intrínseco estereotipado de las células piramidales de la PFC durante la MT (Gamo et al., 2015; M. Wang et al., 2007) y su bloqueo o *knockdown* en la PFCm mejora el rendimiento de la MT (M. Wang et al., 2007) y previene el deterioro de la MT inducido por el estrés (Gamo et al., 2015), lo que podría ser una estrategia terapéutica muy útil contra el deterioro de la MT inducido por el A β y posiblemente contra la EA.

En esta tesis también encontramos que el A β local aumenta el AHPf en las células piramidales de la PFC, lo que es similar al aumento del AHP durante la perfusión aguda del A β en rebanadas de PFC (Wang et al., 2009) o el observado en las células piramidales del HP después de la administración intra-PFC del A β (Haghani, Janahmadi, et al., 2012). Estos cambios en el AHP observados con anterioridad correlacionaron con efectos variables sobre la excitabilidad celular (Haghani, Janahmadi, et al., 2012; Y. Wang et al., 2009). Aunque, como ocurrió en esta tesis, el aumento del AHP inducido por el A β coexiste con una excitabilidad celular elevada (Y. Wang et al., 2009), también se puede encontrar el escenario opuesto, ya que un aumento de AHP, también inducido por el A β , puede coexistir con una disminución de la excitabilidad celular (Haghani, Janahmadi, et al., 2012). Así, un aumento del AHP no siempre coincide con un aumento de la excitabilidad (Haghani, Janahmadi, et

al., 2012; Y. Wang et al., 2009), sino que produce efectos diversos sobre la excitabilidad incluso en condiciones experimentales idénticas (Y. Wang et al., 2009). No obstante, se ha observado un aumento del AHP en las células piramidales de la PFCm de monos de edad avanzada que simultáneamente presentan deterioro cognitivo en tareas conductuales de NMS, lo que se correlaciona con un aumento de la frecuencia de disparo, como se observó en nuestras condiciones experimentales (Luebke & Amatrudo, 2012). Además, el bloqueo con apamina de las corrientes iónicas implicadas en la generación del AHP, en la PFCm, mejora el rendimiento de la MT en ratas (Brennan et al., 2008), lo que podría ser útil contra el deterioro de la MT inducido por el A β .

Con respecto a la transmisión sináptica, los efectos inducidos por el A β son altamente variables y dependen de las sinapsis específicas que se analicen (Peña-Ortega & Bernal-Pedraza, 2012; Roder et al., 2003; Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015; Shipton et al., 2022; Y. Wang et al., 2009). En esta tesis encontramos que solo con la administración del A β global se genera una modificación en la actividad sináptica basal, incrementando la frecuencia y amplitud de las EPSCs espontáneas de las neuronas piramidales de la capa V de la PFCm. En concordancia con estos resultados, se ha reportado que la perfusión aguda del A β en rebanadas coronales de la PFC reduce la transmisión sináptica inhibitoria, incrementando la excitabilidad de las neuronas piramidales de la corteza cingulada anterior (Ren et al., 2018), lo cual también empata con el incremento en la frecuencia de disparo encontrado en el presente trabajo.

Hallazgos en otro tipo de cortezas también son similares a nuestros resultados, pues la aplicación aguda de oligómeros del A β puede incrementar la frecuencia de los sEPSC en rebanadas de la corteza entorrinal así como cultivos organotípicos (Arsenault et al., 2011, 2020). De igual manera, en el modelo 3xTg-AD se pueden observar incrementos en la frecuencia de la actividad sináptica espontánea también en la corteza entorrinal (Alberdi et al., 2010). Estos efectos sobre la transmisión sináptica basal en la PFCm también se han

reportado en animales envejecidos con problemas de exploración y aprendizaje espacial, los cuales presentaba un incremento en la frecuencia de las mIPSC (Bories et al., 2013).

De igual manera, experimentos con infusión intracelular del A β humano en cultivos de neuronas del HP incrementa la frecuencia y la amplitud de las corrientes sinápticas, particularmente las mediadas por el receptor tipo AMPA, esto sin alterar las propiedades intrínsecas de la membrana (Fernandez-Perez et al., 2021), como lo reportado en el presente trabajo.

Como se mencionó anteriormente, los efectos del A β son altamente variables. Por ejemplo, en el modelo APP/PS1 hay una reducción en la frecuencia las mEPSC de neuronas piramidales de la región CA1 del HP, sin modificar su amplitud (He et al., 2019). De hecho, estos hallazgos también han sido reportados con la perfusión aguda del A β_{1-42} en rebanadas de HP, donde se observó una reducción en la amplitud y en la frecuencia de los mEPSC de la región CA1 del HP (He et al., 2019).

La ausencia de efecto en el grupo con inyección global del A β en esta tesis, también es un evento que ya ha sido previamente reportado (Q. S. Chen et al., 2002; Stern et al., 2004). Stern et al.(2004), demostró que en el modelo APP695 se observa una transmisión sináptica cortical idéntica a la presentada por los animales control. En estudios con otro modelo transgénico, como es el APP23, tampoco se observaron alteraciones en la transmisión sináptica espontánea de la PFC *in vitro*. En cambio, en el HP hay una disminución de la misma (Roder et al., 2003). De igual manera, la perfusión de concentraciones bajas del A β en rebanadas no modificó la transmisión sináptica basal de la vía de las colaterales Schaffer (Q. S. Chen et al., 2002).

Sin embargo, también existe evidencia que demuestra que el A β puede reducir la transmisión sináptica basal. Hsia et al. (1999), mostraron una pérdida del 40% de la transmisión sináptica basal en rebanadas de HP en ratones transgénicos PDAPP. El deterioro

sináptico parecía deberse a una reducción significativa del número de sinapsis, no de la fuerza sináptica. También, al incrementar una mutación al modelo antes mencionado, se encontró un deterioro peor, que es atribuible a la acumulación de formas solubles del A β (Hsia et al., 1999). Efectos similares fueron replicados *in vitro* en el área CA1, lo que está acompañado con un aumento en la facilitación por pulsos pareados (Larson et al., 1999).

Por otra parte en el modelo APP23 hay una reducción de la transmisión sináptica basal en el HP en comparación con los ratones *wild type* (Roder et al., 2003). Además, con el modelo transgénico APP695-SWE se ha observado una reducción de la transmisión sináptica en la región CA1 del HP en comparación con los controles, pero sin afectar la facilitación por pulso pareado (Fitzjohn et al., 2001). En modelos de la EA donde se inyectó ICV A β , también se observó una disminución de la transmisión sináptica basal (Cullen et al., 1996; Stéphan et al., 2001).

En esta tesis no encontramos modificaciones en la plasticidad sináptica a corto plazo con la aplicación local o global del A β . Nuestros hallazgos coinciden con los obtenidos en ratones APP23 que no muestran cambios importantes en la transmisión sináptica y la plasticidad a corto plazo en la PFC (Roder et al., 2003); con la ausencia de cambios en la plasticidad a corto plazo observada en ratones APPNL-G-F (Latif-Hernandez et al., 2019) o tras la aplicación del A β a rebanadas de PFCm (Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017). Dado que la administración del A β no afecta la proporción en el pulso pareado (Freir et al., 2003; H. W. Wang et al., 2002), ni en las corrientes glutamatérgicas evocadas (Pettit et al., 2001), se ha propuesto que en ciertas condiciones el A β no altera la transmisión sináptica ni en los sitios presinápticos, ni en los postsinápticos (Peña-Ortega et al., 2006). Efectos similares se han encontrado en otras regiones cerebrales. Por ejemplo, en el modelo APP695, la transmisión sináptica evocada con el protocolo de pulsos pareados de la región CA1 y del giro dentado no presenta cambios (Chapman et al., 1999).

Sin embargo, en otros modelos transgénicos, como en el modelo APP/PS1 hay una reducción en la amplitud de la respuesta sináptica evocada en las neuronas piramidales de CA1 tras la estimulación de las colaterales de Schaffer (He et al., 2019). Un efecto similar ocurre durante la perfusión aguda del A β en rebanadas de animales WT, en donde también se presenta un reducción en la amplitud de los EPSC evocados (He et al., 2019). El incremento en la razón de pulso pareado en las células piramidales de CA1 tras la estimulación de las colaterales de Schaffer, indica una reducción en la probabilidad de liberación presináptica (He et al., 2019). Se sugiere que los efectos anteriormente descritos, son causados por la hidrólisis de fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP2) membranal que es causada por la activación del receptor mGluR5 presináptico (He et al., 2019). La interacción del A β con el mGluR5 presináptico se ha asociado a la supresión de la LTP y la facilitación de la LTD, ya que reduce la amplitud de los mEPSC (He et al., 2019; Hsieh et al., 2006).

Por último, en esta tesis encontramos una reducción consistente de la LTP, que se convierte en LTD, en diferentes entradas a la PFC tras la presencia crónica del A β global o local. Hasta donde sabemos, esta es la primera demostración de que el A β_{1-42} crónico altera la plasticidad a largo plazo en la PFCm. Este hallazgo contrasta con los efectos variables sobre la LTP tras la aplicación del A β en rebanadas de la PFC (Y. Wang et al., 2013) o con la LTP intacta observada en la PFC de ratones transgénicos APP23 (Lok et al., 2013; Roder et al., 2003). Curiosamente, nuestros hallazgos de alteraciones en la plasticidad sináptica producidos por el A β coinciden con los deterioros en la potenciación de la actividad cortical evocada utilizando estimulación pareada asociativa en pacientes con la EA (Kumar et al., 2019).

En otros circuitos (por ejemplo, en el HP) el A β no sólo deprime la inducción de LTP (Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015), sino que cambió LTP en LTD (Mayordomo-Cava et al., 2020; Sánchez-Rodríguez et al., 2017, 2020), lo que podría deberse a cambios inducidos por el A β en el umbral de inducción de LTP/LTD (Mayordomo-Cava et al., 2020; Sánchez-Rodríguez et al., 2017, 2020). En ratones de la cepa APP-SWE Tg2576, los cuales no

mostraron ninguna alteración importante en las propiedades intrínsecas neuronales, ni en la actividad sináptica basal de la región CA1 del HP, presentan un deterioro en el mantenimiento de la LTP tanto *in vivo* como *in vitro* (Chapman et al., 1999). Esto también ocurre en animales de la línea PDAPP antes de la formación de placas amiloides, también en CA1 (Moechars et al., 1999); así como en la línea hAPP (Moechars et al., 1999) y en la línea V717I (Peña- Ortega et al., 2006). Por su parte, la infusión del A β_{1-42} *in vitro*, inhibe significativamente la fase media y tardía de la LTP sin afectar la transmisión sináptica basal en la vía perforante.

Si bien el grueso de evidencias demostró que el A β_{1-42} reduce la LTP, existen algunas otras referencias que sugieren que no hay cambios en este fenómeno cuando aumenta el A β_{1-42} . Por ejemplo, en los ratones de la cepa APP23, no hay modificaciones en la inducción y mantenimiento de la LTP ni en el HP ni en la PFC (Roder et al., 2003). Efecto, similares también se replicaron el modelo APP695SWE (Fitzjohn et al., 2001). En el modelo de inyección ICV única, la inyección del A β sintético, causó una reducción en la transmisión sináptica basal y ningún cambio en la LTP en el giro dentado, 48 horas después de la inyección (Cullen et al., 1996). Incluso, Sun & Alkon (2002) reportaron que tras las inyección ICV no hay cambio ni en la transmisión sináptica basal ni en la LTP.

Similar a lo presentado en este trabajo, otros reportes han mostrado la ICV del A β_{1-42} facilita la inducción de LTD, particularmente en la región CA1 del HP en animales anestesiados (J. H. Kim et al., 2001). Así, el A β podría estar alterando los mecanismos celulares y de red implicados en los diferentes tipos de plasticidad a largo plazo y su equilibrio (Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015), lo que se ha relacionado ampliamente con deterioros de memoria (Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015). Además, el A β_{1-42} podría estar cambiando el umbral para la inducción de LTP y o LTD, alterando las propiedades metaplásticas de las redes neuronales (Mayordomo-Cava et al., 2020). Estas propiedades metaplásticas son necesarias para la reconfiguración adecuada de las redes neuronales durante el procesamiento de la memoria y su alteración conduce a deterioro cognitivo

(Mayordomo-Cava et al., 2020; Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015; Sánchez-Rodríguez et al., 2017, 2020). Así, junto con los cambios en la excitabilidad de las células piramidales de la PFC, sugerimos que estas alteraciones en la plasticidad sináptica inducidas por el A β podrían representar las bases de los deterioros en la función ejecutiva observados en pacientes con EA. Así, prevenir estas alteraciones funcionales podría convertirse en una vía potencial para tratar esta enfermedad.

8 CONCLUSIONES

- La inyección del A β global impide el aprendizaje de tareas de memoria espacial, como lo son el laberinto en figura de 8 y el laberinto modificado en T, asociadas a la vía HP-PFCm.
- La inyección del A β global daña la ejecución de tareas asociadas a la MT.
- La inyección del A β global impide el aprendizaje de una regla conductual nueva, bloqueado la FC.
- La inyección del A β local reduce el desempeño de tareas asociada a la MT.
- La inyección del A β global y local incrementa la excitabilidad de las neuronas piramidales de la capa V de la PFCm.
- La inyección del A β global incrementa la actividad sináptica espontánea de las neuronas piramidales de la capa V de la PFCm.
- La inyección del A β local y global bloquea el mantenimiento de la LTP en neuronas piramidales de la capa V de la PFCm evocada por la estimulación tetánica de la vía HP o de la vía intracortical
- Los efectos encontrados en el presente trabajo podrían ser la base de los síntomas asociados a las funciones ejecutivas durante los estadios tempranos de la EA

9 PERSPECTIVAS

- Ya que se observaron cambios en el sag y en la frecuencia de disparo en los grupos infundidos con A β , el estudio y aislamiento de la corriente IH podría ser de suma importancia para conocer el mecanismo celular que genera estos cambios funcionales y, posiblemente, conductuales.
- El incremento en la excitabilidad neuronal podría indicar cambios en la población de interneuronas de la PFC, por lo que es importante caracterizar los cambios inducidos por la inyección local y global del A β_{1-42} sobre las interneuronas.
- En el presente estudio, no se investigaron los cambios en la actividad sináptica inhibitoria espontánea y en la LTD, la cual podría explicar los cambios generados en la excitabilidad neuronal.
- Dado los cambios en la plasticidad sináptica a corto y largo plazo, sería importante estudiar los cambios en la razón de los receptores glutamatérgicos AMPA/NMDA.
- La EA afecta más a mujeres que a hombres y las alteraciones dependientes del sexo deben abordarse en experimentos futuros.

10 BIBLIOGRAFÍA

- Alberdi, E., Sánchez-Gómez, M. V., Cavaliere, F., Pérez-Samartín, A., Zugaza, J. L., Trullas, R., Domercq, M., & Matute, C. (2010). Amyloid β oligomers induce Ca^{2+} dysregulation and neuronal death through activation of ionotropic glutamate receptors. *Cell Calcium*, 47(3), 264–272. <https://doi.org/10.1016/J.CECA.2009.12.010>
- Alcantara-Gonzalez, D., Villasana-Salazar, B., & Peña-Ortega, F. (2019). Single amyloid-beta injection exacerbates 4-aminopyridine-induced seizures and changes synaptic coupling in the hippocampus. *Hippocampus*, 29(12), 1150–1164. <https://doi.org/10.1002/HIPO.23129>
- 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), 38–40. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075745>
- Anastasiades, P. G., & Carter, A. G. (2022). Circuit organization of the rodent medial prefrontal cortex. *Trends in Neurosciences*, 44(7), 550–563. <https://doi.org/10.1016/J.TINS.2021.03.006>
- Anderson, M. C., Bunce, J. G., & Barbas, H. (2016). Prefrontal–hippocampal pathways underlying inhibitory control over memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 134, 145–161. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.11.008>
- Arsenault, D., Julien, C., Tremblay, C., & Calon, F. (2011). DHA Improves Cognition and Prevents Dysfunction of Entorhinal Cortex Neurons in 3xTg-AD Mice. *PLoS ONE*, 6(2), 17397. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017397>
- Arsenault, D., Tremblay, C., Emond, V., & Calon, F. (2020). Sex-dependent alterations in the physiology of entorhinal cortex neurons in old heterozygous 3xTg-AD mice. *Biology of Sex Differences*, 11(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/S13293-020-00337-0/FIGURES/11>
- Baeg, E. H., Kim, Y. B., Kim, J., Ghim, J. W., Kim, J. J., & Jung, M. W. (2007). Learning-induced enduring changes in functional connectivity among prefrontal cortical neurons. *Journal of Neuroscience*, 27(4), 909–918. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4759-06.2007>
- Baker, A., Kalmbach, B., Morishima, M., Kim, X. J., Juavinett, X. A., Li, N., & Dembrow, N. (2018). Specialized subpopulations of deep-layer pyramidal neurons in the neocortex: bridging cellular properties to functional consequences. *J. Neuroscience*, 38(24), 5441–5455. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0150-18.2018>
- Ballesteros, S., Mayas, J., & Reales, J. M. (2013). Función cognitiva en mayores sanos y con déficit cognitivo leve. *Psicothema*, 25(1), 18–24. <https://doi.org/10.7334/PSICOTHEMA2012.181>
- Balleza-Tapia, H., Huanosta-Gutierrez, H., Marquez-Ramos, A., & Arias, H. (2010). Amyloid beta oligomers decrease hippocampal spontaneous network activity in an age-dependent manner. *Current Alzheimer Research*, 7(5), 453–462.

<https://doi.org/10.2174/156720510791383859>

- Barker, G. R. I., Banks, P. J., Scott, H., Ralph, G. S., Mitrophanous, K. A., Wong, L.-F., Bashir, Z. I., Uney, J. B., & Warburton, E. C. (2017). Separate elements of episodic memory subserved by distinct hippocampal–prefrontal connections. *Nature Neuroscience*, *20*, 242. <https://doi.org/10.1038/nn.4472>
- Barsegyan, A., McGaugh, J. L., & Roozendaal, B. (2023). Glucocorticoid effects on working memory impairment require l-type calcium channel activity within prefrontal cortex. *Neurobiology of Learning and Memory*, *197*, 107700. <https://doi.org/10.1016/J.NLM.2022.107700>
- Bate, C. (2017). Breaking the Cycle, Cholesterol Cycling, and Synapse Damage in Response to Amyloid- β . *Journal of Experimental Neuroscience*, *11*, 1179069517733096. <https://doi.org/10.1177/1179069517733096>
- Bazzigaluppi, P., Beckett, T. L., Koletar, M. M., Lai, A. Y., Joo, I. L., Brown, M. E., Carlen, P. L., McLaurin, J., & Stefanovic, B. (2017). Early stage attenuation of phase amplitude coupling in the hippocampus and medial prefrontal cortex in a transgenic rat model of AD. *Journal of Neurochemistry*. <https://doi.org/10.1111/jnc.14136>
- Benarroch, E. E. (2018). Glutamatergic synaptic plasticity and dysfunction in Alzheimer disease: Emerging mechanisms. *Neurology*, *91*(3), 125–132. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005807>
- Benchenane, K., Peyrache, A., Khamassi, M., Tierney, P. L., Gioanni, Y., Battaglia, F. P., & Wiener, S. I. (2010). Coherent theta oscillations and reorganization of spike timing in the hippocampal- prefrontal network upon learning. *Neuron*, *66*(6), 921–936. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2010.05.013>
- Bergin, D. H., Jing, Y., Zhang, H., & Liu, P. (2015a). A single intracerebroventricular AB 25-35 infusion leads to prolonged alteration in arginine metabolism in the rat hippocampus and prefrontal cortex. *Neuroscience*, *298*, 367–379. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.04.034>
- Bergin, D. H., Jing, Y., Zhang, H., & Liu, P. (2015b). A single intracerebroventricular A β 25–35 infusion leads to prolonged alterations in arginine metabolism in the rat hippocampus and prefrontal cortex. *Neuroscience*, *298*, 367–379. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2015.04.034>
- Bezprozvanny, I., & Mattson, M. P. (2008). Neuronal calcium mishandling and the pathogenesis of Alzheimer’s disease. *Trends in Neurosciences*, *31*(9), 454–463. <https://doi.org/10.1016/J.TINS.2008.06.005>
- Bizon, J. L., Foster, T. C., Alexander, G. E., & Glisky, E. L. (2012). Characterizing cognitive aging of working memory and executive function in animal models. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *4*, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2012.00019>
- Boone, K. B., Ghaffarian, S., Lesser, I. M., Hill-Gutierrez, E., & G. Berman, N. (1993).

- Wisconsin card sorting test performance in healthy, older adults: Relationship to age, sex, education, and IQ. *Journal of Clinical Psychology*, 49(1), 54–60. [https://doi.org/10.1002/1097-4679\(199301\)49:1<54::AID-JCLP2270490108>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-4679(199301)49:1<54::AID-JCLP2270490108>3.0.CO;2-6)
- Bories, C., Husson, Z., Guitton, M. J., & Koninck, Y. De. (2013). Differential balance of prefrontal synaptic activity in successful versus unsuccessful cognitive aging. *Journal of Neuroscience*, 33(4), 1344–1356. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3258-12.2013>
- Branchereau, P., Van Bockstaele, E. J., Chan, J., & Pickel, V. M. (1996). Pyramidal neurons in rat prefrontal cortex show a complex synaptic response to single electrical stimulation of the locus coeruleus region: evidence for antidromic activation and GABAergic inhibition using in vivo intracellular recording and electron micr. *Synapse (New York, N.Y.)*, 22(4), 313–331. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(199604\)22:4<313::AID-SYN3>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199604)22:4<313::AID-SYN3>3.0.CO;2-E)
- Brown, J. T., Chin, J., Leiser, S. C., Pangalos, M. N., & Randall, A. D. (2011). Altered intrinsic neuronal excitability and reduced Na⁺ currents in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 32(11), 2109.e1-2109.e14. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2011.05.025>
- Brown, J. T., Richardson, J. C., Collingridge, G. L., Randall, A. D., & Davies, C. H. (2005). Synaptic transmission and synchronous activity is disrupted in hippocampal slices taken from aged TAS10 mice. *Hippocampus*, 15(1), 110–117. <https://doi.org/10.1002/hipo.20036>
- Buckner, R. L., & Wheeler, M. E. (2001). The cognitive neuroscience of remembering. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2(9), 624--634.
- Burette, F., Jay, T. M., & Laroche, S. (1997). Reversal of LTP in the hippocampal afferent fiber system to the prefrontal cortex in vivo with low-frequency patterns of stimulation that do not produce LTD. *Journal of Neurophysiology*, 78(2), 1155–1160. <https://doi.org/10.1152/JN.1997.78.2.1155/ASSET/IMAGES/LARGE/JNP.AU24F2.JPEG>
- Bygrave, A. M., Jahans-Price, T., Wolff, A. R., Sprengel, R., Kullmann, D. M., Bannerman, D. M., & Kätzel, D. (2019). Hippocampal–prefrontal coherence mediates working memory and selective attention at distinct frequency bands and provides a causal link between schizophrenia and its risk gene GRIA1. *Translational Psychiatry*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0471-0>
- Calabro, F. J., Murty, V. P., Jalbrzikowski, M., Tervo-Clemmens, B., & Luna, B. (2020). Development of Hippocampal–Prefrontal Cortex Interactions through Adolescence. *Cerebral Cortex*, 30(3), 1548–1558. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhz186>
- Carlén, M. (2017). What constitutes the prefrontal cortex? *Science*, 358(6362), 478–482. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAN8868/SUPPL_FILE/AAN8868S5.MP4
- Chapman, P. F., White, G. L., Jones, M. W., Cooper-Blacketer, D., Marshall, V. J., Irizarry, M.,

- Younkin, L., Good, M. A., Bliss, T. V. P., Hyman, B. T., Younkin, S. G., & Hsiao, K. K. (1999). Impaired synaptic plasticity and learning in aged amyloid precursor protein transgenic mice. *Nature Neuroscience*, 2(3), 271–276. <https://doi.org/10.1038/6374>
- Chen, G.-J., Xiong, Z., & Yan, Z. (2013). A β impairs nicotinic regulation of inhibitory synaptic transmission and interneuron excitability in prefrontal cortex. *Molecular Neurodegeneration*, 8(1), 3. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-3>
- Chen, Q. S., Wei, W. Z., Shimahara, T., & Xie, C. W. (2002). Alzheimer amyloid β -peptide inhibits the late phase of long-term potentiation through calcineurin-dependent mechanisms in the hippocampal dentate gyrus. *Neurobiology of Learning and Memory*, 77(3), 354–371. <https://doi.org/10.1006/nlme.2001.4034>
- Churchwell, J. C., & Kesner, R. P. (2011). Hippocampal-prefrontal dynamics in spatial working memory : Interactions and independent parallel processing. *Behavioural Brain Research*, 225(2), 389–395. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.07.045>
- 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(6), 913–922. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.10.028>
- Collins, D. P., Anastasiades, P. G., Marlin, J. J., & Carter, A. G. (2018). Reciprocal circuits linking the prefrontal cortex with dorsal and ventral thalamic nuclei. *Neuron*, 98(2), 366–379.e4. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2018.03.024>
- Constantinidis, C., Funahashi, S., Lee, D., Murray, J. D., Qi, X. L., Wang, M., & Arnsten, A. F. T. (2018). Persistent spiking activity underlies working memory. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 38(32), 7020–7028. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2486-17.2018>
- Cortez, M., Ramirez, D., Cangiano, B., Coria.Lucero, C., Castro, A., Ledezma, C., Delsouc, M., Casais, M., Anzulovich, A., Gomez-Mejiba, S., & Navegatore-Fonzo, L. (2022). Intracerebroventricular injection of aggregated beta-amyloid (1-42) modifies the daily temporal organization of cognitive performance and antioxidant enzymes in the temporal cortex of the rat. *Free Radical Biology and Medicine*, 192, 41. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2022.10.059>
- Croxson, P. L., Johansen-Berg, H., Behrens, T. E. J., Robson, M. D., Pinski, M. A., Gross, C. G., Richter, W., Richter, M. C., Kastner, S., & Rushworth, M. F. S. (2005). Quantitative Investigation of Connections of the Prefrontal Cortex in the Human and Macaque using Probabilistic Diffusion Tractography. *J. Neuroscience*, 25(39), 8854–8866. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1311-05.2005>
- Cullen, W. K., Wu, J., Anwyl, R., & Rowan, M. J. (1996). beta-Amyloid produces a delayed NMDA receptor-dependent reduction in synaptic transmission in rat hippocampus. *Neuroreport*, 8(1), 87–92. <https://doi.org/10.1097/00001756-199612200-00018>

- Cummings, J. L., & Cole, G. (2002). Alzheimer Disease. *JAMA*, 2335–2338.
- Dalley, J. W., Cardinal, R. N., & Robbins, T. W. (2004). Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: Neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28(7), 771–784. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.006>
- Deacon, R. M. J., Penny, C., & Rawlins, J. N. P. (2003). Effects of medial prefrontal cortex cytotoxic lesions in mice. *Behavioural Brain Research*. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(02\)00225-5](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(02)00225-5)
- Deacon, R. M. J., & Rawlins, J. N. P. (2006). T-maze alternation in the rodent. *Nature Protocols*, 1(1), 7–12. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.2>
- Debanne, D., Guérineau, N. C., Gähwiler, B. H., & Thompson, S. M. (1996). Paired-pulse facilitation and depression at unitary synapses in rat hippocampus: quantal fluctuation affects subsequent release. *The Journal of Physiology*, 491(1), 163–176. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021204>
- Dember, W. N., & Fowler, H. (1958). Spontaneous alternation behavior. *Psychological Bulletin*. <https://doi.org/10.1037/h0045446>
- Dember, W. N., Richman, C. L., & Douglas, R. J. (1989). Spontaneous Alternation Behavior and the Brain. In *Spontaneous Alternation Behavior* (pp. 73–108). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8879-1_5
- Diamond, A. (2013). Executive functions. *Annual Review of Psychology*, 64, 135–168. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PSYCH-113011-143750>
- Dong, Z., Han, H., Li, H., Bai, Y., Wang, W., Tu, M., Peng, Y., Zhou, L., He, W., Wu, X., Tan, T., Liu, M., Wu, X., Zhou, W., Jin, W., Zhang, S., Sacktor, T. C., Li, T., Song, W., & Wang, Y. T. (2015). Long-term potentiation decay and memory loss are mediated by AMPAR endocytosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 125(1), 234–247. <https://doi.org/10.1172/JCI77888>
- Dudchenko, P. A. (2004). An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 28(7), 699–709. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.002>
- Elodie, F., & Yuste, R. (2011). Dense inhibitory connectivity in neocortex. *Neuron*, 69(6), 1188–1203. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2011.02.025>
- Eslamizade, M. J., Saffarzadeh, F., Mousavi, S. M. M., Meftahi, G. H., Hosseinmardi, N., Mehdizadeh, M., Janahmadi, & M. (2015). Alterations in CA1 pyramidal neuronal intrinsic excitability mediated by Ih channel currents in a rat model of amyloid beta pathology. *Neuroscience*, 305, 279–292. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.07.087>
- Faucher, P., Mons, N., Micheau, J., Louis, C., & Beracochea, D. J. (2016). Hippocampal

- injections of oligomeric amyloid β -peptide (1-42) induce selective working memory deficits and long-lasting alterations of ERK signaling pathway. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 7(JAN), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00245>
- Ferino, F., Thierry, A. M., & Glowinski, J. (1987). Anatomical and electrophysiological evidence for a direct projection from Ammon's horn to the medial prefrontal cortex in the rat. *Experimental Brain Research*, 65(2), 421–426. <https://doi.org/10.1007/BF00236315>
- Fernandez-Perez, E. J., Muñoz, B., Bascuñan, D. A., Peters, C., Riffo-Lepe, N. O., Espinoza, M. P., Morgan, P. J., Filippi, C., Bourboulou, R., Sengupta, U., Kaye, R., Epsztein, J., & Aguayo, L. G. (2021). Synaptic dysregulation and hyperexcitability induced by intracellular amyloid beta oligomers. *Aging Cell*, 20(9). <https://doi.org/10.1111/ACEL.13455>
- Fitzjohn, S. M., Morton, R. A., Kuenzi, F., Rosahl, T. W., Shearman, M., Lewis, H., Smith, D., Reynolds, D. S., Davies, C. H., Collingridge, G. L., & Seabrook, G. R. (2001). Age-Related Impairment of Synaptic Transmission But Normal Long-Term Potentiation in Transgenic Mice that Overexpress the Human APP695SWE Mutant Form of Amyloid Precursor Protein. *The Journal of Neuroscience*, 21(13), 4691. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-13-04691.2001>
- Flores-Martínez, E., & Peña-Ortega, F. (2017). Amyloid β Peptide-Induced Changes in Prefrontal Cortex Activity and Its Response to Hippocampal Input. *International Journal of Peptides*, 2017, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2017/7386809>
- Freir, D. B., Costello, D. A., & Herron, C. E. (2003). A β 25–35-Induced Depression of Long-Term Potentiation in Area CA1 In Vivo and In Vitro Is Attenuated by Verapamil. *Journal of Neurophysiology*, 89(6), 3061–3069. <https://doi.org/10.1152/jn.00992.2002>
- Funahashi, S. (2017). Working Memory in the Prefrontal Cortex. *Brain Sciences*, 7(49). <https://doi.org/10.3390/brainsci7050049>
- Funahashi, S., Bruce, C. J., & Goldman-Rakic, P. S. (1989). Mnemonic coding of visual space in the monkey's dorsolateral prefrontal cortex. *Journal of Neurophysiology*, 61(2), 331–349. <https://doi.org/10.1152/JN.1989.61.2.331>
- Fuster, J. M. (2008). Chapter 2 – Anatomy of the Prefrontal Cortex. In *The Prefrontal Cortex* (pp. 7–58). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373644-4.00002-5>
- Fuster, J. M., & Alexander, G. E. (1971). Neuron activity related to short-term memory. *Science*, 173(3997), 652–654. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.173.3997.652>
- Gabbott, P. L. A., Warner, T. A., Jays, P. R. L., Salway, P., & Busby, S. J. (2005). Prefrontal cortex in the rat: Projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *Journal of Comparative Neurology*, 492(2), 145–177. <https://doi.org/10.1002/CNE.20738>
- Gandy, S. (2005). The role of cerebral amyloid β accumulation in common forms of

- Alzheimer disease. *Journal of Clinical Investigation*, 115(5), 1121–1129. <https://doi.org/10.1172/jci25100>
- Golde, T. E., DeKosky, S. T., & Galasko, D. (2018). Alzheimer's disease: The right drug, the right time. *Science*, 362(6420), 1250–1251. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAU0437>
- Goto, Y., Yang, C. R., & Otani, S. (2010). Functional and Dysfunctional Synaptic Plasticity in Prefrontal Cortex: Roles in Psychiatric Disorders. *Biological Psychiatry*, 67(3), 199–207. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.08.026>
- Gouras, G. K., Olsson, T. T., & Hansson, O. (2014). *β -amyloid Peptides and Amyloid Plaques in Alzheimer's Disease*. <https://doi.org/10.1007/s13311-014-0313-y>
- Grady, C. L., Furey, M. L., Pietrini, P., Horwitz, B., & Rapoport, S. I. (2001). Altered brain functional connectivity and impaired short-term memory in Alzheimer's disease. *Brain : A Journal of Neurology*, 124, 739–756. <https://doi.org/10.1093/brain/124.4.739>
- Gu, Z., Zhong, P., & Yan, Z. (2003). Activation of muscarinic receptors inhibits beta-amyloid peptide-induced signaling in cortical slices. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(19), 17546–17556. <https://doi.org/10.1074/JBC.M209892200>
- Guarino, A., Favieri, F., Boncompagni, I., Agostini, F., Cantone, M., & Casagrande, M. (2018). Executive Functions in Alzheimer Disease: A Systematic Review. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 437. <https://doi.org/10.3389/FNAGI.2018.00437>
- Guo, K., Yamawaki, N., Svoboda, K., Gordon, X., & Shepherd, M. G. (2018). Anterolateral Motor Cortex Connects with a Medial Subdivision of Ventromedial Thalamus through Cell Type-Specific Circuits, Forming an Excitatory Thalamo-Cortico-Thalamic Loop via Layer 1 Apical Tuft Dendrites of Layer 5B Pyramidal Tract Type Neurons. *J. Neuroscience*, 38(41), 8787–8797. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1333-18.2018>
- 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. <https://doi.org/10.1155/2013/328140>
- Haass, C., & Selkoe, D. J. (2007). Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 8(2), 101–112. <https://doi.org/10.1038/NRM2101>
- Haghani, M., Janahmadi, M., & Shabani, M. (2012). Protective effect of cannabinoid CB1 receptor activation against altered intrinsic repetitive firing properties induced by A β neurotoxicity. *Neuroscience Letters*, 507(1), 33–37. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.11.044>
- Hardy, J. A. (1997). Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *Trends in Neurosciences*, 20(4), 154–159. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(96\)01030-2](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(96)01030-2)
- Hardy, J. A., & Higgins, G. A. (1992). Alzheimer's disease: The amyloid cascade hypothesis.

Science, 256(5054), 184–185.
<https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1566067/ASSET/74A758CB-215F-4A8E-9AAA-05F4D89DA62A/ASSETS/SCIENCE.1566067.FP.PNG>

- Harris, K. D., & Shepherd, G. M. G. (2015). The neocortical circuit: themes and variations. *Nature Neuroscience* 2015 18:2, 18(2), 170–181. <https://doi.org/10.1038/nn.3917>
- He, Y., Wei, M., Wu, Y., Qin, H., Li, W., Ma, X., Cheng, J., Ren, J., Shen, Y., Chen, Z., Sun, B., Huang, F. De, Shen, Y., & Zhou, Y. D. (2019). Amyloid β oligomers suppress excitatory transmitter release via presynaptic depletion of phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate. *Nature Communications* 2019 10:1, 10(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09114-z>
- Hedayatjoo, M., Doost, M. T., Vahabi, Z., Akbarfahimi, M., & Khosrowabadi, R. (2023). Comparison of Cognitive Functions Between Patients with Alzheimer Disease, Patients with Mild Cognitive Impairment, and Healthy People. *Archives of Neuroscience* 2023 10:1, 10(1). <https://doi.org/10.5812/ANS-131408>
- Heidbreder, C. A., & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: Evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27(6), 555–579. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.09.003>
- Hernández-Soto, R., Dara Rojas-García, K., & Peña-Ortega, F. (2019). Sudden Intrabulbar Amyloid Increase Simultaneously Disrupts Olfactory Bulb Oscillations and Odor Detection. *Neural*, 3, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2019/3424906>
- Herry, C., & Garcia, R. (2002). Prefrontal cortex long-term potentiation, but not long-term depression, is associated with the maintenance of extinction of learned fear in mice. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(2), 577–583. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-02-00577.2002>
- Hoover, W. B., & Vertes, R. P. (2007). Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct Funct*, 212(2), 149–179. <https://doi.org/10.1007/s00429-007-0150-4>
- Hsia, A. Y., Masliah, E., Mcconlogue, L., Yu, G. Q., Tatsuno, G., Hu, K., Kholodenko, D., Malenka, R. C., Nicoll, R. A., & Mucke, L. (1999). Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(6), 3228. <https://doi.org/10.1073/PNAS.96.6.3228>
- Hsieh, H., Boehm, J., Sato, C., Iwatsubo, T., Tomita, T., Sisodia, S., & Malinow, R. (2006). AMPAR Removal Underlies A β -Induced Synaptic Depression and Dendritic Spine Loss. *Neuron*, 52(5), 831–843. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2006.10.035>
- Huang, E. P. (1998). Synaptic plasticity: Going through phases with LTP. *Current Biology*, 8(10), R350–R352. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(98\)70219-2](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(98)70219-2)

- Huntley, J. D., & Howard, R. J. (2010). Working memory in early Alzheimer's disease: a neuropsychological review. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 25(2), 121–132. <https://doi.org/10.1002/GPS.2314>
- Innocent, N., Evans, N., Hille, C., & Wonnacott, S. (2010). Oligomerisation differentially affects the acute and chronic actions of amyloid- β in vitro. *Neuropharmacology*, 59(4–5), 343–352. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2010.04.003>
- Jagust, W. (2016). Is amyloid-b harmful to the brain? Insights from human imaging studies. *Brain : A Journal of Neurology*, 139(1), 23–30. <https://doi.org/10.1093/brain/awv326>
- Janssen, L., Dubbelaar, M. L., Holtman, I. R., de Boer-Bergsma, J., Eggen, B. J. L., Boddeke, H. W. G. M., De Deyn, P. P., & Van Dam, D. (2017). Aging, microglia and cytoskeletal regulation are key factors in the pathological evolution of the APP23 mouse model for Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1863(2), 395–405. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.11.014>
- Jarvik, M. E., & Kopp, R. (1967). An Improved One-Trial Passive Avoidance Learning Situation. *Psychological Reports*, 21(1), 221–224. <https://doi.org/10.2466/pr0.1967.21.1.221>
- Jay, T. M., Burette, F., & Laroche, S. (1996). Plasticity of the hippocampal-prefrontal cortex synapses. *Journal of Physiology-Paris*, 90(5–6), 361–366. [https://doi.org/10.1016/S0928-4257\(97\)87920-X](https://doi.org/10.1016/S0928-4257(97)87920-X)
- Jay, T. M., Thierry, A., Wiklund, L., & Glowinski, J. (1992). Excitatory Amino Acid Pathway from the Hippocampus to the Prefrontal Cortex. Contribution of AMPA Receptors in Hippocampo-prefrontal Cortex Transmission. *The European Journal of Neuroscience*, 4(August), 1285–1295.
- Jay, T. M., & Witter, M. (1991). Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *The Journal of Comparative Neurology*, 313(4), 574–586. <https://doi.org/10.1002/CNE.903130404>
- Jin, J., & Maren, S. (2015). Prefrontal-Hippocampal Interactions in Memory and Emotion. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 9(December), 170. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00170>
- 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 β (1-42) inhibition of LTP is mediated by a signaling pathway involving caspase-3, Akt1 and GSK-3 β . *Nature Neuroscience*, 14(5), 545–547. <https://doi.org/10.1038/NN.2785>
- Jobson, D. D., Hase, Y., Clarkson, A. N., & Kalaria, R. N. (2021). The role of the medial prefrontal cortex in cognition, ageing and dementia. *Brain Communications*, 3(3), 1–25. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab125>
- Johnson, A., & Redish, A. D. (2007). Neural Ensembles in CA3 Transiently Encode Paths

- Forward of the Animal at a Decision Point. *The Journal of Neuroscience*, 27(45), 12176 LP-- 12189. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3761-07.2007>
- Jones, M. W., & Wilson, M. A. (2005a). Phase precession of medial prefrontal cortical activity relative to the hippocampal theta rhythm. *Hippocampus*, 15(7), 867–873. <https://doi.org/10.1002/hipo.20119>
- Jones, M. W., & Wilson, M. A. (2005b). Theta rhythms coordinate hippocampal-prefrontal interactions in a spatial memory task. *PLoS Biology*, 3(12), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030402>
- Jordã, J. F., Ayala-Grosso, C. A., Markham, K., Huang, Y., Chopra, R., Mclaurin, J., Hynynen, K., Aubert, I., & Khoury, J. El. (2010). Antibodies Targeted to the Brain with Image-Guided Focused Ultrasound Reduces Amyloid-b Plaque Load in the TgCRND8 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *PLoS ONE*, 5(5), e10549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010549>
- Joseph, S., Knezevic, D., Zomorodi, R., Blumberger, D. M., Daskalakis, Z. J., Mulsant, B. H., Pollock, B. G., Voineskos, A., Wang, W., Rajji, T. K., & Kumar, S. (2021). Dorsolateral prefrontal cortex excitability abnormalities in Alzheimer's Dementia: Findings from transcranial magnetic stimulation and electroencephalography study. *International Journal of Psychophysiology*, 169, 55–62. <https://doi.org/10.1016/J.IJPSYCHO.2021.08.008>
- Kalpouzos, G., Eustache, F., De La Sayette, V., Viader, F., Chételat, G., & Desgranges, B. (2005). Working memory and FDG–PET dissociate early and late onset Alzheimer disease patients. *J Neurol*, 252, 548–558. <https://doi.org/10.1007/s00415-005-0685-3>
- Kandel, E. (2013). *Principios de Neurociencias* (T. Kandel, E; Schwartz, J; Jessell (Ed.); 4°). McGraw-Hill Interamericana.
- Kawai, Y., Miura, R., Tsujimoto, M., Sakurai, T., Yamaoka, A., Takeda, A., Arahata, Y., Washimi, Y., Kachi, T., & Toba, K. (2013). Neuropsychological differentiation between Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies in a memory clinic. *Psychogeriatrics: The Official Journal of the Japanese Psychogeriatric Society*, 13(3), 157–163. <https://doi.org/10.1111/PSYG.12019>
- Kelley, B. J., & Petersen, R. C. (2007). Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *Neurologic Clinics*, 25(3), 577. <https://doi.org/10.1016/J.NCL.2007.03.008>
- Keskin, A. D., Kekuš, M., Adelsberger, H., Neumann, U., Shimshek, D. R., Song, B., Zott, B., Peng, T., Förstl, H., Staufenbiel, M., Nelken, I., Sakmann, B., Konnerth, A., & Busche, M. A. (2017). BACE inhibition-dependent repair of Alzheimer's pathophysiology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(32), 8631–8636. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1708106114/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Kesner, R. P. (2018). Exploration of the neurobiological basis for a three-system,

- multiattribute model of memory. In *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. https://doi.org/10.1007/7854_2016_454
- Kesner, R. P., & Churchwell, J. C. (2011). An analysis of rat prefrontal cortex in mediating executive function. *Neurobiology of Learning and Memory*, *96*(3), 417–431. <https://doi.org/10.1016/J.NLM.2011.07.002>
- Kesner, R. P., Hunt, M., Williams, J., & Long, J. (1996). Prefrontal Cortex and Working Memory for Spatial Response, Spatial Location, and Visual Object Information in the Rat. *Cerebral Cortex*, *6*(2), 311–318. <https://academic.oup.com/cercor/article/6/2/311/338706>
- Kessels, R. P. C., Meulenbroek, O., Fernandez, G., & Olde Rikkert, M. G. M. (2010). Spatial Working Memory in Aging and Mild Cognitive Impairment: Effects of Task Load and Contextual Cueing. [Http://Dx.Doi.Org/10.1080/13825585.2010.481354](http://Dx.Doi.Org/10.1080/13825585.2010.481354), *17*(5), 556–574. <https://doi.org/10.1080/13825585.2010.481354>
- Kim, J. H., Anwyl, R., Suh, Y. H., Djamgoz, M. B. A., & Rowan, M. J. (2001). Use-dependent effects of amyloidogenic fragments of (beta)-amyloid precursor protein on synaptic plasticity in rat hippocampus in vivo. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *21*(4), 1327–1333. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-04-01327.2001>
- Kim, Y., Yang, G., Pradhan, K., Venkataraju, K., Bota, M., García del Molino, L., Fitzgerald, G., Ram, K., He, M., Levine, J., Mitra, P., Huang, Z., Wang, X., & Osten, P. (2017). Brain-wide Maps Reveal Stereotyped Cell-Type-Based Cortical Architecture and Subcortical Sexual Dimorphism. *Cell*, *171*(2), 456–469.e22. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2017.09.020>
- Knobloch, M., Konietzko, U., Krebs, D. C., & Nitsch, R. M. (2007). Intracellular A β and cognitive deficits precede β -amyloid deposition in transgenic arcA β mice. *Neurobiology of Aging*, *28*(9), 1297–1306. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2006.06.019>
- Knopman, D. S., Amieva, H., Petersen, R. C., Chételat, G., Holtzman, D. M., Hyman, B. T., Nixon, R. A., & Jones, D. T. (2021). Alzheimer disease. *Nature Reviews. Neurology*, *7*(33), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00269-y>
- Koukoulis, F., Rooy, M., & Maskos, U. (2016). Early and progressive deficit of neuronal activity patterns in a model of local amyloid pathology in mouse prefrontal cortex. *Aging (Albany NY)*, *8*(12), 3430–3449. <https://doi.org/10.18632/aging.101136>
- Kumar-Singh, S. (2008). Cerebral amyloid angiopathy: Pathogenetic mechanisms and link to dense amyloid plaques. *Genes, Brain and Behavior*. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2007.00380.x>
- Kumar, A., Migliore, S., Sollievo, C., Sofferenza, D., Kandimalla, R., Guarino, A., Casagrande, M., Favieri, F., Boncompagni, I., Agostini, F., & Cantone, M. (2019). Executive functions

- in Alzheimer Disease: A systematic review. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 1, 437. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00437>
- Kumar, S., Zomorodi, R., Ghazala, Z., Goodman, M. S., Blumberger, D. M., Cheam, A., Fischer, C., Daskalakis, Z. J., Mulsant, B. H., Pollock, B. G., & Rajji, T. K. (2017). Extent of Dorsolateral Prefrontal Cortex Plasticity and Its Association With Working Memory in Patients With Alzheimer Disease. *JAMA Psychiatry*, 74(12), 1266–1274. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2017.3292>
- Kurudenkandy, R., Zilberter, M., Biverstål, H., Presto, J., Honcharenko, D., Strömberg, R., Johansson, J., Winblad, B., & Fisahn, A. (2014). Amyloid-induced action potential desynchronization and degradation of hippocampal gamma oscillations is prevented by interference with peptide conformation change and aggregation. *Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 34(34), 11416–11425. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1195-14.2014>
- Lara, A. H., & Wallis, J. D. (2015). The role of prefrontal cortex in working memory: A mini review. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 9(DEC), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00173>
- Laroche, S., Davis, S., & Jay, T. M. (2000). Plasticity at hippocampal to prefrontal cortex synapses: Dual roles in working memory and consolidation. *Hippocampus*, 10(4), 438–446. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2000\)10:4<438::AID-HIPO10>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2000)10:4<438::AID-HIPO10>3.0.CO;2-3)
- Laroche, S., Jay, T. M., & Thierry, A. M. (1990). Long-term potentiation in the prefrontal cortex following stimulation of the hippocampal CA1/subicular region. *Neuroscience Letters*, 114(2), 184–190. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(90\)90069-L](https://doi.org/10.1016/0304-3940(90)90069-L)
- Larson, J., Lynch, G., Games, D., & Seubert, P. (1999). Alterations in synaptic transmission and long-term potentiation in hippocampal slices from young and aged PDAPP mice. *Brain Research*, 840(1–2), 23–35. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01698-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01698-4)
- Latif-Hernandez, A., D’Hooge, R., Shah, D., VanderLinden, A., Craessaerts, K., DeStrooper, B., Saido, T., & Saito, T. (2019). Subtle behavioral changes and increased prefrontal-hippocampal network synchronicity in APP NL–G–F mice before prominent plaque deposition. *Behavioural Brain Research*, 364. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.11.017>
- Ledezma, C., Coria-Lucero, C., Castro, A., Leporatti, J., Perez, M., Delgado, S., Anzulovich, A. C., & Navigatore-Fonzo, L. (2022). Day-night oscillations of cognitive functions, TNF alpha and clock -related factors expression are modified by an intracerebroventricular injection of amyloid beta peptide in rat. *Neurochemistry International*, 154, 105277. <https://doi.org/10.1016/J.NEUINT.2022.105277>
- Ledezma, C., Coria-Lucero, C., Delsouc, M. B., Casais, M., Della Vedova, C., Ramirez, D., Devia, C. M., Delgado, S. M., Navigatore-Fonzo, L., & Anzulovich, A. C. (2021). Effect of an Intracerebroventricular Injection of Aggregated Beta-amyloid (1–42) on Daily Rhythms of Oxidative Stress Parameters in the Prefrontal Cortex. *Neuroscience*, 458,

99–107. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2020.08.016>

- Lee, H.-K. K., Kameyama, K., Huganir, R. L., & Bear, M. F. (1998). NMDA Induces Long-Term Synaptic Depression and Dephosphorylation of the GluR1 Subunit of AMPA Receptors in Hippocampus. *Neuron*, *21*(5), 1151–1162. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80632-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80632-7)
- Lewis, B. L. . O. P. (2000). Ventral Tegmental Area Afferents to the Prefrontal Cortex Maintain Membrane Potential “Up” States in Pyramidal Neurons via D1 Dopamine Receptors. *Cerebral Cortex*, *10*(12), 1168–1175. <https://doi.org/10.1093/cercor/10.12.1168>
- Li, S., Hong, S., Shepardson, N. E., Walsh, D. M., Shankar, G. M., & Selkoe, D. (2009). Soluble oligomers of amyloid Beta protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake. *Neuron*, *62*(6), 788–801. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.05.012>
- Li, S., Jin, M., Koeglsperger, T., Shepardson, N. E., Shankar, G. M., & Selkoe, D. J. (2011). Soluble A β Oligomers Inhibit Long-Term Potentiation through a Mechanism Involving Excessive Activation of Extrasynaptic NR2B-Containing NMDA Receptors. *Journal of Neuroscience*, *31*(18), 6627–6638. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0203-11.2011>
- Lisman, J., & Raghavachari, S. (2015). Biochemical principles underlying the stable maintenance of LTP by the CaMKII/NMDAR complex. *Brain Research*, *1621*, 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.12.010>
- Little, J. P., & Carter, A. G. (2013). Synaptic mechanisms underlying strong reciprocal connectivity between the medial prefrontal cortex and basolateral amygdala. *J. Neuroscience*, *33*(39), 15333–15342. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2385-13.2013>
- Liu, X., & Carter, A. G. (2018). Ventral hippocampal inputs preferentially drive corticocortical neurons in the infralimbic prefrontal cortex. *J. Neuroscience*, *38*(33), 7351–7363. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0378-18.2018>
- Liu, Y., Yu, C., Zhang, X., Liu, J., Duan, Y., Alexander-Bloch, A. F., Liu, B., Jiang, T., & Bullmore, E. (2014). Impaired long distance functional connectivity and weighted network architecture in Alzheimer’s disease. *Cerebral Cortex*, *24*(6), 1422–1435. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs410>
- 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. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65184-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65184-X)
- Lundqvist, M., Herman, P., & Miller, E. K. (2018). Working memory: Delay activity, Yes! Persistent activity? Maybe not. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *38*(32), 7013–7019.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2485-17.2018>

- Magnusson, K. R., & Brim, B. L. (2014). The Aging Brain. *Reference Module in Biomedical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.00158-6>
- Malenka, R., & Bear, M. (2004). LTP and LTD: An Embarrassment of Riches. *Neuron*, *44*(1), 5–21. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.09.012>
- Malenka, R. C., & Kauer, J. a. (2007). Synaptic plasticity and addiction. *Nature Reviews Neuroscience*, *8*(11), 844–858. <https://doi.org/10.1038/nrn2234>
- Malik, R., Li, Y., Schamiloglu, S., & Sohal, V. S. (2022). Top-down control of hippocampal signal-to-noise by prefrontal long-range inhibition. *Cell*, *185*(9), 1602–1617. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2022.04.001>
- Marchetti, C., & Marie, H. (2011). Hippocampal synaptic plasticity in Alzheimer’s disease: what have we learned so far from transgenic models? In *Reviews in the Neurosciences* (Vol. 22, p. 373). <https://doi.org/10.1515/rns.2011.035>
- Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G., & Wu, C. (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature Reviews Neuroscience*, *5*(10), 793–807. <https://doi.org/10.1038/nrn1519>
- Martin, S. J., Grimwood, P. D., & Morris, R. G. M. (2000). Synaptic Plasticity and Memory. *Annual Review of Neuroscience*, *23*, 649–711.
- Martínez-García, I., Hernández-Soto, R., Villasana-Salazar, B., Ordaz, B., & Peña-Ortega, F. (2021). Alterations in Piriform and Bulbar Activity/Excitability/Coupling Upon Amyloid- β Administration in vivo Related to Olfactory Dysfunction. *Journal of Alzheimer’s Disease*, *82*(s1), S19–S35. <https://doi.org/10.3233/JAD-201392>
- Marzolo, M. P., & Bu, G. (2009). Lipoprotein receptors and cholesterol in APP trafficking and proteolytic processing, implications for Alzheimer’s disease. In *Seminars in Cell and Developmental Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2008.10.005>
- Mayordomo-Cava, J., Iborra-Lázaro, G., Djebari, S., Temprano-Carazo, S., Sánchez-Rodríguez, I., Jeremic, D., Gruart, A., Delgado-García, J. M., Jiménez-Díaz, L., Navarro-López, J. D., & Navarro-López. (2020). Impairments of Synaptic Plasticity Induction Threshold and Network Oscillatory Activity in the Hippocampus Underlie Memory Deficits in a Non-Transgenic Mouse Model of Amyloidosis. *Biology (Basel)*, *9*(7), 175. <https://doi.org/10.3390/biology9070175>
- McGarry, L. M., & Carter, A. G. (2016). Inhibitory gating of basolateral amygdala inputs to the prefrontal cortex. *J. Neuroscience*, *36*(36), 9391–9406. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0874-16.2016>
- Menon, V. (2013). Developmental pathways to functional brain networks: emerging principles. *Trends in Cognitive Sciences*, *17*(12), 627–640. <https://doi.org/10.1016/J.TICS.2013.09.015>

- Menon, V., & D'Esposito, M. (2021). The role of PFC networks in cognitive control and executive function. *Neuropsychopharmacology*, 47, 90–103. <https://doi.org/10.1038/s41386-021-01152-w>
- Miller, E. K., & Cohen, J. D. (2001). An Integrative Theory of Prefrontal Cortex Function. *Annu Rev Neurosci.*, 24, 167–202. <https://doi.org/110.1146/annurev.neuro.24.1.167>
- Miller, E. K., Erickson, C. A., & Desimone, R. (1996). Neural mechanisms of visual working memory in prefrontal cortex of the macaque. *Journal of Neuroscience*, 16(16), 5154–5167. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-16-05154.1996>
- Miller, E. K., Lundqvist, M., & Bastos, A. M. (2018). Working Memory 2.0. In *Neuron*. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.09.023>
- Minger, S. L., Honer, W. G., Esiri, M. M., McDonald, B., Keene, J., Nicoll, J. A., Carter, J., Hope, T., & Francis, P. T. (2001). Synaptic pathology in prefrontal cortex is present only with severe dementia in Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 60(10), 929–936. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0034804765&partnerID=40&md5=9a17f3f85f211087098f4be848a71351%5Cnhttp://graphics.tx.ovid.com/ovftpdfs/FPDDNCJCLJGIL00/fs046/ovft/live/gv023/00005072/00005072-200110000-00002.pdf%5Cnhttp://graphics.tx.ovid>
- Moechars, D., Dewachter, I., Lorent, K., Reversé, D., Baekelandt, V., Naidu, A., Tesseur, I., Spittaels, K., Van Den Haute, C., Checler, F., Godaux, E., Cordell, B., & Van Leuven, F. (1999). Early phenotypic changes in transgenic mice that overexpress different mutants of amyloid precursor protein in brain. *The Journal of Biological Chemistry*, 274(10), 6483–6492. <https://doi.org/10.1074/JBC.274.10.6483>
- Mondragón-Rodríguez, S., Salas Gallardo, A., González Pereyra, P., Macías, M., Ordaz, B., Peña Ortega, F., Aguilar Vázquez, A., Orta Salazar, E., Díaz Cintra, S., Perry, G., & Williams, S. (2018). Phosphorylation of Tau protein correlates with changes in hippocampal theta oscillations and reduces hippocampal excitability in Alzheimer's model. *The Journal of Biological Chemistry*, 293(22), 8462–8472. <https://doi.org/10.1074/JBC.RA117.001187>
- Morris, R G, & Baddeley, A. D. (1988). Primary and working memory functioning in Alzheimer-type dementia. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 10(2), 279–296. <https://doi.org/10.1080/01688638808408242>
- Morris, Robin G. (1994). Working memory in Alzheimer-type dementia. *Neuropsychology*, 8(4), 544–554. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.8.4.544>
- Mulkey, R. M., & Malenka, R. C. (1992). Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron*, 9(5), 967–975. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(92\)90248-C](https://doi.org/10.1016/0896-6273(92)90248-C)
- Myroshnychenko, M., Seamans, J. K., Phillips, A. G., & Lapish, C. C. (2017). Temporal Dynamics of Hippocampal and Medial Prefrontal Cortex Interactions during the Delay

- Period of a Working Memory-Guided Foraging Task. *Cerebral Cortex*.
<https://doi.org/10.1093/cercor/bhx184>
- Nag, S., Yee, B. K., & Tang, F. (1999). Reduction in somatostatin and substance P levels and choline acetyltransferase activity in the cortex and hippocampus of the rat after chronic intracerebroventricular infusion of β -amyloid (1-40). *Brain Research Bulletin*, *50*(4), 251–262. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(99\)00196-3](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(99)00196-3)
- Nakamura, S., Murayama, N., Noshita, T., Annoura, H., & Ohno, T. (2001). Progressive brain dysfunction following intracerebroventricular infusion of beta1–42-amyloid peptide. *Brain Research*, *912*(2), 128–136. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)02704-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)02704-4)
- Nakayama, H., Ibañez-Tallon, I., & Heintz, N. (2018). Cell-Type-Specific Contributions of Medial Prefrontal Neurons to Flexible Behaviors. *Journal of Neuroscience*, *38*(19), 4490–4504. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3537-17.2018>
- Navigatore Fonzo, L., Alfaro, M., Mazaferro, P., Golini, R., Jorge, L., Cecilia Della Vedova, M., Ramirez, D., Delsouc, B., Casais, M., & Anzulovich, A. C. (2021). An intracerebroventricular injection of amyloid-beta peptide (1–42) aggregates modifies daily temporal organization of clock factors expression, protein carbonyls and antioxidant enzymes in the rat hippocampus. *Brain Research*, *1767*, 147449. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2021.147449>
- Nicoll, R. A., & Schmitz, D. (2005). Synaptic plasticity at hippocampal mossy fibre synapses. *Nature Reviews. Neuroscience*, *6*(11), 863–876. <https://doi.org/10.1038/nrn1786>
- Nikolai, D., Chitwood, R. A., & Johnston, D. (2010). Projection-specific neuromodulation of medial prefrontal cortex neurons. *Journal of Neuroscience*, *30*(50), 16922–16937. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3644-10.2010>
- Nuvoli, S., Bianconi, F., Rondini, M., Lazzarato, A., Marongiu, A., Fravolini, M. L., Cascianelli, S., Amici, S., Filippi, L., Spanu, A., & Palumbo, B. (2022). Differential Diagnosis of Alzheimer Disease vs. Mild Cognitive Impairment Based on Left Temporal Lateral Lobe Hypometabolism on 18F-FDG PET/CT and Automated Classifiers. *Diagnostics*, *12*(10), 2425. <https://doi.org/10.3390/DIAGNOSTICS12102425/S1>
- O'Donnell, P. (2002). Neonatal Hippocampal Damage Alters Electrophysiological Properties of Prefrontal Cortical Neurons in Adult Rats. *Cerebral Cortex*, *12*(9), 975–982. <https://doi.org/10.1093/cercor/12.9.975>
- OMS | Demencia. (2017). In WHO. World Health Organization. http://apps.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/es/index.html#.WZ_llugoo_Q.mendeley
- Orta-Salazar, E., Feria-Velasco, A. I., & Díaz-Cintra, S. (2019). Primary motor cortex alterations in Alzheimer disease: a study in the 3xTg-AD model. *Neurología*, *34*(7), 429–436. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2017.02.016>
- Otani, S. (2004). *Prefrontal Cortex. From synaptic plasticity to cognition*. Kluwer Academic

Publishers.

- 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. (2007). Aberrant Excitatory Neuronal Activity and Compensatory Remodeling of Inhibitory Hippocampal Circuits in Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Neuron*, *55*(5), 697–711. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2007.07.025>
- Parent, M. A., Wang, L., Su, J., Netoff, T., & Yuan, L. L. (2010). Identification of the hippocampal input to medial prefrontal cortex in vitro. *Cerebral Cortex*, *20*(2), 393–403. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp108>
- Pedigo, S. F., Song, E. Y., Jung, M. W., & Kim, J. J. (2006). A computer vision-based automated Figure-8 maze for working memory test in rodents. *Journal of Neuroscience Methods*, *156*(1–2), 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2006.01.029>
- Peña- Ortega, F., Gutierrez-Lerma, A., 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. <https://doi.org/10.2174/157015906776359531>
- Peña- Ortega, F., Ordaz, B., Balleza-Tapia, H., Bernal-Pedraza, R., Márquez-Ramos, A., Carmona-Aparicio, L., & Giordano, M. (2010). Beta-amyloid protein (25–35) disrupts hippocampal network activity: Role of Fyn-kinase. *Hippocampus*, *20*(1), 78–96. <https://doi.org/10.1002/hipo.20592>
- Peña-Ortega, F. (2013). Amyloid beta-protein and neural network dysfunction. *Journal of Neurodegenerative Diseases*, *2013*. <https://doi.org/10.1155/2013/657470>
- Peña-Ortega, F. (2019). Brain Arrhythmias Induced by Amyloid Beta and Inflammation: Involvement in Alzheimer's Disease and Other Inflammation-related Pathologies. *Current Alzheimer Research*, *16*(12), 1108–1131. <https://doi.org/10.2174/1567205017666191213162233>
- Peña-Ortega, F., & Bernal-Pedraza, R. (2012). Amyloid Beta Peptide slows down sensory-induced hippocampal oscillations. *International Journal of Peptides*, *2012*(236289). <https://doi.org/10.1155/2012/236289>
- Pettit, D. L., Shao, Z., & Yakel, J. L. (2001). β -Amyloid1–42 Peptide Directly Modulates Nicotinic Receptors in the Rat Hippocampal Slice. *The Journal of Neuroscience*, *21*(1), RC120. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-01-J0003.2001>
- Phensy, A., & Kroener, S. (2020). Delay-period activity and executive functions of the prefrontal cortex. In *Brain Sciences* (Vol. 10, Issue 1, p. 3). <https://doi.org/10.3390/brainsci10010003>
- Phillips, M. L., Robinson, H. A., & Pozzo-Miller, L. (2019). Ventral hippocampal projections to the medial prefrontal cortex regulate social memory. *ELife*, *8*, e44182. <https://doi.org/10.7554/eLife.44182>

- Pousinha, P. A., Mouska, X., Bianchi, D., Temido-Ferreira, M., Rajão-Saraiva, J., Gomes, R., Fernandez, S. P., Salgueiro-Pereira, A. R., Gandin, C., Raymond, E. F., Barik, J., Goutagny, R., Bethus, I., Lopes, L. V., Migliore, M., & Marie, H. (2019). The amyloid precursor protein C-Terminal domain alters CA1 neuron firing, modifying hippocampus oscillations and impairing spatial memory encoding. *Cell Reports*, *29*(2), 317-331.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.08.103>
- Povysheva, N. V, Zaitsev, A. V, Gonzalez-Burgos, G., & Lewis, D. a. (2013). Electrophysiological Heterogeneity of Fast-Spiking Interneurons: Chandelier versus Basket Cells. *PLoS ONE*, *8*(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070553>
- Preston, A. R., & Eichenbaum, H. (2013). Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. *Current Biology*, *23*(17), R764--R773. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.05.041>
- Preuss, T. M. (1995). Do rats have prefrontal cortex? The Rose-Woolsey-Akert program reconsidered. In *Journal of Cognitive Neuroscience*. <https://doi.org/10.1162/jocn.1995.7.1.1>
- Purves, D, Agustine, G., Fitzpatrick, D., Hall, W., LaMantia, A., McNamara, J., Williams, S. (Ed.). (2004). *Neuroscience* (Third Edit). Sinauer Associates Inc.
- Puzzo, D., Privitera, L., & Palmeri, A. (2012). Hormetic effect of amyloid-beta peptide in synaptic plasticity and memory. *Neurobiology of Aging*, *33*(7). <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.12.020>
- Rajan, K. B., Weuve, J., Barnes, L. L., McAninch, E. A., Wilson, R. S., & Evans, D. A. (2021). Population estimate of people with clinical Alzheimer's disease and mild cognitive impairment in the United States (2020–2060). *Alzheimer's & Dementia*, *17*(12), 1966–1975. <https://doi.org/10.1002/ALZ.12362>
- Rajasethupathy, P., Sankaran, S., Marshel, J. H., Kim, C. K., Ferenczi, E., Lee, S. Y., Berndt, A., Ramakrishnan, C., Jaffe, A., Lo, M., Liston, C., & Deisseroth, K. (2015). Projections from neocortex mediate top-down control of memory retrieval. *Nature*, *526*, 653–659. <https://doi.org/10.1038/nature15389>
- Ren, S., Yao, W., Yan, J., Jin, C., Yin, J., Yuan, J., & Yu, S. (2018). Amyloid β causes excitation / inhibition imbalance through dopamine receptor 1-dependent disruption of fast-spiking GABAergic input in anterior cingulate cortex. *Scientific Reports*, *8*(302), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18729-5>
- Richman, C. L., Dember, W. N., & Kim, P. (1986). Spontaneous alternation behavior in animals: A review. In *Current Psychology*. <https://doi.org/10.1007/BF02686603>
- Riegel, A. C., Zapata, A., Shippenberg, T. S., & French, E. D. (2007). The abused inhalant toluene increases dopamine release in the nucleus accumbens by directly stimulating ventral tegmental area neurons. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *32*(7), 1558–1569.

<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301273>

- Roder, S., Danober, L., Pozza, M. F., Lingenhoehl, K., Wiederhold, K. H., & Olpe, H. R. (2003). Electrophysiological studies on the hippocampus and prefrontal cortex assessing the effects of amyloidosis in amyloid precursor protein 23 transgenic mice. *Neuroscience*, *120*(3), 705–720. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(03\)00381-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00381-6)
- Romcy-Pereira, R., & Pavlides, C. (2004). Distinct modulatory effects of sleep on the maintenance of hippocampal and medial prefrontal cortex LTP. *European Journal of Neuroscience*, *20*(12), 3453–3462. <https://doi.org/10.1111/J.1460-9568.2004.03808.X>
- Rotaru, D. C., Lewis, D. a, & Gonzalez-Burgos, G. (2007). Dopamine D1 receptor activation regulates sodium channel-dependent EPSP amplification in rat prefrontal cortex pyramidal neurons. *The Journal of Physiology*, *581*(Pt 3), 981–1000. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.130864>
- Salat, D. H., Kaye, J. a, & Janowsky, J. S. (2001). Selective preservation and degeneration within the prefrontal cortex in aging and Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, *58*(9), 1403–1408. <https://doi.org/10.1001/archneur.58.9.1403>
- Salgado-Puga, K., & Peña-Ortega, F. (2015). Cellular and network mechanisms underlying memory impairment induced by amyloid β protein. *Protein and Peptide Letters*, *22*(4), 303–321. <https://doi.org/10.2174/0929866522666150202112154>
- Salgado-Puga, K., Prado-Alcalá, R. A., & Peña-Ortega, F. (2015). Amyloid β Enhances Typical Rodent Behavior While It Impairs Contextual Memory Consolidation. *Behavioural Neurology*, *2015*(526912). <https://doi.org/10.1155/2015/526912>
- Salgado-Puga, K., Rodríguez-Colorado, J., Prado-Alcalá, R. A., & Peña-Ortega, F. (2017). Subclinical Doses of ATP-Sensitive Potassium Channel Modulators Prevent Alterations in Memory and Synaptic Plasticity Induced by Amyloid- β . *Journal of Alzheimer's Disease*, *57*(1), 205–226. <https://doi.org/10.3233/JAD-160543>
- Sampath, D., Sathyanesan, M., & Newton, S. S. (2017). Cognitive dysfunction in major depression and Alzheimer's disease is associated with hippocampal–prefrontal cortex dysconnectivity. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, *13*, 1509–1519. <https://doi.org/10.2147/NDT.S136122>
- Schoenbaum, G., Setlow, B., Saddoris, M. P., & Gallagher, M. (2006). Encoding changes in orbitofrontal cortex in reversal-impaired aged rats. *Journal of Neurophysiology*, *95*(3), 1509–1517. <https://doi.org/10.1152/JN.01052.2005/ASSET/IMAGES/LARGE/Z9K0030673040005.JPEG>
- Schuman, B., Machold, R. P., Hashikawa, Y., Fuzik, J., Fishell, G. J., & Rudy, B. (2019). Four Unique Interneuron Populations Reside in Neocortical Layer 1. *Journal of Neuroscience*, *39*(1), 125–139. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1613-18.2018>
- Schwabe, K., Enkel, T., Klein, S., Schütte, M., & Koch, M. (2004). Effects of neonatal lesions

- of the medial prefrontal cortex on adult rat behaviour. *Behavioural Brain Research*, 153(1), 21–34. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.10.030>
- Scott, W. A. (1962). Cognitive Complexity and Cognitive Flexibility. *Sociometry*, 25(4), 405. <https://doi.org/10.2307/2785779>
- Seamans, J. K., Lapish, C. C., & Durstewitz, D. (2008). Comparing the prefrontal cortex of rats and primates: Insights from electrophysiology. *Neurotoxicity Research*, 14(2–3), 249–262. <https://doi.org/10.1007/BF03033814>
- Selkoe, D. (2002). Alzheimer's Disease Is a Synaptic Failure. *Science*, 298(5594), 789–791. <https://doi.org/https://doi.org/10.1126/science.1074069>
- Selkoe, D. (2011). Alzheimer's Disease Is a Synaptic Failure. *Science*, 298(2002), 789–791. <https://doi.org/10.1126/science.1074069>
- Shah, D., Latif-Hernandez, A., De Strooper, B., Saito, T., Saido, T., Verhoye, M., D'hooge, R., Van Der Linden, A., & Latif Hernandez, A. (2018). Spatial reversal learning defect coincides with hypersynchronous telencephalic BOLD functional connectivity in APP NL-F/NL-F knock-in mice OPEN. *Scientific Reports*, 8(6264). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24657-9>
- Shipton, O. A., Tang, C. S., Paulsen, O., & Vargas-Caballero, M. (2022). Differential vulnerability of hippocampal CA3-CA1 synapses to A β . *Acta Neuropathologica Communications*, 10(1), 45. <https://doi.org/10.1186/S40478-022-01350-7>
- Siapas, A. G., Lubenov, E. V., & Wilson, M. A. (2005). Prefrontal phase locking to hippocampal theta oscillations. *Neuron*, 46(1), 141–151. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.02.028>
- Sigurdsson, T., & Duvarci, S. (2016). Hippocampal-Prefrontal Interactions in Cognition, Behavior and Psychiatric Disease. *Frontiers in Systems Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00190>
- Skovronsky, D. M., Moore, D. B., Milla, M. E., Doms, R. W., & Lee, V. M. Y. (2000). Protein kinase C-dependent α -secretase competes with β -secretase for cleavage of amyloid- β precursor protein in the trans-Golgi network. *Journal of Biological Chemistry*. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.4.2568>
- Smith, J. P., Lal, V., Bowser, D., Cappai, R., Masters, C. L., & Ciccotosto, G. D. (2009). Stimulus pattern dependence of the Alzheimer's disease amyloid- β 42 peptide's inhibition of long term potentiation in mouse hippocampal slices. *Brain Research*, 1269, 176–184. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2009.03.007>
- Sotres-Bayon, F., Sierra-Mercado, D., Pardilla-Delgado, E., & Quirk, G. J. (2012). Gating of Fear in Prelimbic Cortex by Hippocampal and Amygdala Inputs. *Neuron*, 76(4), 804–812. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2012.09.028>
- Spellman, T., Rigotti, M., Ahmari, S. E., Fusi, S., Gogos, J. A., & Gordon, J. A. (2015).

- Hippocampal-prefrontal input supports spatial encoding in working memory. *Nature*, 522(7556), 309–314. <https://doi.org/10.1038/nature14445>
- Spies, P. E., Verbeek, M. M., Van Groen, T., & Claassen, J. A. H. R. (2012). Reviewing reasons for the decreased CSF Abeta42 concentration in Alzheimer disease. In *Frontiers in Bioscience*. <https://doi.org/10.2741/4035>
- Stackman, R. W., Eckenstein, F., Frei, B., Kulhanek, D., Nowlin, J., & Quinn, J. F. (2003). Prevention of age-related spatial memory deficits in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease by chronic Ginkgo biloba treatment. *Experimental Neurology*, 184(1), 510–520. [https://doi.org/10.1016/S0014-4886\(03\)00399-6](https://doi.org/10.1016/S0014-4886(03)00399-6)
- Stepanichev, M. Y., Moiseeva, Y. V., Lazareva, N. A., Onufriev, M. V., & Gulyaeva, N. V. (2003). Single intracerebroventricular administration of amyloid-beta (25-35) peptide induces impairment in short-term rather than long-term memory in rats. *Brain Research Bulletin*, 61(2), 197–205. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(03\)00118-7](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(03)00118-7)
- Stéphan, A., Laroche, S., & Davis, S. (2001). Generation of Aggregated β -Amyloid in the Rat Hippocampus Impairs Synaptic Transmission and Plasticity and Causes Memory Deficits. *The Journal of Neuroscience*, 21(15), 5703. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-15-05703.2001>
- Steriade, M. (2001). Active neocortical processes during quiescent sleep. In *Archives Italiennes de Biologie* (Vol. 139, Issues 1–2, pp. 37–51). <https://doi.org/10.4449/AIB.V139I1.203>
- Stern, E. A., Bacskai, B. J., Hickey, G. A., Attenello, F. J., Lombardo, J. A., & Hyman, B. T. (2004). Cortical Synaptic Integration In Vivo Is Disrupted by Amyloid- β Plaques. *The Journal of Neuroscience*, 24(19), 4535. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0462-04.2004>
- Steven, G., Ellwood, I., Patel, T., Luongo, F., Deisseroth, K., & Sohal, V. S. (2012). Synaptic activity unmasks dopamine D2 receptor modulation of a specific class of layer V pyramidal neurons in prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience*, 32(14), 4959–4971. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5835-11.2012>
- Stopford, C. L., Thompson, D. N., Neary, D., Richardson, A. M. ., & Snowden, J. (2012). Working memory, attention, and executive function in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Cortex*, 48(4), 429–446. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cortex.2010.12.002>.
- Sun, M. K., & Alkon, D. L. (2002). Impairment of hippocampal CA1 heterosynaptic transformation and spatial memory by beta-amyloid(25-35). *Journal of Neurophysiology*, 87(5), 2441–2449. <https://doi.org/10.1152/JN.00230.2001>
- Tackenberg, C., Grinschgl, S., Trutzel, A., Santuccione, A. C., Frey, M. C., Konietzko, U., Grimm, J., Brandt, R., & Nitsch, R. M. (2013). NMDA receptor subunit composition determines beta-amyloid-induced neurodegeneration and synaptic loss. *Cell Death &*

Disease, 4(4), e608. <https://doi.org/10.1038/CDDIS.2013.129>

- Tagliatela, G., Rastellini, C., & Cicalese, L. (2015). Reduced incidence of dementia in solid organ transplant patients treated with calcineurin inhibitors. *Journal of Alzheimer's Disease*, 47(2), 329–333. <https://doi.org/10.3233/JAD-150065>
- Takita, M., Fujiwara, S. E., & Izaki, Y. (2013). Functional structure of the intermediate and ventral hippocampo–prefrontal pathway in the prefrontal convergent system. *Journal of Physiology*, 107(6), 441–447. <https://doi.org/10.1016/J.JPHYSPARIS.2013.05.002>
- Takita, M., Izaki, Y., Jay, T. M., Kaneko, H., & Suzuki, S. S. (1999). Induction of stable long-term depression in vivo in the hippocampal–prefrontal cortex pathway. *European Journal of Neuroscience*, 11(11), 4145–4148. <https://doi.org/10.1046/J.1460-9568.1999.00870.X>
- Taylor, C. J., Ohline, S. M., Moss, T., Ulrich, K., & Abraham, W. C. (2016). The persistence of long-term potentiation in the projection from ventral hippocampus to medial prefrontal cortex in awake rats. *The European Journal of Neuroscience*, 43(6), 811–822. <https://doi.org/10.1111/EJN.13167>
- Thierry, A.-M., Gioanni, Y., Dégénétais, E., & Glowinski, J. (2000). Hippocampo-prefrontal cortex pathway: Anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus*, 10(4), 411–419. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2000\)10:4<411::AID-HIPO7>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2000)10:4<411::AID-HIPO7>3.0.CO;2-A)
- Thinakaran, G., & Koo, E. H. (2008). Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function. *Journal of Biological Chemistry*. <https://doi.org/10.1074/jbc.R800019200>
- Thomas, M. J., Beurrier, C., Bonci, a, & Malenka, R. C. (2001). Long-term depression in the nucleus accumbens: a neural correlate of behavioral sensitization to cocaine. *Nature Neuroscience*, 4(12), 1217–1223. <https://doi.org/10.1038/nn757>
- Tierney, P. L., Dégénétais, E., Thierry, A. M., Glowinski, J., & Gioanni, Y. (2004). Influence of the hippocampus on interneurons of the rat prefrontal cortex. *The European Journal of Neuroscience*, 20(2), 514–524. <https://doi.org/10.1111/J.1460-9568.2004.03501.X>
- Tremblay, R., Lee, S., & Rudy, B. (2016). GABAergic Interneurons in the Neocortex: From Cellular Properties to Circuits. *Neuron*, 91(2), 260–292. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2016.06.033>
- Turner, P. R., O'Connor, K., Tate, W. P., & Abraham, W. C. (2003). Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory. *Progress in Neurobiology*, 70(1), 1–32. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(03\)00089-3](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(03)00089-3)
- Tyszkiewicz, J. P., & Yan, Z. (2005). β -Amyloid peptides impair PKC-dependent functions of metabotropic glutamate receptors in prefrontal cortical neurons. <https://doi.org/10.1152/Jn.00939.2004>, 93(6), 3102–3111. <https://doi.org/10.1152/JN.00939.2004>

- Ueta, Y., Sohn, J., Agahari, F. A., Im, S., Hirai, Y., Miyata, M., & Kawaguchi, Y. (2019). Ipsi-and contralateral corticocortical projection-dependent subcircuits in layer 2 of the rat frontal cortex. *J Neurophysiol*, *122*(4), 1461–1472. <https://doi.org/10.1152/jn.00333.2019>.-In
- University of Minnesota. (2018). *Anesthesia Guidelines: Rats*. University of Minnesota. <https://www.researchservices.umn.edu/services-name/research-animal-resources/research-support/guidelines/anesthesia-rats>
- Uylings, H. B. M., Groenewegen, H. J., & Kolb, B. (2003). Do rats have a prefrontal cortex? In *Behavioural Brain Research*. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.028>
- Van den Broeck, L., Hansquine, P., Callaerts-Vegh, Z., & D’Hooge, R. (2019). Impaired reversal Learning in APPPS1-21 mice in the touchscreen visual discrimination task. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *92*. <https://doi.org/10.3389/FNBEH.2019.00092>
- Vargas-Barroso, V., Ordaz-Sánchez, B., Peña-Ortega, F., & Larriva-Sahd, J. A. (2016). Electrophysiological Evidence for a Direct Link between the Main and Accessory Olfactory Bulbs in the Adult Rat. *Frontiers in Neuroscience*, *9*, 518. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00518>
- Veng, L. M., Mesches, M. H., & Browning, M. D. (2003). Age-related working memory impairment is correlated with increases in the L-type calcium channel protein $\alpha 1D$ (Cav1.3) in area CA1 of the hippocampus and both are ameliorated by chronic nimodipine treatment. *Molecular Brain Research*, *110*(2), 193–202. [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(02\)00643-5](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(02)00643-5)
- Wallis, J. D. (2012). Cross-species studies of orbitofrontal cortex and value-based decision-making. In *Nature Neuroscience*. <https://doi.org/10.1038/nn.2956>
- Wang, G. W., & Cai, J. X. (2006). Disconnection of the hippocampal-prefrontal cortical circuits impairs spatial working memory performance in rats. *Behavioural Brain Research*, *175*(2), 329–336. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.09.002>
- Wang, H., & Gao, H. (2009). Cell type-specific development of NMDA receptors in the interneurons of rat prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *34*(8), 2028–2040. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.20>
- Wang, H. W., Pasternak, J. F., Kuo, H., Ristic, H., Lambert, M. P., Chromy, B., Viola, K. L., Klein, W. L., Stine, W. B., Krafft, G. A., & Trommer, B. L. (2002). Soluble oligomers of β amyloid (1-42) inhibit long-term potentiation but not long-term depression in rat dentate gyrus. *Brain Research*, *924*(2), 133–140. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)03058-X](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)03058-X)
- Wang, L., Zang, Y., He, Y., Liang, M., Zhang, X., Tian, L., Wu, T., Jiang, T., & Li, K. (2006). Changes in hippocampal connectivity in the early stages of Alzheimer’s disease: evidence from resting state fMRI. *NeuroImage*, *31*(2), 496–504.

<https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2005.12.033>

- Wang, M., Ramos, B. P., Paspalas, C. D., Shu, Y., Simen, A., Duque, A., Vijayraghavan, S., Brennan, A., Dudley, A., Nou, E., Mazer, J. A., McCormick, D. A., & Arnsten, A. F. T. (2007). α 2A-adrenoceptors strengthen working memory networks by inhibiting cAMP-HCN channel signaling in prefrontal cortex. *Cell*, *129*(2), 397–410. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2007.03.015>
- Wang, M., Yang, Y., Wang, C.-J., Gamo, N. J., Jin, L. E., Mazer, J. A., Morrison, J. H., Wang, X.-J., & Arnsten, A. F. T. (2013). NMDA Receptors Subserve Persistent Neuronal Firing during Working Memory in Dorsolateral Prefrontal Cortex. *Neuron*, *77*(4), 736–749. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.032>
- Wang, Y., Markram, H., Goodman, P. H., Berger, T. K., Ma, J., & Goldman-Rakic, P. S. (2006). Heterogeneity in the pyramidal network of the medial prefrontal cortex. *Nature Neuroscience*, *9*(4), 534–542. <https://doi.org/10.1038/nn1670>
- Wang, Y., Zhang, G., Zhou, H., Barakat, A., & Querfurth, H. (2009). Opposite effects of low and high doses of A β 1-42 on electrical network and neuronal excitability in the rat prefrontal cortex. *PLoS ONE*, *4*(12), 8366. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008366>
- Wang, Y., Zhou, T. H., Zhi, Z., Barakat, A., Hlatky, L., & Querfurth, H. (2013). Multiple effects of β -amyloid on single excitatory synaptic connections in the PFC. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *7*, 129. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00129>
- Weller, J., & Budson, A. (2018). Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. *F1000Research*, *7*, F1000 Faculty Rev--1161. <https://doi.org/10.12688/f1000research.14506.1>
- Wilcock, G. K., & Esiri, M. M. (1982). Plaques, tangles and dementia: A quantitative study. *Journal of the Neurological Sciences*, *56*(2–3), 343–356. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(82\)90155-1](https://doi.org/10.1016/0022-510X(82)90155-1)
- Wolff, M., Alcaraz, F., Marchand, A. R., & Coutureau, E. (2015). Functional heterogeneity of the limbic thalamus: From hippocampal to cortical functions. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *54*, 120–130. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2014.11.011>
- Xu, W., Fitzgerald, S., Nixon, R. A., Levy, E., & Wilson, D. A. (2015). Early hyperactivity in lateral entorhinal cortex is associated with elevated levels of A β PP metabolites in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Experimental Neurology*, *264*, 82–91. <https://doi.org/10.1016/J.EXPNEUROL.2014.12.008>
- Yoon, T., Okada, J., Jung, M. W., & Kim, J. J. (2008). Prefrontal cortex and hippocampus subserve different components of working memory in rats. *Learning and Memory*. <https://doi.org/10.1101/lm.850808>
- Zhang, X. H., Liu, S. S., Yi, F., Zhuo, M., & Li, B. M. (2013). Delay-dependent impairment of

spatial working memory with inhibition of NR2B-containing NMDA receptors in hippocampal CA1 region of rats. *Molecular Brain*. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-6-13>

Zhen, C., & Zhang, T. (2015). Synaptic plasticity-related neural oscillations on hippocampus–prefrontal cortex pathway in depression. *Neuroscience*, *292*, 170–180. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2015.01.071>

Zhong, Y. M., Yukie, M., & Rockland, K. S. (2006). Distinctive morphology of hippocampal CA1 terminations in orbital and medial frontal cortex in macaque monkeys. *Experimental Brain Research*, *169*(4), 549–553. <https://doi.org/10.1007/S00221-005-0187-7>

Zhurakovskaya, E., Ishchenko, I., Gureviciene, I., Aliev, R., Gröhn, O., & Tanila, H. (2019). Impaired hippocampal-cortical coupling but preserved local synchrony during sleep in APP/PS1 mice modeling Alzheimer’s disease. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41851-5>

Zucker, R. S., & Regehr, W. G. (2002). Short-term synaptic plasticity. *Annual Review of Physiology*, *64*(1), 355–405. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.64.092501.114547>

Zuñiga-Herrera, E.; García, J. E. (2008). El envejecimiento demográfico en México. Principales tendencias y características. *Horizontes*, *13*, 93–100.

11 ANEXO

11.1 *Amyloid Beta Alters Prefrontal-dependent Functions Along with its Excitability and Synaptic Plasticity in Male Rats*

Amyloid Beta Alters Prefrontal-dependent Functions Along with its Excitability and Synaptic Plasticity in Male Rats

Mayra Torres-Flores and Fernando Peña-Ortega*

Departamento de Neurobiología del Desarrollo y Neurofisiología, Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Querétaro, México

Abstract—Prefrontal cortex (PFC)-related functions, such as working memory (WM) and cognitive flexibility (CF), are among the first to be altered at early stages of Alzheimer's disease (AD). Likewise, transgenic AD models carrying different AD-related mutations, mostly linked to the overproduction of amyloid beta (A β) and other peptides, show premature behavioral and functional symptoms associated with PFC alterations. However, little is known about the effects of intracerebral or intra-PFC A β infusion on WM and CF, as well as on pyramidal cell excitability and plasticity. Thus, here we evaluated the effects of a single A β injection, directly into the PFC, or its intracerebroventricular (icv) application, on PFC-dependent behaviors and on the intrinsic and synaptic properties of layer V pyramidal neurons in PFC slices. We found that a single icv A β infusion reduced learning and performance of a delayed non-matching-to-sample WM task and prevented reversal learning in a matching-to-sample version of the task, several weeks after its infusion. The inhibition of WM performance was reproduced more potently by a single PFC A β infusion and was associated with A β accumulation. This behavioral disruption was related to increased layer V pyramidal cell firing, larger sag membrane potential, increased fast after-hyperpolarization and a failure to sustain synaptic long-term potentiation, even leading to long-term depression, at both the hippocampal-PFC pathway and intracortical synapses. These findings show that A β can affect PFC excitability and synaptic plasticity balance, damaging PFC-dependent functions, which could constitute the foundations of the early alterations in executive functions in AD patients. © 2022 IBRO. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Key words: Alzheimer's disease, Prefrontal cortex, Working memory, Reversal learning, Long term synaptic plasticity, Prefrontal cortex excitability.

INTRODUCTION

Alzheimer's disease (AD), the most common form of dementia (Scheltens et al., 2021), initiates with an early dysfunction in cognitive executive functions, including early deficits in working memory (WM; Kalpouzos et al., 2005; Kumar et al., 2019) and cognitive flexibility (CF; Goto et al., 2010; Kumar et al., 2019). Interestingly, specific deficits in WM, especially in tasks involving variable delays between learning and recall, can differentiate between AD and other types of dementia (Morris & Baddeley, 1988). Both WM (Dalley et al., 2004; Bizon

et al., 2012) and CF (Winter et al., 2009) rely on proper prefrontal cortex (PFC) function, which might be compromised by local and global amyloid beta (A β) accumulation (Jack et al., 2008; Mori et al., 2014; Klupp et al., 2015; Mander et al., 2015). In fact, PFC A β accumulation correlates with a reduction in synapses (Davies et al., 1987) and alterations in synaptic neuromodulatory markers (Poirel et al., 2018). Consistent with the findings that soluble A β induces changes in neural network function and memory, even before major signs of neurodegeneration (Hsieh et al., 2006; Balleza-Tapia et al., 2010; Salgado-Puga et al., 2015; Faucher et al., 2016), A β accumulation in the PFC also correlates with alterations in its activity in AD patients (Klupp et al., 2015; Mander et al., 2015), while changes in PFC plasticity (Kumar et al., 2019) and excitability correlate with cognitive and executive deficits in AD patients (Joseph et al., 2021).

PFC dysfunction has also been observed in AD transgenic mice (Zhuo et al., 2007; Lok et al., 2013), which exhibit changes in synaptic markers (Pervolaraki et al., 2019) and altered neuromodulation of synaptic transmission in the PFC (Gu et al., 2003; Liu et al., 2011; Proulx et al., 2015) along with deficits in

*Corresponding author. Address: Departamento de Neurobiología del Desarrollo y Neurofisiología, Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México. Boulevard Juriquilla 3001, Querétaro 76230, Mexico.

E-mail address: jfpena@unam.mx (F. Peña-Ortega).

Abbreviations: AD, Alzheimer's disease; AHP, after-hyperpolarization; AHPs, slow after-hyperpolarization; AHPf, fast after-hyperpolarization; AP, action potential; A β , amyloid beta; CF, cognitive flexibility; EPSC, excitatory postsynaptic currents; icv, intracerebroventricular; LTP, long term potentiation; mPFC, medial prefrontal cortex; MS, matching to sample; NMS, non-matching to sample; PFC, prefrontal cortex; RMP, resting membrane potential; Rn, Input resistance; sPSC, spontaneous postsynaptic currents; WM, working memory.

PFC-dependent behaviors (Zhuo et al., 2007, 2008; Shah et al., 2018; Van den Broeck et al., 2019). For instance, Tg2576 mice exhibit alterations in WM and reversal learning (Zhuo et al., 2007, 2008), which has also been observed in APP/PS1-21 mice (Van den Broeck et al., 2019) and APPNL-F/NL-F mice (Shah et al., 2018). These alterations correlate with changes in functional coupling between the PFC and different brain areas (i.e., the hippocampus; Shah et al., 2018). As observed in AD patients, all these changes in AD transgenic animals correlate with increased A β levels in the PFC and other connected brain areas (Zhuo et al., 2008; Platt et al., 2011; Lok et al., 2013; Shah et al., 2018). Some of these changes can be reproduced inducing the expression of the amyloid precursor protein (APP) (Koukoulis et al., 2016). However, the overexpression of APP can overproduce a variety of APP fragments that can induce functional alterations independently from those of A β (Xu et al., 2015; Mondragón-Rodríguez et al., 2018; Pousinha et al., 2019).

To surpass the confounding factors produced by the expression of exogenous AD-related APP variants and/or to directly evaluate the effects of A β on the PFC, *in vitro* experiments have tested the effects of A β application to PFC slices, showing changes in PFC excitability and its response to neuromodulators (Gu et al., 2003; Tyszkiewicz & Yan, 2005; Chen et al., 2013; Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017). Despite the wealth of evidence that A β has direct effects on the PFC *in vitro*, there are no studies regarding its effects *in vivo* and the correlation of those effects with executive functions. Thus, here we evaluated the effects of A β directly injected into the PFC (Haghani et al., 2012; Eslamizade et al., 2015), or globally increased in the brain by its intracerebroventricular (icv) administration (Stepanichev et al., 2003; Zhang et al., 2015; Martínez-García et al., 2021), on synaptic and intrinsic properties of the PFC and PFC-dependent behaviors. We found that global A β infusion reduced learning and performance in the Figure-8 maze, disrupted previously learned WM in a delay-dependent manner and blocked reversal learning. Local application of A β into the mPFC, which leads to its accumulation, potently reduced WM, all of which correlated with increased layer V pyramidal cell excitability and with a deficit in maintaining long-term potentiation (LTP), even leading to long-term depression (LTD), when the hippocampal-PFC pathway or intracortical inputs to the PFC were tetanized. These findings show that a local and global increase of A β can alter PFC-dependent functions through alterations in PFC excitability and synaptic plasticity balance, providing a model to study early alterations in AD-related executive functions and their underlying mechanisms.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Animals

Experiments were approved by the Bioethics Committee of the Institute of Neurobiology at UNAM and were performed in accordance the Official Mexican Norm for the Use and Care of Laboratory Animals

(NOM-062-ZOO-1999). Male Wistar rats (7 or 8 weeks old) were used (Fig. 1). The animals were housed in groups of 2–3 animals in transparent acrylic cages and maintained in a *vivarium* with controlled temperature (22 ± 1 °C) and under a normal light–dark cycle (12/12 h). Animals were supplied with food and water *ad libitum* before the experiment. During the behavioral evaluation, animals were water restricted for 22 h.

A β ₍₁₋₄₂₎ administration

For the administration of A β or its vehicle (F12 medium), animals were anesthetized with a mixture of Ketamine (80 mg/kg) and Xylazine (9 mg/kg). A β was oligomerized using a previously described protocol (Hernández-Soto et al., 2019) in which A β is finally dissolved in F12 medium, making it the vehicle in the experiments (Hernández-Soto et al., 2019). After verifying proper anesthesia levels, by the absence of pedal reflexes, animals were affixed to a stereotaxic frame. Then, a small craniotomy was performed for the infusion of A β ₁₋₄₂ or its vehicle (F12 medium). The microinjection was achieved with a stainless-steel needle connected to a Hamilton syringe (10 μ l; Hamilton Company) via a plastic tubing and controlled by a microinfusion pump (World Precision Instruments). The following coordinates were used for the icv infusion (global A β): AP-0.7 mm, ML \pm 1–5 mm and DV 3.5 mm, with respect to Bregma and skull surface (Paxinos & Watson, 2009). At this location either 10 μ l of A β ₁₋₄₂ (100 pmoles/ μ l) or F12 medium (vehicle) were microinjected at a rate of 1 μ l/min. For mPFC infusion (local A β), a volume of 4 μ l (2 l per side; 0.5 μ l/min) of A β (or its vehicle) was bilaterally microinjected at the following coordinates: AP + 3.2 mm, ML \pm 0.7 mm and DV –4.2 mm, with respect to Bregma and skull surface. Microinjectors were coated with 1,1'-D ioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate (DiI; Invitrogen) 1% (w/v; in dimethyl sulfoxide; Sigma-Aldrich) to stain the tissue around them (Fig. 3; Mendez-Salcido et al., 2022). After surgery, animals were immediately treated with Meloxicam (2 mg/kg), which was repeated daily for the following 2 days, to reduce inflammation and pain. The animals were allowed to recover for 14 days before any experimental manipulation (Fig. 1).

Immunofluorescence

Two weeks after mPFC injection, rats were anesthetized with pentobarbital (70 mg/kg). In the absence of plantar reflex, animals were transcardially perfused with cold phosphate buffered saline (PBS; 0.1 M) and subsequently perfused with a 4% paraformaldehyde (PFA) solution in PBS. Brains were dissected and post-fixed in the same 4% PFA solution for 24 h. After post-fixation, brains were left in a 30% sucrose solution until sinking. Coronal mPFC slices (30 μ m thick) were obtained with a CM350S cryostat (Leica, Germany). Sections were stored in 0.1 M PBS at 4 °C. Free-floating slices were rinsed three times, 10 min each, with PBS 0.1 M. Then, sections were incubated for 1 h with a blocking solution (2% normal donkey serum (NDS) + 0.3% Triton X-100 in 0.1 M PBS). Next, slices

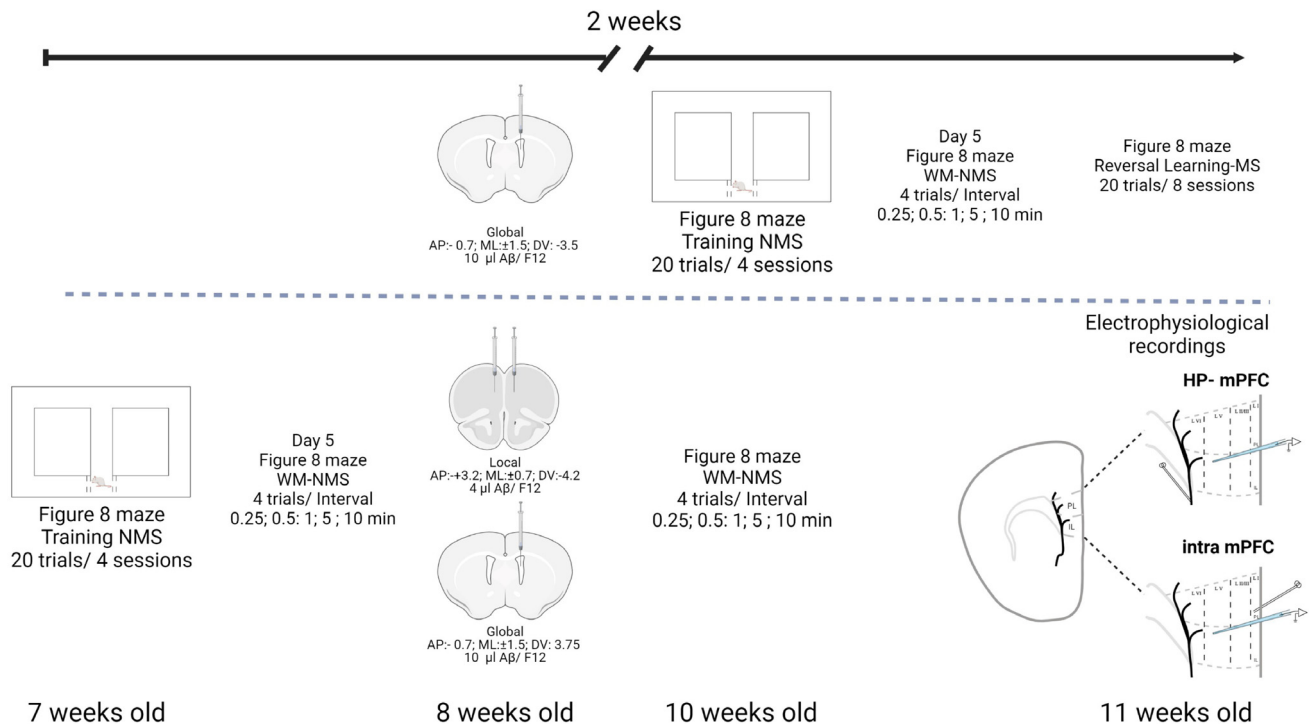


Fig. 1. Experimental design. To study the effects of a widespread increase in A β (Global) on PFC function, 8-week-old male Wistar rats were intracerebroventricularly infused with this peptide or its vehicle. Two weeks after recovery from surgery, animals were trained in a non-matching-to-sample (NMS) protocol in the Figure-8 maze. On the fifth day of training, intervals between task phases were introduced to measure working memory (WM). Finally, we evaluated reversal learning by switching to a matching-to-sample (MS) protocol. For a different experimental approach, 7-week-old male rats were initially trained in the Figure-8 maze and on the last day of training WM was evaluated. After training, A β levels were increased globally or locally (intra-PFC infusion). Two weeks after recovery from surgery, animals were re-trained in an NMS protocol in the Figure-8 maze and intervals between task phases were introduced measuring WM. After 5 days of behavioral evaluation, electrophysiological recordings were performed on mPFC slices (Parent et al., 2010). Layer V pyramidal cells were recorded. Their excitability and synaptic inputs were evaluated. In some experiments, the hippocampal bundle was stimulated with a bipolar electrode (upper scheme), while in others intracortical connections were evaluated by locating the bipolar electrode in layer I (lower scheme).

were immersed in an incubation solution (1% NDS + 0.2% Triton X-100 in 0.1 M PBS) with a mouse monoclonal antibody against A β (BAM-10, dilution 1:100, Sigma-Aldrich; Jordá et al., 2010; Orta-Salazar et al., 2019) for 48 h at room temperature under agitation. After incubation, slices were washed 3 times with 0.1 M PBS for 10 min and re-immersed in the incubation solution with the secondary antibody (anti-mouse Alexa 488, 1:100, Molecular Probes) for 2 h at room temperature. Finally, sections were washed 3 times with 0.1 M PBS for 10 min, mounted in gelatin and covered with Fluoromount-G mounting medium with DAPI (Invitrogen) and coverslips. Epifluorescence images were obtained with an AxioImager microscope (Zeiss) with an 10 \times objective.

Behavioral tests

Figure-8 maze. To evaluate working memory the Figure-8 maze was used (Dudchenko, 2004; Pedigo et al., 2006; Fig. 2). In this test, working memory can be used within a testing session but not between sessions (Dudchenko, 2004; Pedigo et al., 2006), as short-term memory would. Figure-8 maze was built with 4 mm thick

black acrylic and 6 cm high walls. The apparatus consisted of one central and two lateral 90 cm-long corridors (13 cm wide), which were connected by two perpendicular 170 cm-long corridors (Fig. 2). The maze was located 56 cm above the room floor. The animals were water restricted for 22 h and habituated to the maze for 2 days. This water restriction regime was maintained for the rest of experiment. The Figure-8 task included a sample phase and a choice phase (Fig. 2). For the sample phase, animals started each trial by crossing the central corridor until reaching the perpendicular corridor, where a removable barrier forced them to turn to one of the randomly selected lateral corridors. In the middle of the lateral corridor, the sample (a 50 μ l drop of water, as a reward) was provided (Fig. 2). Once the reinforcer was obtained, animals continued walking through this lateral corridor to reach the opposite perpendicular corridor and then return to the starting point in the central corridor, where animals were also rewarded, ending the trial (Pedigo et al., 2006, Fig. 2). Removable barriers were positioned to regulate access to the different corridors. For the choice phase, independent groups of animals were trained in a non-matching-to-sample protocol (NMS, i.e. go to the contralateral corridor during the choice phase to receive a reward) or in a matching-to-sample protocol (MS, i.e.

Figure 8 maze

Non-matching-to-sample

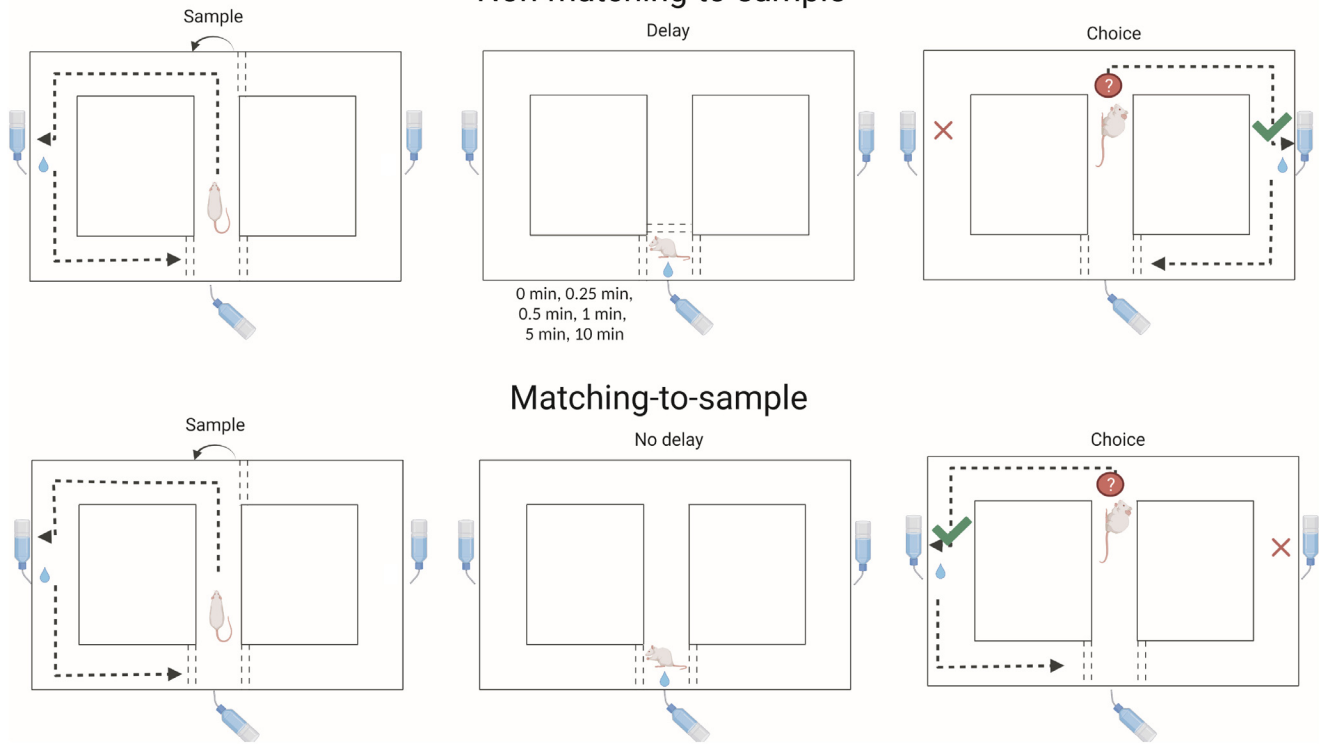


Fig. 2. Figure-8 maze. The shape and dimensions of the maze are depicted along with the sites where the reward (a water drop) is delivered. The double dotted lines represent removable barriers located in the maze as required. The dotted arrows represent the animals' desired trajectories during a correct trial. Two training protocols are represented with the sample (left), the delay (or lack of it; middle), and the choice (right) phases. The representations at the top depict the non-matching-to-sample protocol, whereas the representations at the bottom depict the matching-to-sample protocol, which did not include trials with delay.

return to the ipsilateral corridor during the choice phase to receive a reward; Deacon & Rawlins, 2006), as will be described next.

Non-matching-to-sample protocol. For the NMS version of the task, animals were trained to choose the corridor contralateral to the one previously visited, during the sample phase, to receive a reward. Then, animals returned to the beginning of the central corridor to obtain a fourth reinforcer. Seven-week-old male Wistar rats were trained with this paradigm for 20 trials per session (1 session = 1 day; Fig. 1), for four sessions. On the last day of training (day 5), animals were held at the initial section of the maze for different delay intervals between the sample and choice phases: 0.25 (15 s), 0.5 (30 s), 1, 5, and 10 min (4 trials each; Fig. 1). In this working memory task, the information can be maintained during delays of several minutes (Dudchenko, 2004; Zhang et al., 2013). Moreover, long-lasting delays can reveal working memory impairments that cannot be observed with shorter ones (Zhang et al., 2013). The training in this protocol began 14 days after the icv infusion with 10 μ l of either $A\beta_{1-42}$ ($n = 8$) or F12 medium (vehicle; $n = 9$; Fig. 1).

An independent group of 7-week-old male Wistar rats ($n = 26$) were trained in the NMS version of the task with no delays until 75% of correct responses were obtained for 4 consecutive days. Then, the next day, delay intervals were presented between the sample and choice phases. After training, animals received either an icv (vehicle = 7 and $A\beta_{1-42} = 8$) or an intra-mPFC microinjection (Local $A\beta$; vehicle = 6; $A\beta_{1-42} = 5$), as previously described (Fig. 1). After two weeks of recovery from surgery, animals were retrained with the NMS protocol for 5 days during which four-trial blocks with different delays (or no delay) were randomly mixed across days (Fig. 1).

Matching-to-sample (MS) protocol. An independent group of 10-week-old male Wistar rats that received an icv microinjection (vehicle = 6 and $A\beta_{1-42} = 6$) were trained in the NMS version of the task (with no delay) until 75% of correct responses were obtained for 4 consecutive days. Then, to study CF, animals were subjected to a reverse training for 8 days, where the MS rule (i.e., return to the ipsilateral corridor during the choice phase) was required to receive a reward (Fig. 2; Dudchenko, 2004).

Electrophysiological recordings

Slice preparation. For patch clamp recordings, coronal mPFC slices containing the hippocampal bundle were obtained from previously trained 10-week-old rats (during the 11th week after birth; Fig. 1), as previously described (Parent et al., 2010; Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017). This preparation allows us to study different inputs to the PFC (Parent et al., 2010), including the HP-PFC bundle (Parent et al., 2010; Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017) as well as intracortical inputs (Parent et al., 2010). The time point at which slices were obtained (Fig. 1) allowed us to test the effects of A β when they are already well-established (Alvarado-Martínez et al., 2013; Salgado-Puga et al., 2017; Alcantara-Gonzalez et al., 2019). Briefly, rats were anesthetized with pentobarbital (150 mg/kg) and transcardially perfused with a cold sucrose neuroprotective solution containing (in mM): 75 sucrose, 25 glucose, 25 NaHCO₃, 2.5 KCl, 78 NaCl, 1.25 NaH₂PO₄, 0.5 CaCl₂, 7 MgCl₂ (Bischofberger et al., 2006), continuously bubbled with carbogen (95% O₂, 5% CO₂). Subsequently, rats were decapitated, and the brains were removed and submerged in bubbled ice-cold neuroprotective solution. The cerebellum was removed and the hemispheres were glued with cyanoacrylate to an inclined (10–12°) agar block (Parent et al., 2010; Flores-Martínez and Peña-Ortega, 2017). mPFC slices, 385 μ m thick, were obtained using a vibratome (HM-650-V, Thermo Fisher, USA, or VT1000S, Leica, Germany), while tissue was submerged in bubbled ice-cold neuroprotective solution. Only slices containing the hippocampal bundle (Parent et al., 2010), were kept and transferred to a recovery solution (mM): 125 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 25 NaHCO₃, 10 glucose, 1 CaCl₂, and 4 MgCl₂ at 34 °C for 30 min and then allowed to reach room temperature for 1 h (Bischofberger et al., 2006).

Patch-clamp recordings. At the end of the incubation period, an mPFC slice was transferred to a submerged chamber with circulating ACSF containing (in mM): 125 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 Na₂HPO₄, 25 NaHCO₃, 2 CaCl₂, 2 MgCl₂, and 10 glucose, kept at 33–34 °C and continuously bubbled with carbogen. Layer V pyramidal cells of the infralimbic (IL) and prelimbic (PL) areas were visually identified with differential interference contrast illumination in an E-600FN-Nikon microscope, and cells were recorded in a whole-cell configuration with borosilicate pipettes with a resistance of 3–6 M Ω and filled with an internal solution containing (in mM): 120 potassium gluconate, 10 KCl, 10 HEPES, 1 MgCl₂, 0.05 EGTA, 0.3 LiGTP, 2 Na₂ATP (Debanne et al., 1996). Voltage and current clamp recordings were amplified and low-passed at 10 kHz with an Axopatch 200b amplifier (Molecular Devices, USA). The signal was digitized at 30 kHz (Digidata 1550, Molecular Devices, USA). In current clamp mode, standard current/voltage (I/V) and current/frequency (I/F) curves were obtained using 1-second-long square current pulses, at 0.2 Hz, to determine the subthreshold and suprathreshold properties of the pyramidal cells. For the I/V curve, direct current

was continuously injected to set the membrane potential to –70 mV and square current pulses were applied from –250 pA, in 25 pA steps, until reaching the action potential (AP) threshold. For the I/F curve, with the membrane potential held at –70 mV and depolarizing current pulses of increasing intensity (from 50 to 500 pA, in 50 pA steps) were applied (Peña-Ortega et al., 2010; Vargas-Barroso et al., 2016). In voltage clamp mode, spontaneous postsynaptic currents (sPSCs) were recorded for 3 min with a holding potential of –70 mV.

After characterizing the pyramidal cell's synaptic properties, extracellular current pulses (100- μ s-long at 0.03 Hz) were applied with a bipolar electrode located either in the hippocampal bundle or in PFC layer I to evoke excitatory postsynaptic currents (EPSCs; Fig. 1). The activation of the HP-PFC bundle results in patterned activity of neurons in the PFC which is distinct from that of the superficial layer 1 (Parent et al., 2010; Fig. 1). The threshold intensity current, determined for any given slice, was determined as the minimum stimulation necessary to evoke an EPSC differentiable from noise in 50% of the stimulations (Salgado-Puga et al., 2017). Input-output (I-O) curves were obtained by increasing the stimulation intensity, in threshold folds, until the maximum synaptic amplitude was achieved (Salgado-Puga et al., 2017). To evaluate short- and long-term synaptic plasticity, stimulus intensity was adjusted to evoke an EPSC of 30–50% of the maximal synaptic amplitude (Salgado-Puga et al., 2017). Short-term plasticity was evaluated by applying trains of five stimulations at different frequencies (5, 10, 20, and 50 Hz; Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017). For LTP, after 5 min of basal recording, tetanic stimulation (3 trains of 100 pulses at 100 Hz with an inter-train interval of 10 s) was applied and post-tetanic recordings were continued for 45 min (Herry & Garcia, 2002; Salgado-Puga et al., 2017).

Analysis and statistics

Behavioral analysis. All trials in the Figure-8 maze were videotaped and stored in a personal computer with a webcam (Logitech C920) for off-line analysis. Correct responses were defined as follows: visits to the contralateral corridor during the choice phase in the NMS task or visits to the ipsilateral corridor during the choice phase in the MS task. Both quantifications are presented as the percentage of correct responses.

Electrophysiological recordings. Patch-clamp recordings were analyzed off-line with Clampfit v.10 (Molecular Devices, USA). Input resistance (R_n) was calculated as the slope of the linear portion of the I/V curve. The decay time constant was calculated by adjusting an exponential function to the capacitive response in two points adjacent to the 0 pA step (Armenta-Resendiz et al., 2018). For the sag membrane potential, the absolute difference between the steady (late) hyperpolarization and the largest (early) voltage decrease during the –250 pA step was calculated (Armenta-Resendiz et al., 2018). Rebase current was

defined as the minimal current required to elicit at least one AP. The fast after-hyperpolarization (AHPf) was measured as the maximal negative potential after the first AP at the rebaseline current (Armenta-Resendiz et al., 2018). The slow component of the AHP (AHPs) was measured as the maximal negative potential after a firing train evoked with depolarizing 200 pA (Wu et al., 2016). Firing frequency was defined as the number of APs during the 1-second-long square pulse. sPSCs were identified with a manually supervised template build with at least 10 representative traces and a voltage threshold of 0.5 mV (Lara-Valderrábano et al., 2017). Spike frequency adaptation was measured in the spike trains evoked by a 400 pA current injection, by measuring the time constant (τ_{Adapt}) of a simple exponential function adjusted to their instantaneous spike frequency over time (Villanueva-Castillo et al., 2017). We also calculated the attenuation factor (f_{adapt}) as $f_{\text{adapt}} = (f_0 - f_{\text{SS}})/f_0$, where f_0 is the initial firing rate and f_{SS} is the steady state firing rate (Gabbiani & Krapp, 2006). For the EPSCs induced during the short-term stimulation protocols, their mean amplitude was measured and normalized with respect to the amplitude of the first response of the train (set as 100%). For the LTP experiments, the mean amplitude of the EPSC was measured during the basal period and set as 100%, while the mean amplitude during the post-tetanic period was normalized as % of basal (Salgado-Puga et al., 2017).

Statistics. Data was analyzed using GraphPad Prism (GraphPad Software V.8, San Diego, CA). The Shapiro–Wilk test was performed to define the normality of data distribution and the subsequent use of parametric or non-parametric tests for data comparisons. For all comparisons between two groups, Student's *t*-test or Mann–Whitney U were used as defined by the normality test. For analysis that required multiple comparisons, the mixed model ANOVA with Bonferroni post hoc was applied. Most data were fitted with a simple logarithmic one phase function flanked by plateau regression from which tau and R^2 parameters were extracted. Fitted curves were compared with the Mann–Whitney U test. For the spike frequency adaptation analysis, a single exponential decay function was adjusted. For the I–O curve and the short-term plasticity experiments, a logarithmic agonist-response function and a hyperbolic binding curve were fitted, respectively. R^2 parameter was reported in all cases. Any other analysis will be described as needed. For all figures, significance is denoted as follows: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

RESULTS

Infusion of A β leads to its accumulation beyond the microinjection site

As mentioned, animals were microinjected with A β or its vehicle (F12 medium) either icv (global infusion) or directly into the PFC (local infusion; Fig. 3). To corroborate the presence of A β in the PFC after such injection, we immunostained the tissue for A β using the antibody BAM-10 (Jordá et al., 2010; Orta-Salazar et al., 2019) and found that A β is accumulated adjacent

to the microinjection site (labeled with Dil; Fig. 3B) but also beyond this point, at the level of the recording site (approximately 1 mm apart; Fig. 3D). We did not identify the presence of A β immunostaining in animals microinjected with F12 medium neither in the microinjection nor in the recording sites (Fig. 3A, C, respectively).

Global and local A β infusion reduces WM capacity. Animals trained in the NMS version of the Figure-8 maze (Pedigo et al., 2006) easily learned the rule and improved their performance from 89% of correct responses (alternations) on the first day of training to 100% of correct responses on the fifth day ($n = 26$; Fig. 4A). Fitting a logarithmic function flanked by plateau ($R^2 = 0.9$) to data, including a theoretical 50% of correct responses on day zero, revealed a tau of 0.6 days (Fig. 4A, inset). On the fifth day, we tested WM in these animals by introducing variable delays between samples, which lead animals to significantly reduce their performance to 90, 82, 80, 50 and 57% of correct responses (at a delay of 0.25, 0.5, 1, 5, and 10 min, respectively; Fig. 4B). The longest delays (5 and 10 min) significantly reduced the performance in this task compared with shorter delays (Kruskal–Wallis test $k = 50.11$, $p = 0.0001$, Dunn's post-hoc; Fig. 4B). Fitting an exponential function flanked by plateau to the performance during the delayed trials ($R^2 = 0.4$) revealed a tau of 1.6 min (Fig. 4, inset).

To characterize the effects of A β on learning and WM in the Figure-8 maze, we evaluated the performance of animals injected icv with A β (global A β group, $n = 9$) or vehicle (control group, $n = 8$) and found that global A β application slightly delayed the learning of the NMS version of the Figure-8 maze [Mixed Model ANOVA, day: $F(4,32) = 28.88$, $p = 0.001$; group: $F(1,8) = 6.847$, $p = 0.03$; day \times group $F(4,22) = 4.313$, $p = 0.01$, Bonferroni post-hoc; Fig. 5A]. For instance, on the first day of training, the global A β group exhibited a percentage of correct responses (79%) that was significantly smaller than that of the control group (90%; Bonferroni multiple comparison test, $t = 4.41$, $p = 0.0001$; Fig. 5A). Moreover, the tau exhibited in the one-phase decay curves for the global A β group (0.9 days) was twice as long as that of the control group (0.4 days; Mann–Whitney test, $U = 39$, $p = 0.001$; Fig. 5A, inset). Despite these differences in learning during the first day of training, the control and global A β groups reached perfect scores at the end of their training periods (100% of correct responses on the fifth training day; Fig. 5A). On the fifth day, we also tested WM in these animals by introducing variable delays between phases, which showed that the performance of the A β group was significantly reduced when the delay between the sample and choice phases was 5 min (50% of correct responses vs 83% of correct responses of the control group; Mann–Whitney test, $U = 6$, $p = 0.001$; Fig. 5B). Similarly, the performance of the A β group was significantly reduced when the delay between the sample and choice phases was 10 min (53% of correct responses vs 88% of correct responses of the control group; Mann–Whitney test, $U = 6$,

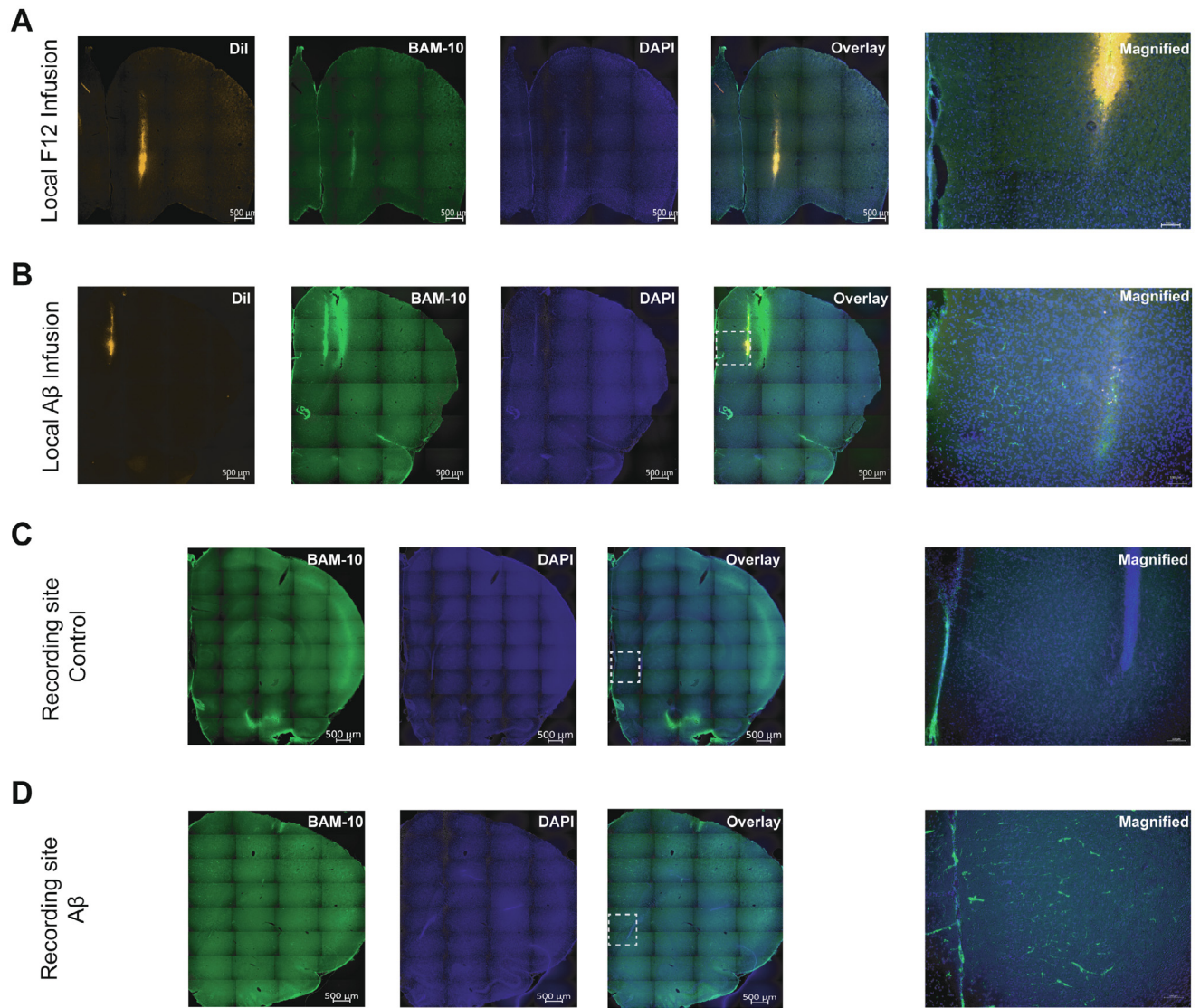


Fig. 3. Histological verification of the intra-PFC injection site and A β accumulation. The microinjector trajectory was revealed with Dil (which was attached to the injector before its introduction into the tissue). A β was immunostained with the antibody BAM-10 and nuclei were stained with DAPI. All these detections were performed around the injection site for animals infused with A β (B) or its vehicle (F12 medium; A). BAM-10 and DAPI staining was also detected at the level of the recording sites (approximately 1 mm apart from the microinjection site) for animals infused with A β (D) or F12 medium (Control, C). Magnifications of image overlays images show BAM-10 staining (A β accumulation) in the PFC of animals infused with A β but not with its vehicle, both at the injection and recording sites.

$p = 0.002$; Fig. 5B). The one-phase decay function fit for these trials with delays for the global A β and control groups ($R^2 = 0.13$ and 0.44 , respectively; Fig. 5B, inset) revealed a longer tau in the global A β group (1.75 min) than in the control group (0.16 min; Mann–Whitney test, $U = 46$, $p = 0.0001$; Fig. 5B, inset).

To measure reversal learning, we switched the task from an NMS version to an MS version and found that the control animals improved their performance from 15% of correct reversed responses on the first day of reversal training to 95% of correct reversed responses on the eighth day of reversal training (Fig. 5C). In contrast, global A β animals were completely unable to change their behavior, maintaining only 13% of correct reversed responses after eight days of reversal training [Mixed model ANOVA, day: ($F(7, 35) = 41.74$,

$p = 0.0001$); group: ($F(1, 5) = 127.5$, $p = 0.0001$); day \times group ($F(7, 35) = 28.66$, $p = 0.0001$), Bonferroni post-hoc; Fig. 5C]. Thus, our findings indicate that global A β application affects learning, WM, and reversal learning in the Figure-8 maze.

To corroborate the alterations in WM without the influence of defective learning, we trained naïve animals in the NMS version of the Figure-8 maze (Figs. 1 and 2). Once they reached perfect scores, animals were injected with A β either icv (global A β group; Fig. 6A) or intra-PFC (local A β group; Fig. 6B). Injection of vehicle in both locations was used as control (Fig. 6). Two weeks after injection, animals were re-trained in the Figure-8 maze for five days. During this time, animals of all groups maintained the highest performance in the trials with no delay (data not shown). However, when

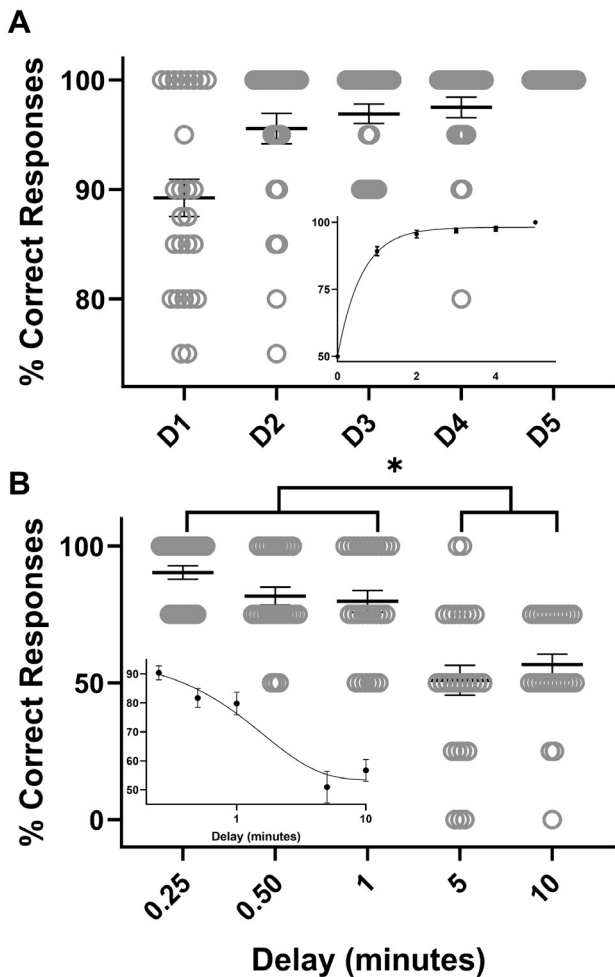


Fig. 4. Learning of the non-matching-to-sample rule in the Figure-8 maze and evaluation of working memory. **(A)** Learning curve of the non-matching-to-sample rule with no delay, represented as a proportion of correct responses. **Inset** Logarithmic one phase decay flanked by plateau fit to the mean correct responses. **(B)** Working memory evaluation by the incorporation of variable delays between the sample and choice phases. Note that with longer delays there is a reduction of correct responses (Kruskal–Wallis test $k = 50.11$, $p = 0.0001$; Dunn's multiple comparison test). **Inset** Logarithmic one phase decay flanked by plateau fit to the mean responses. Grouped data are presented as mean \pm SEM.

delays were included between the sample and choice phases, the global A β group ($n = 8$; Fig. 6A) significantly reduced performance at the 5 and 10 min delays (63 and 50% of correct responses, respectively), compared to the control group (81% of correct responses in both cases; Mann–Whitney test, 5 min, $U = 3$, $p = 0.001$; 10 min, $U = 1$, $p = 0.0001$; Fig. 6A). The fitted exponential functions for the trials with delays for the global A β and control groups ($R^2 = 0.6$ and 0.2 , respectively) revealed a significantly longer tau in the global A β group (16.7 min) than in the control group (0.6 min; Mann–Whitney test, $U = 57$, $p = 0.0001$; Fig. 6A, inset). In contrast, the local A β group (injected in the PFC with A β) exhibited a significantly reduced performance at all delays tested compared to the control group (injected in the PFC with

vehicle; Mann–Whitney test, 0.25 min ($U = 0$, $p = 0.0043$); 0.5 min ($U = 0$, $p = 0.0043$), 1 min ($U = 0.5$, $p = 0.0065$), 5 min ($U = 0$, $p = 0.0022$), 10 min ($U = 0$, $p = 0.0022$), Fig. 6B). Thus, the fitted exponential functions for the trials with delays for the local A β and control groups ($R^2 = 0.8$ and 0.3 , respectively) revealed a significantly longer tau in the global A β group (6.7 min) than in the control group (0.2 min; Mann–Whitney test, $U = 0$, $p = 0.0001$; Fig. 6B, inset).

Local A β induces hyperexcitability in layer V pyramidal neurons

To assess the changes in PFC excitability that might be involved in the WM disturbance induced by intra-PFC A β application, we characterized the subthreshold and suprathreshold properties of PFC pyramidal neurons in slices obtained 3–4 weeks after animals were injected into the PFC with either A β (local A β group, $n = 13$) or vehicle (control group, $n = 17$) (during the 11th week after birth; Fig. 1). We found that most subthreshold properties RMP (Mann–Whitney test, $U = 106$, $p = 0.85$), Rm (Mann–Whitney test, $U = 81$, $p = 0.21$), Tau (Mann–Whitney test, $U = 103$, $p = 0.77$) and Rheobase (Mann–Whitney test, $U = 85$, $p = 0.2844$; Fig. 7A–E) were identical between groups. However, we also found that pyramidal cells of the local A β group exhibited a bigger sag membrane potential (5.0 ± 0.4 mV) than the control group (3.5 ± 0.5 mV; Mann–Whitney test, $U = 59$, $p = 0.03$; Fig. 7F).

When we evaluated the suprathreshold properties of PFC pyramidal cells (Fig. 8), we found that local A β application significantly increased averaged AP firing induced by stimuli of increasing magnitude [Mixed model ANOVA, $I = F(1.376, 38.53) = 171.3$, $p = 0.001$]; group ($F(1, 28) = 13.55$, $p = 0.001$); $I \times$ group ($F(9, 252) = 6.80$, $p = 0.001$), Bonferroni post-hoc; Fig. 8A]. Pairwise comparisons show that the increase in AP firing was significantly higher at depolarizing currents of 400 pA (23.08 ± 1.6 APs), 450 pA (25.23 ± 1.5 APs) and 500 pA (26.77 ± 1.48 APs), compared to the control group (15.76 ± 1.38 ; 15.41 ± 1.31 ; 16.47 ± 1.61 APs; respectively; Bonferroni multiple comparison test; Fig. 8A). As previously reported (Wang et al., 2009; Haghani et al., 2012), we found that cells from the A β group had bigger AHPf (19.6 ± 1.56 mV; t test, $t(29) = 3.6$, $p = 0.001$) than those of the control group (12.49 ± 1.21 mV; t test, Fig. 8B). In contrast, we did not find differences in the AHPs amplitude (Vehicle: 4.68 ± 0.31 mV; A β : 5.35 ± 0.58 mV; t test, $t(29) = 1$, $p = 0.38$, Fig. 8C). We also evaluated the temporality of the APs induced by a depolarizing current of 400 pA and found that the A β group exhibited both a faster initial firing rate (A β : 183.05 ± 16.68 Hz vs Vehicle: 111.30 ± 12.75 Hz; t test, $t(27) = 3.5$, $p = 0.001$, Fig. 8D) and a faster steady state firing rate (A β : 24.27 ± 2.58 Hz, Vehicle: 16.17 ± 1.63 Hz; t test, $t(27) = 2.8$, $p = 0.009$, Fig. 8E). Conversely, the A β group showed a shorter adaptation time constant (τ_{Adapt} ; A β : 20.05 ± 2.36 ms, t test, $t(27) = 2$, $p = 0.05$) than the control group (Vehicle: 30.14 ± 3.93 ms, Fig. 8F).

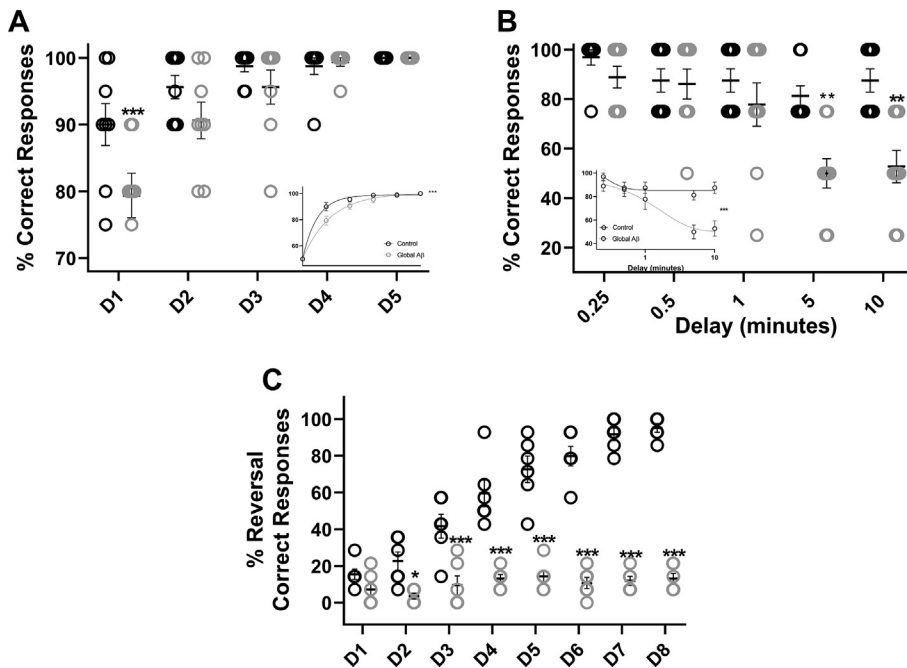


Fig. 5. Global A β application reduces learning, working memory, and cognitive flexibility in the Figure-8 maze. **(A)** Learning curve of the non-matching-to-sample rule with no delay in animals injected ivc with A β or vehicle (control), represented as a proportion of correct responses. [Mixed Model ANOVA, day: $F(4, 32) = 28.88, p = 0.001$; group: $(F(1, 8) = 6.847), p = 0.03$; day \times group $F(4, 22) = 4.313$, Bonferroni post-hoc]. **Inset** Logarithmic one phase decay flanked by plateau fit to the mean correct responses (Mann–Whitney test, $U = 39, p = 0.0001$). **(B)** Working memory evaluation in trials with variable delays between the sample and choice phases in both groups. Note that A β reduced the correct responses (Mann–Whitney test; 5 min $U = 6, p = 0.0015$; 10 min $U = 6, p = 0.0023$). **Inset**. Logarithmic one phase decay flanked by plateau fit to the mean correct responses (Mann–Whitney test, $U = 46, p = 0.0001$). **(C)** Reversal learning evaluation by switching the task to a matching-to-sample rule, which is never learned by animals treated with A β [Mixed model ANOVA, day: $(F(7, 35) = 41.74, p = 0.0001)$; group: $(F(1, 5) = 127.5, p = 0.0001)$; day \times group $(F(7, 35) = 28.66, p = 0.0001)$, Bonferroni post-hoc]. Grouped data are presented as mean \pm SEM.

However, the adaptation measured as the attenuation factor (see Materials and Methods) did not show differences between groups (A β : 0.86 ± 0.01 , Vehicle: 0.84 ± 0.02 , Fig. 8G).

Local A β does not change basal synaptic transmission or its short-term plasticity, but avoids long-term potentiation of different PFC inputs

We also characterized the synaptic properties of PFC pyramidal neurons in slices obtained 3–4 weeks after animals were injected into the PFC with either A β (local A β group, $n = 10$) or vehicle (control group, $n = 11$) (during the 11th week after birth; Fig. 1). First, we evaluated the sPSCs recorded at -70 mV and although found no differences in sPSC frequency between the local A β and control groups (10.7 ± 1.9 and 10.0 ± 0.6 Hz, respectively, Mann–Whitney test $U = 50, p = 0.75$, Fig. 9), sPSC amplitude tended to be bigger in the local A β group (16.7 ± 0.7 pA, Fig. 9B) than in the control group (15.2 ± 0.7 pA; Mann–Whitney test $U = 35, p = 0.17$, Fig. 9A). Then, we evaluated the EPSCs evoked on pyramidal PFC neurons by stimulating different inputs to these cells, since previous findings

indicate that A β can produce differential, and sometimes opposite, effects on different synapses arriving at the same target in identical experimental conditions (Brown et al., 2005; Wang et al., 2013; Kurudenkandy et al., 2014). When evaluating the hippocampal input to the PFC (HP-mPFC; Flores-Martinez & Peña-Ortega, 2017; Fig. 1), we found no changes in the evoked EPSCs neither in their amplitude when stimulated at different intensities [Mixed model ANOVA, $I = F(4, 44) = 13.86, p = 0.001$]; group ($F(1, 11) = 1.21, p = 0.29$); $I \times$ group ($F(4, 44) = 0.51, p = 0.72$, Bonferroni post-hoc; Fig. 10A] nor in their short-term plasticity when stimulated at different frequencies [Mixed model ANOVA, Frequencies = $F(4, 112) = 10.08, p = 0.001$]; group ($F(7, 28) = 0.4217, p = 0.88$); Frequencies \times group ($F(28, 112) = 0.47, p = 0.98$, Bonferroni post-hoc; Fig. 11A, B] compared with the control group. We encountered a similar scenario when evaluating the EPSCs evoked on pyramidal PFC neurons by their intracortical input (intra-PFC; Fig. 1), since we found no differences in their amplitude when stimulated at different intensities [Mixed model ANOVA, $I = F(4, 32) = 18.39, p = 0.001$]; group ($F(1, 8) = 0.42, p = 0.53$); $I \times$ group ($F(4, 32) = 0.49, p = 0.74$, Bonferroni post-hoc; Fig. 10B] or in their short-term plasticity when stimulated at different frequencies [Mixed model ANOVA, Frequencies = $F(4, 100) = 28.36, p = 0.001$]; group ($F(6, 25) = 1.52, p = 0.21$); Frequencies \times group ($F(24, 100) = 1.21, p = 0.24$, Bonferroni post-hoc; Fig. 11C, D] between groups. The short-term plasticity observed in our experiments closely resemble the plasticity patterns described previously for both afferents (Parent et al., 2010; Flores-Martinez & Peña-Ortega, 2017), with short-term facilitation ratios of the HP-PFC connections being higher than those evoked by intra-PFC stimulation (i.e. cortico-cortical connections; Figs. 10 and 11).

We also evaluated the tetanus-induced LTP (Herry & Garcia, 2002; Salgado-Puga et al., 2017; Fig. 12) of different inputs to the PFC. Local A β infusion ($n = 5$) blocks LTP in the HP-mPFC pathway (Fig. 12A). While the control group ($n = 5$) showed an LTP of $159.80 \pm 3.34\%$ of basal 40 min after tetanus stimulation of the HP-mPFC pathway (Fig. 12B), the A β group failed to induce LTP, and even lead to LTD, after tetanus stimulation of the HP-mPFC pathway ($91.41 \pm 3.6\%$ of basal;

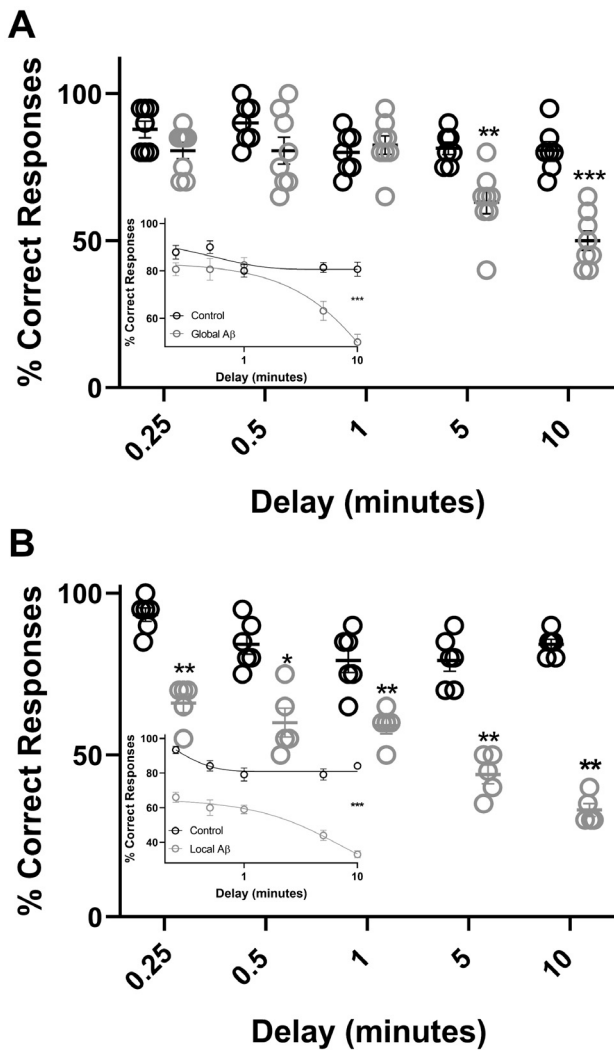


Fig. 6. Global and local A β applications reduce working memory of previously learned Figure-8 maze. **(A)** Working memory evaluation in trials with variable delays between the sample and choice phases in animals that previously learned the non-matching-to-sample rule and then were injected icv with A β (Global A β) or its vehicle (Control). Note that Global A β reduces the performance with delays of 5 min (Mann–Whitney test, $U = 3$, $p = 0.0014$) and 10 min ($U = 0$, $p = 0.003$) compared to the Control group. **Inset** Logarithmic one phase decay flanked by plateau fit to the mean correct responses (Mann–Whitney test, $U = 57$, $p = 0.0001$). **(B)** Working memory evaluation in trials with variable delays between the sample and choice phases in animals that previously learned the non-matching-to-sample rule and then were injected in the PFC with A β (Local A β) or its vehicle (Control). Local A β animals exhibited a reduced performance in all delays (Mann–Whitney test, 0.25 min ($U = 0$, $p = 0.0043$); 0.5 min ($U = 0$, $p = 0.0043$), 1 min ($U = 0.5$, $p = 0.0065$), 5 min ($U = 0$, $p = 0.002$) 10 min ($U = 0$, $p = 0.0022$). **Inset** Logarithmic one phase decay flanked by plateau fit to the mean correct responses (Mann–Whitney test, $U = 0$, $p = 0.0001$). Grouped data are presented as mean \pm SEM.

Mann–Whitney test, $U = 0$, $p = 0.0079$). We found similar results in the intracortical connection (Fig. 12C). The control group ($n = 5$) showed an LTP of 173.30 ± 35.0 5% of basal 40 min after tetanus stimulation of the intracortical pathway ($n = 5$; Mann–Whitney test, $U = 1$, $p = 0.015$; Fig. 12D), whereas the A β group exhibited long-term depression 40 min after tetanus stimulation of

the intracortical pathway ($n = 5$; $68.98 \pm 20.47\%$ of basal; Mann–Whitney test; Fig. 12D).

DISCUSSION

Early AD is characterized by cognitive impairment associated with executive functions, such as WM and CF (Morris & Baddeley, 1988; Kensinger et al., 2003; Klupp et al., 2015). This impairment has been related to A β accumulation in the PFC (Jack et al., 2008; Mori et al., 2014; Mander et al., 2015) and alterations in the activity of this brain region (Klupp et al., 2015; Mander et al., 2015; Kumar et al., 2019; Joseph et al., 2021). Aiming to link these pathological processes, here we showed that a single A β injection (both icv and intra-PFC), which leads to A β accumulation, reduced learning and WM in the Figure-8 maze, while avoiding CF in males. These behavioral alterations correlated with increased layer V pyramidal cell firing, larger sag membrane potential, increased AHPf, and a failure to sustain synaptic LTP at both the hippocampal-PFC pathway and intracortical synapses. These findings show that A β can affect PFC excitability and synaptic plasticity, damaging PFC-dependent functions, which could constitute the foundations for the early alterations in executive functions in AD patients. AD certainly affects more women than men (Regitz-Zagrosek, 2012; Viña et al., 2010). However, in this study we performed the experiments in males due to the well-known dimorphic, and sometimes opposite (Křištofiková et al., 2006; Lecordier et al., 2022), effects of A β , including those of its soluble forms (Křištofiková et al., 2006; Abd-Elrahman et al., 2020). These dimorphic alterations include sex-dependent changes in memory, synaptic transmission and its plasticity (Bories et al., 2012; Schmidt et al., 2019; Navakkode et al., 2021; Gannon et al., 2022; Hulshof et al., 2022; Owlett et al., 2022), that include differential changes in the PFC (Bories et al., 2012; Schmid et al., 2019). These differences could be explained by diversity in genetic background and expression, hormone secretion and neuroinflammatory responses (Navakkode et al., 2021; Gannon et al., 2022; Lecordier et al., 2022; Owlett et al., 2022). However, these sex-dependent alterations need to be addressed in future experiments.

We and others have previously shown that a single A β injection, either icv (Stepanichev et al., 2003; Zhang et al., 2013; Martínez-García et al., 2021), intracisternal (Alcantara-Gonzalez et al., 2019) or intraparenchymal (Hruska & Dohanich, 2007; Haghani et al., 2012; Eslamizade et al., 2015; Wang et al., 2016; Salgado-Puga et al., 2017), affects the activity of a variety of neural circuits (Alcantara-Gonzalez et al., 2019; Martínez-García et al., 2021; Salgado-Puga et al., 2017) and alters different aspects of learning and memory (Eslamizade et al., 2015; Haghani et al., 2012; Hruska & Dohanich, 2007; Martínez-García et al., 2021; Salgado-Puga et al., 2017; Stepanichev et al., 2003; Wang et al., 2016; Zhen & Zhang, 2015). However, to the best of our knowledge, this type of characterization has never been performed in the mPFC, although the consequences of intra-PFC administration on hippocampal function has certainly

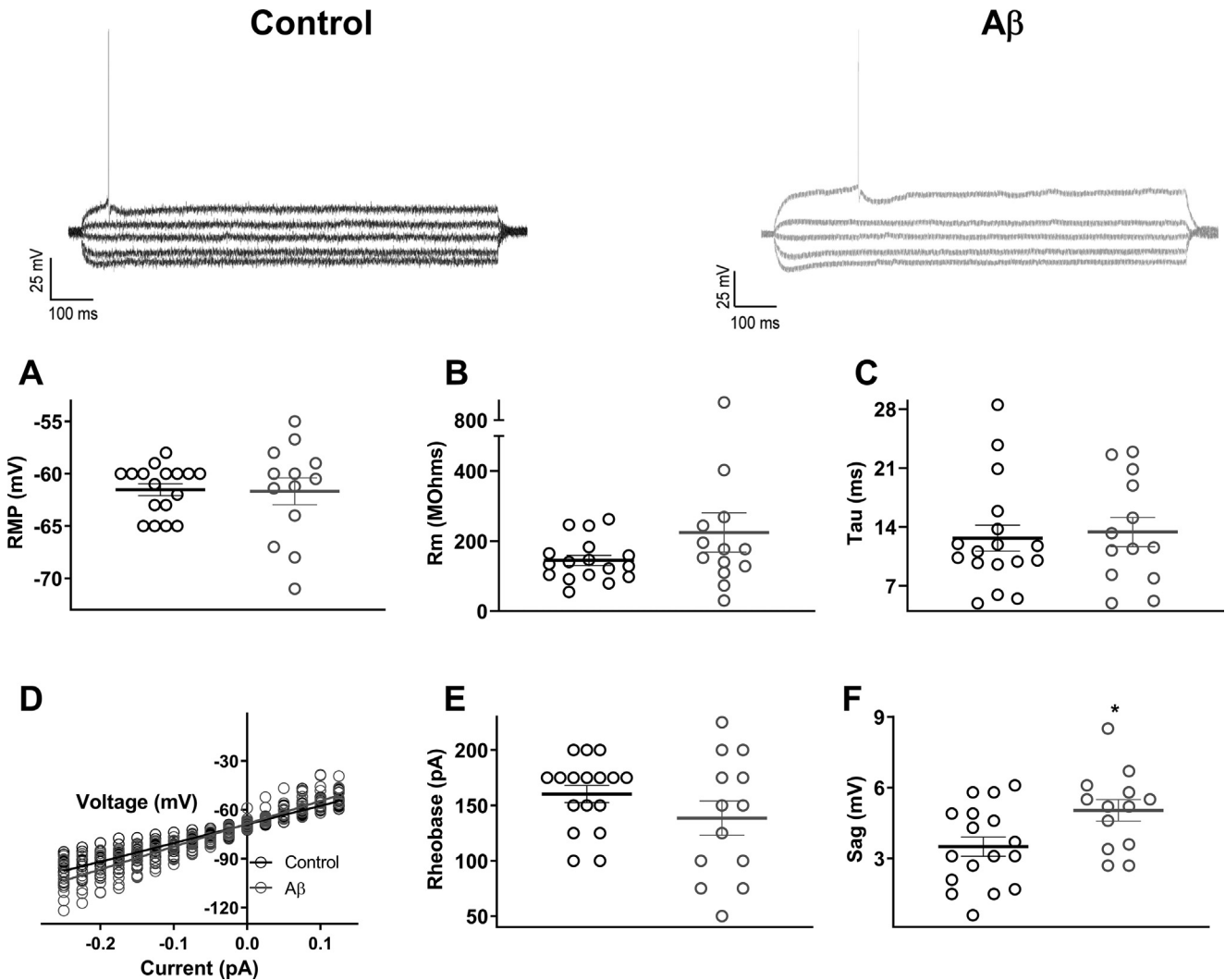


Fig. 7. Local A β application does not change mPFC layer V pyramidal cells subthreshold properties but increases their sag potential. Top. Representative voltage traces in response to square pulses of hyperpolarizing and depolarizing current (I/V curve) in PFC pyramidal cells of the Control (left) and Local A β (right) groups. Quantification of **(A)** Resting membrane potential (RMP; mV; Mann–Whitney test, $U = 106$, $p = 0.85$), **(B)** Input resistance (R_m ; MOhm; Mann–Whitney test, $U = 81$, $p = 0.21$), **(C)** Time constant (Tau; ms; Mann–Whitney test, $U = 103$, $p = 0.77$), **(D)** I/V curve (Mann–Whitney test, $U = 192$, $p = 0.42$), **(E)** Rheobase (pA) (Mann–Whitney test, $U = 85$, $p = 0.2844$), **(F)** Membrane potential sag (mV) (Mann–Whitney test, $U = 59$, $p = 0.031$) are represented for both groups. Grouped data are presented as mean \pm SEM.

been explored (Haghani et al., 2012; Eslamizade et al., 2015).

Here, we found that a single icv or intra-PFC A β injection reduced learning, performance and WM in the Figure-8 maze, while precluding reversal learning in this same maze. As previously reported (Pedigo et al., 2006; Schaefer & Winter, 2011; Van Heusden et al., 2021), animals rapidly learn and maintain top performance in the NMS version of the Figure-8 maze, which requires normal PFC function (Pedigo et al., 2006; Yoon et al., 2008). Although a single intrahippocampal or intra-PFC A β injection does not affect learning of context-dependent memory (Haghani et al., 2012; Eslamizade et al., 2015; Salgado-Puga et al., 2017), it can impair its recall (Sánchez-Rodríguez et al., 2020). Here we found that a single icv A β injection slightly affects learning of the NMS version of the Figure-8 maze (Fig. 2), which is

in line with previous findings that icv A β injection induces a learning deficit in the eight-arm radial maze (Stepanichev et al., 2003), the Y maze (Fukuda et al., 2020) and the water maze (Zhang et al., 2015), indicating that cellular mechanisms involved in learning are highly resistant to A β but can be slightly affected by this peptide under specific conditions and in certain circuits (Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015), as reported here for the PFC.

As previously shown (Pedigo et al., 2006; Schaefer & Winter, 2011; Van Heusden et al., 2021), the response accuracy in the Figure-8 maze decreases with the introduction of delays, particularly longer ones (5 min and 10 min), into the task to assess WM, which reaffirms that the Figure-8 maze is sensitive for measuring WM (Pedigo et al., 2006; Schaefer & Winter, 2011; Jin & Maren, 2015; Van Heusden et al., 2021). Moreover, we found that

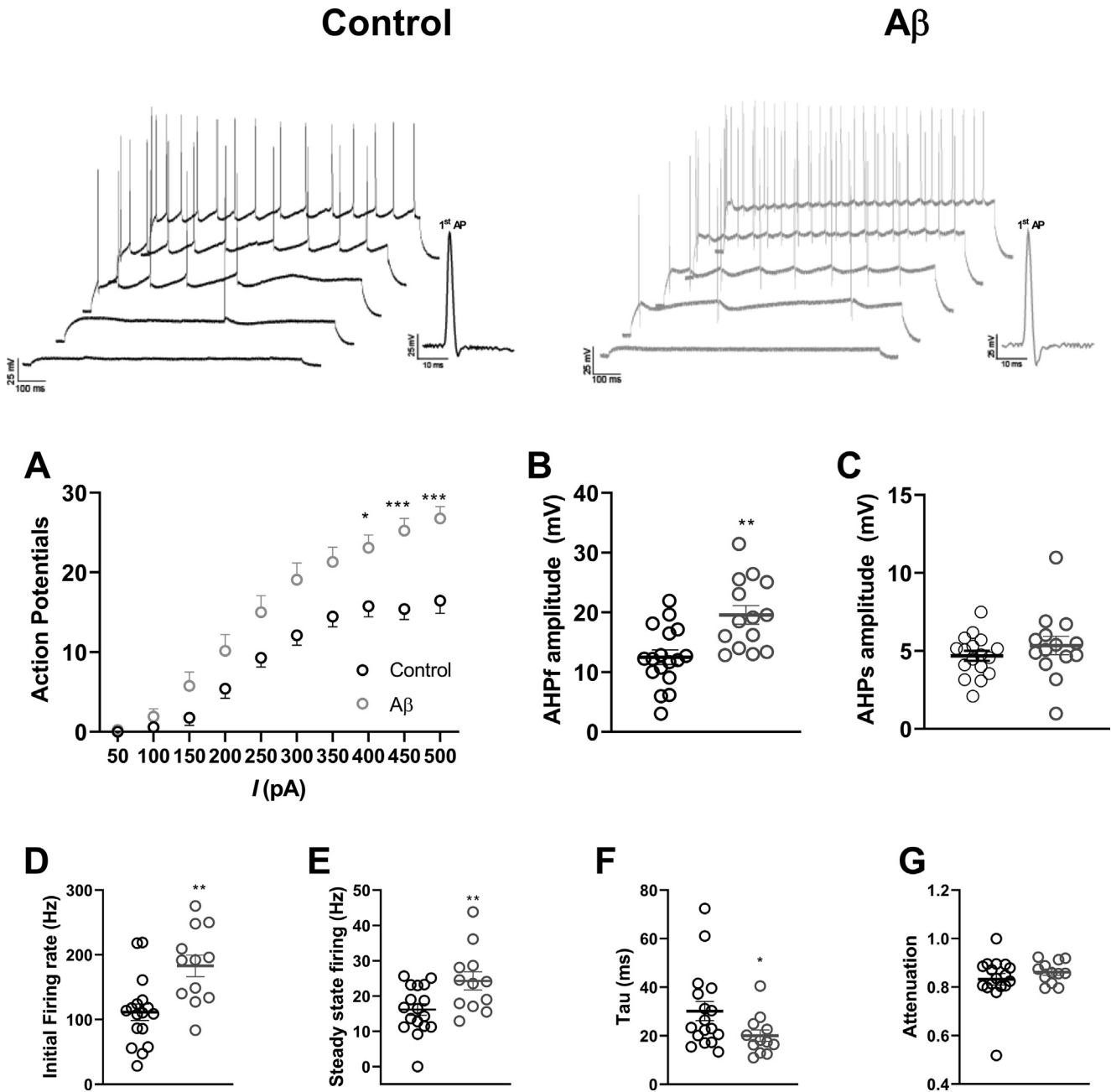


Fig. 8. Local A β application increases mPFC layer V pyramidal firing and induces changes in AHP and firing adaptation. Top. Representative suprathreshold voltage traces in response to square depolarizing currents (I/F curve) for Control (left) and Local A β (right). The insets represent the first AP evoked at rheobase in both cases. **(A)** Average and SEM for each point of the I/F curve [Mixed model ANOVA, $F(1.376, 38.53) = 171.3$, $p = 0.001$]; group ($F(1, 28) = 13.55$, $p = 0.001$); X group ($F(9, 252) = 6.801$, $p = 0.001$), Bonferroni post-hoc]. **(B)** Fast afterhyperpolarization (AHPf) amplitude (mV) (t test, $t(29) = 3.6$, $p = 0.0011$). **(C)** Slow afterhyperpolarization (AHPs) amplitude (mV) (t test, $t(29) = 1$, $p = 0.38$). **(D)** Initial firing rate (Hz) (t test, $t(27) = 3.5$, $p = 0.001$). **(E)** Steady state firing (Hz) (t test, $t(27) = 2.8$, $p = 0.009$). **(F)** Tau of spike frequency adaptation (ms) (t test, $t(27) = 2$, $p = 0.5$). **(G)** Attenuation factors are quantified for each group (t test, $t(27) = 0.96$, $p = 0.34$). Grouped data are presented as mean \pm SEM.

A β injection potentiates the reduction of correct responses in the Figure-8 maze when delays are introduced, inducing reductions in performance even in shorter delays, which is similar to recent findings in APP/PS1 transgenic mice assessed in the same maze (Van Heusden et al., 2021) and to the alterations in WM induced by icv A β injection as measured in the eight-arm radial maze (Stepanichev et al., 2003), the Y maze

(Fukuda et al., 2020) and the water maze (Zhang et al., 2015). Although alterations in WM have been observed after intrahippocampal A β injection when tested in the alternative electro-stimulus Y maze (Wang et al., 2016), the water maze, and the radial arm maze (Hruska & Dohanich, 2007), as far as we know, this is the first demonstration that increasing PFC A β levels is enough to induce a WM alteration. In fact, we found that the

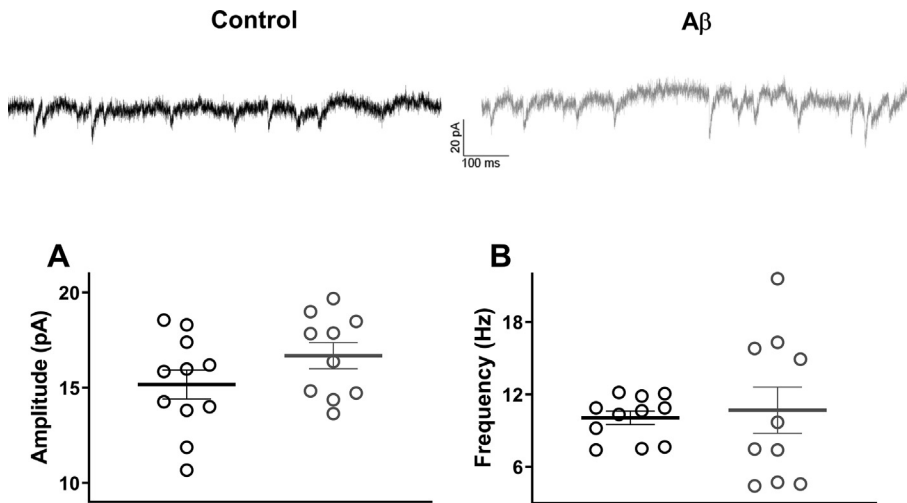


Fig. 9. Local A β application does not affect the spontaneous postsynaptic currents (sPSCs) received by mPFC layer V pyramidal cells. Top. Representative traces of sPSCs received by mPFC layer V pyramidal cells of Control (left) and A β (right) groups. (A) Amplitude of sPSCs. (B) Instantaneous frequency of sPSCs. Grouped data are presented as mean \pm SEM.

deleterious effect of the A β is stronger when applied into the PFC. Since it is well known that the deleterious effects of A β are dose-dependent (Wang et al., 2009; Salgado-Puga et al., 2015, 2017), it is likely that the local application of the peptide reaches higher concentrations in the PFC likely producing greater alterations. This difference between local and global A β has been previously observed comparing global and intra-hippocampal infusion in the radial maze and the Y maze (Stepanichev et al., 2003). In summary, here we have shown that increasing A β into the PFC affects WM, which is a neural function that supports non-routine daily activity (Fuster, 2001; Miller & Cohen, 2001) and whose A β -induced alter-

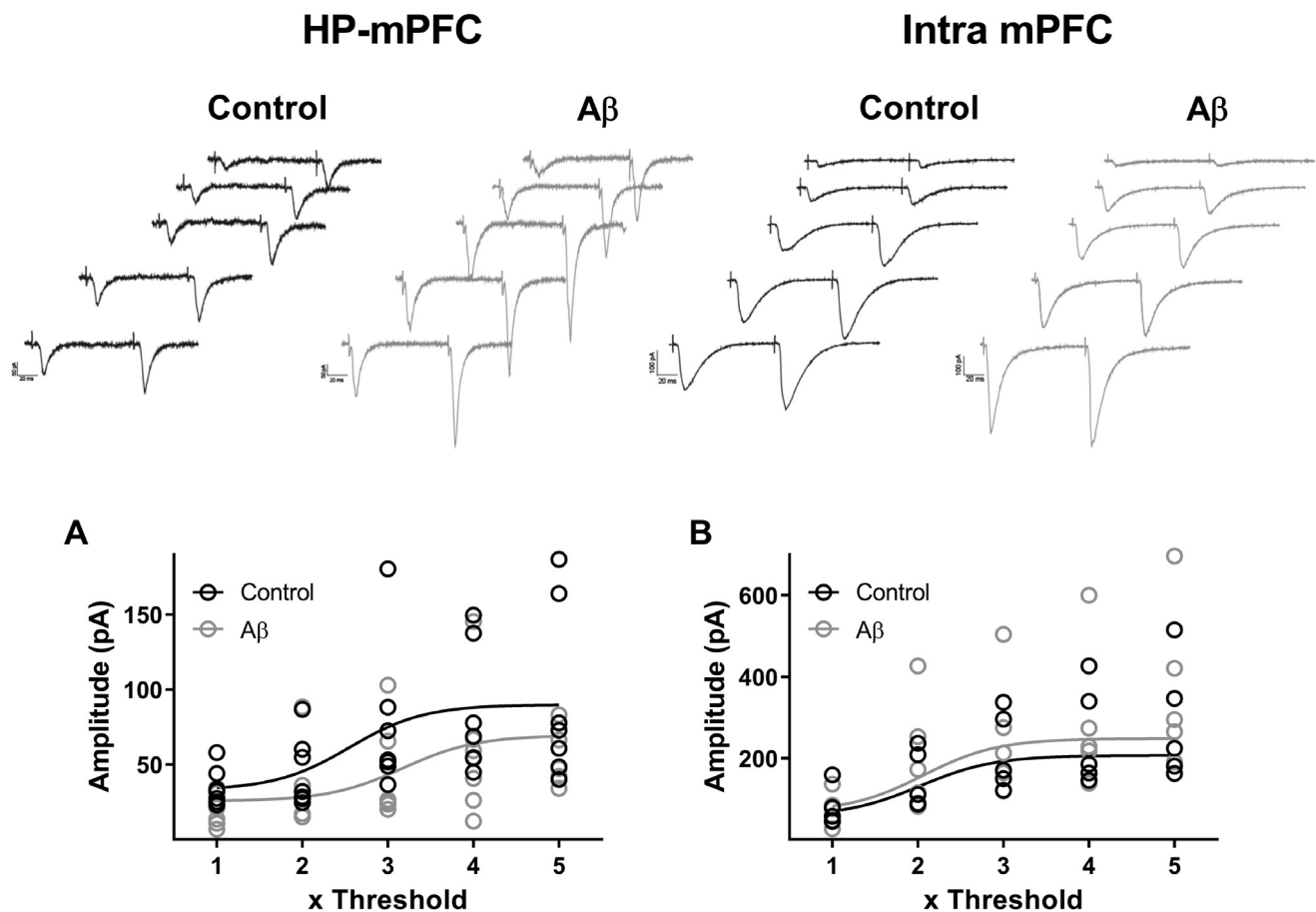


Fig. 10. Local A β application does not affect the evoked excitatory postsynaptic currents (EPSCs) received by mPFC layer V pyramidal cells. Top. Representative traces of EPSCs recorded in mPFC layer V pyramidal cells and evoked by extracellular paired pulses either in the hippocampal bundle (HP-mPFC; left) or in layer I (Intra mPFC; right) for Control (left) and A β (right) rats. (A) EPSCs amplitude as a function of stimulation intensity (in Threshold units) for the HP-mPFC pathway [Mixed model ANOVA, I = F(4, 44) = 13.86, p = 0.001; group (F(1, 11) = 1.21, p = 0.29); I \times group (F(4, 44) = 0.51, p = 0.72), Bonferroni post-hoc]. (B) EPSCs amplitude as a function of stimulation intensity (in Threshold units) for the Intra mPFC pathway [Mixed model ANOVA, I = F(4, 32) = 18.39, p = 0.001; group (F(1, 8) = 0.42, p = 0.53); I \times group (F(4, 32) = 0.49, p = 0.74), Bonferroni post-hoc]. Logarithmic agonist-responses fit to each data group are also presented.

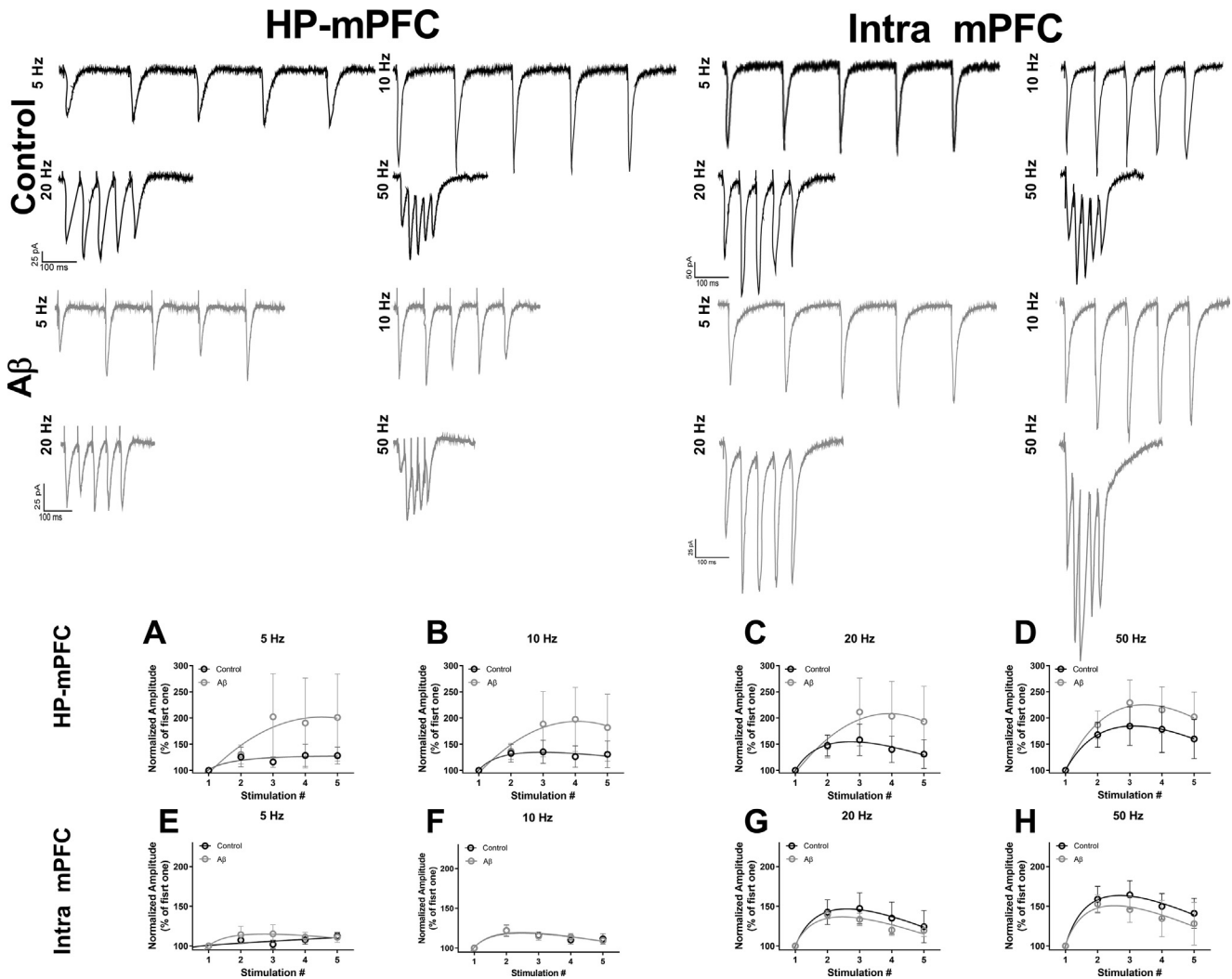


Fig. 11. Local A β application does not affect the short-term plasticity of the evoked EPSCs received by mPFC layer V pyramidal cells. Representative traces of EPSCs recorded in mPFC layer V pyramidal cells and evoked by a train of pulses, at different frequencies, in the hippocampal bundle (HP-mPFC; left) or layer I (Intra mPFC; right) for Control (top) and A β (bottom) rats. The graphs represent the normalized EPSCs amplitude (first EPSC set as 100%) evoked by trains of stimuli at different frequencies in the HP-mPFC pathway of the Control and A β (A–D) groups [Mixed model ANOVA, Frequencies = $F(4,112) = 10.08, p = 0.001$; group ($F(7, 28) = 0.4217, p = 0.88$); Frequencies \times group ($F(28, 112) = 0.47, p = 0.98$, Bonferroni post-hoc), as well as by trains of stimuli at different frequencies in the Intra mPFC pathway of the control and A β (E–H) groups [Mixed model ANOVA, Frequencies = $F(4, 100) = 28.36, p = 0.001$; group ($F(6, 25) = 1.52, p = 0.21$); Frequencies \times group ($F(24, 100) = 1.21, p = 0.24$, Bonferroni post-hoc)]. Hyperbolic binding curves fit to each data group and frequency are also presented. Grouped data are presented as mean \pm SEM.

ations would highly impact patients cognitive functions during AD early stages (Morris & Baddeley, 1988; Kensinger et al., 2003; Klupp et al., 2015).

We also found that global A β administration affects reversal learning, since animals were unable to change from an NMS to an MS rule (Fig. 3C). Studies have shown that CF is affected in Tg2576 APPsw mice, along with other cognitive functions (Zhuo et al., 2008), which is reproduced in APP/PS1-21 mice (Van den Broeck et al., 2019), TgCRND8 mice (Romberg et al., 2013), APPsw mice (Zhuo et al., 2007), APPNL-G-F mice (Latif-Hernandez et al., 2019) and 5XFAD mice (Kim et al., 2021). This alteration in CF correlates with high levels of A β and its degrading enzymes in the PFC (Kim et al., 2021), as well as with changes in PFC functional connectivity with different areas including the hippocampus (Latif-Hernandez et al., 2019). However, as far as

we know, this is the first demonstration that A β directly affects CF which would be the basis of what has been found in AD patients, who exhibit deficits in continuously adapting to changing environments and demands (Mueller et al., 2019; Scheltens et al., 2021).

Here we also found that, without affecting most of the subthreshold properties (Tamagnini et al., 2015), A β -induced alterations in PFC-dependent functions correlated with increased layer V pyramidal cell firing, which resembles the changes in neuronal activity and synchrony induced by the viral induction of intra-PFC A β presence (Koukoulis et al., 2016) or by the bath administration of A β to PFC slices (Gu et al., 2003; Wang et al., 2009; Ren et al., 2018). Our findings coincide with those showing that acute application of A β to mPFC slices increases PFC pyramidal cell excitability (Gu et al., 2003; Wang et al., 2009; Ren et al., 2018) by increasing their input

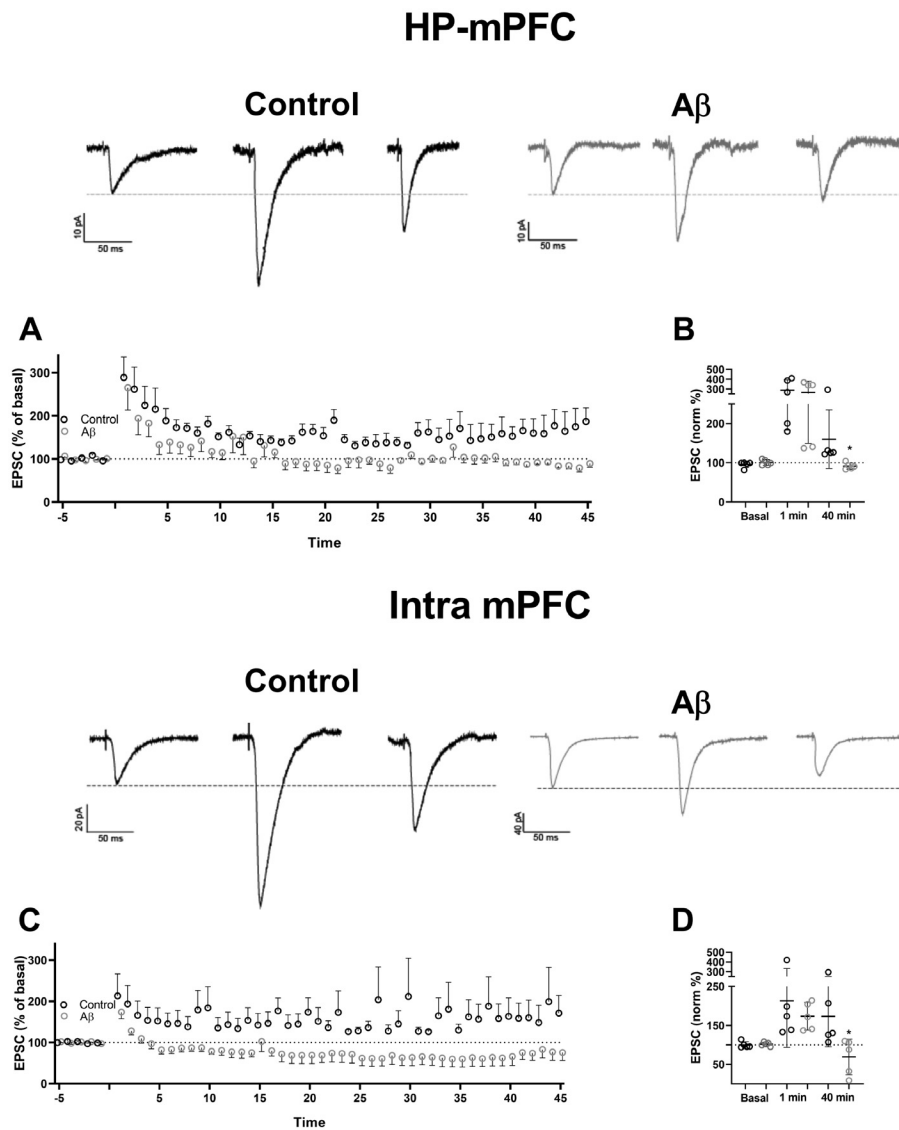


Fig. 12. Local A β application blocks long-term potentiation (LTP) of the evoked EPSCs received by mPFC layer V pyramidal cells. Top. Representative traces of EPSCs evoked in the HP-mPFC pathway during basal conditions (left), after tetanization (middle) and 40 min after tetanization (right) for Control (top) and Local A β (bottom) rats. **(A)** Time-course of normalized (as % of basal) EPSC amplitude before and after tetanization of the HP-mPFC pathway. **(B)** Quantification of normalized (as % of basal) EPSC amplitude immediately after tetanization (1 min) and after 40 min (Mann–Whitney test, $U = 0$, $p = 0.0079$). Bottom. Representative traces of EPSCs evoked in the Intra-mPFC pathway during basal conditions (left), after tetanization (middle) and 40 min after tetanization (right) for Control (top) and Local A β (bottom) rats. **(C)** Time-course of normalized (as % of basal) EPSC amplitude before and after tetanization of the Intra mPFC pathway. **(D)** Quantification of normalized (as % of basal) EPSC amplitude immediately after tetanization (1 min) and after 40 min (Mann–Whitney test, $U = 1$, $p = 0.015$). Grouped data are presented as mean \pm SEM.

resistance (Ren et al., 2018), depolarizing their membrane potential (Gu et al., 2003), reducing their synaptic inhibition (Ren et al., 2018) or increasing their synaptic excitation (Gu et al., 2003). Although we found that chronic A β presence does not change PFC pyramidal cell input resistance, membrane potential or synaptic excitation, we did not test the state of synaptic inhibition in our experimental conditions. The A β -induced increase in PFC pyramidal cell firing found in this study coincides with the hyperexcitability displayed by PFC pyramidal cells in

cognitive-impaired aged animals (Luebke & Amatrudo, 2012) and APPswe/PS1dE9 transgenic mice (Kellner et al., 2014) and with the increased excitability identified in the PFC of AD patients (Joseph et al., 2021). Interestingly, while low doses of A β reduce PFC synchronization (Wang et al., 2009; Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017), high doses of this peptide and its chronic presence switch this effect towards hyperexcitation and hyper-synchronization (Wang et al., 2009) as might be the case in our study. These alterations could explain why A β accumulation in the PFC (Jack et al., 2008; Mori et al., 2014; Mander et al., 2015) is associated with alterations in PFC activity (Klupp et al., 2015; Mander et al., 2015) and excitability (Joseph et al., 2021) in AD patients, which correlate with their cognitive and executive deficits.

The changes in neuronal excitability induced by A β are due to alterations in various ion channels (Haghani et al., 2012; Eslamizade et al., 2015), which may include hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated (HCN) channels, involved in the generation of the hyperpolarization-activated current (I_h) and the sag membrane potential (Eslamizade et al., 2015; Haghani et al., 2012; Peña-Ortega et al., 2006). Indeed, here we found that A β increases the sag potential in PFC pyramidal neurons, which is very similar to what has been found in pyramidal neurons in the hippocampus after intra-PFC administration of A β (Haghani et al., 2012; Eslamizade et al., 2015). This change in sag potential correlates with the A β -induced increase in I_h (Eslamizade et al., 2015) and in the expression of HCN channels (Eslamizade et al., 2015). Interestingly, HCN channels contribute to the stereotypical intrinsic persistent firing of PFC pyramidal cells during WM (Wang et al., 2007; Gamo et al., 2015) and its blockade or knockdown in the PFC improves WM performance (Wang et al., 2007) and prevents the impairment of WM induced by stress or D1R stimulation (Gamo et al., 2015), which could very well be useful against A β -induced WM impairment. We also found that A β increases the AHPf in PFC pyramidal cells, which is similar to the increase in AHP during acute A β perfusion in

PFC slices (Wang et al., 2009) or in hippocampal pyramidal cells after intra-PFC A β administration (Haghani et al., 2012), correlating with variable effects on cell excitability (Haghani et al., 2012; Wang et al., 2009). Although we found that A β -induced increase in AHP coexists with elevated cell excitability (Wang et al., 2009), the opposite scenario can also be found, since an increase in AHP, also induced by A β , can coexist with decreased cell excitability (Haghani et al., 2012). Thus, increased AHP does not always coincide with increased excitability (Wang et al., 2009; Haghani et al., 2012) but produces diverse effects on excitability even in identical experimental conditions (Wang et al., 2009). Nevertheless, an increase in AHP has been found in PFC pyramidal cells of aged monkeys exhibiting cognitive impairment in delayed non-match-to-sample behavioral tasks, which correlates with increased firing rates, as observed in our experimental conditions (Luebke & Amatruedo, 2012). Moreover, blockade of ionic currents involved in AHP generation (i.e. with apamin), in the PFC, enhances WM performance in rats (Brennan et al., 2008), which could be useful against A β -induced WM impairment.

Although A β did not affect PFC basal synaptic transmission and short-term plasticity under our experimental conditions, we found a major effect on long-term plasticity. It has been extensively shown that the effects of A β on synaptic transmission are variable and depend on the specific synapses being tested (Roder et al., 2003; Wang et al., 2009; Peña-Ortega & Bernal-Pedraza, 2012; Salgado-Puga et al., 2015). However, our findings coincide with those obtained in APP23 mice that show no major changes in synaptic transmission and short-term plasticity in the PFC (Roder et al., 2003) or with the lack of change in short-term plasticity observed in APPNL-G-F mice (Latif-Hernandez et al., 2019) or after bath application of A β to PFC slices (Flores-Martínez & Peña-Ortega, 2017). In contrast, we found a consistent reduction of LTP, that turns into LTD, in different inputs to the PFC after the chronic presence of A β which, to the best of our knowledge, is the first demonstration that chronic A β alters long-term plasticity in the PFC. This finding contrasts with variable effects on LTP after bath application of A β to PFC slices (Wang et al., 2013) or with the intact LTP observed in the PFC of APP23 transgenic mice (Roder et al., 2003; also see Lok et al., 2013). Interestingly, our findings coincide with the deficits in plasticity of the PFC measured as potentiation of cortical-evoked activity using paired associative stimulation in AD patients compared with controls (Kumar et al., 2019). In other circuits (i.e., the hippocampus) A β not just depressed LTP induction (for a review see Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015), but switched LTP into LTD (Mayordomo-Cava et al., 2020; Sánchez-Rodríguez et al., 2017, 2020), which could be due to A β -induced changes in the threshold for LTP/LTD induction (Mayordomo-Cava et al., 2020; Sánchez-Rodríguez et al., 2017, 2020). Thus, A β might be altering the cellular and network mechanisms involved in different types of long-term plasticity and their balance (Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015), which has been extensively related to memory deficits (for a review see Salgado-Puga &

Peña-Ortega, 2015) and also switching the threshold for the induction of LTP and or LTD, disrupting the metaplastic properties of neural networks required for proper reconfiguration during memory processing and leading to cognitive decline (Mayordomo-Cava et al., 2020; Salgado-Puga & Peña-Ortega, 2015; Sánchez-Rodríguez et al., 2017, 2020). Thus, along with the changes in PFC pyramidal cell excitability, we suggest that these alterations in synaptic plasticity induced by A β could represent the foundations of the executive function deficits observed in AD patients. Thus, preventing these functional alterations could become a potential avenue to treat this disease.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Dr. Deisy Gasca for her help in the behavioral analysis, Nydia Hernández Ríos for her help in image acquisition, Dr. Benito Ordaz for technical help and Jessica González for editing the manuscript. Mayra Itzel Torres-Flores is a doctoral student at the Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) and received a fellowship from CONACyT (I.D. 629550). This work was supported by Dirección General de Asuntos del Personal Académico UNAM (Grant IG200521) and CONACyT (A1-S-7540). Figures 1 & 2 were created in Biorender.

REFERENCES

- Abd-Elrahman KS, Albaker A, de Souza JM, Ribeiro FM, Schlossmacher MG, Tiberi M, Hamilton A, Ferguson SSG (2020) A β oligomers induce pathophysiological mGluR5 signaling in Alzheimer's disease model mice in a sex-selective manner. *Sci Signaling* 13(662). <https://doi.org/10.1126/scisignal.abd2494>.
- Alcantara-Gonzalez D, Villasana-Salazar B, Peña-Ortega F (2019) Single amyloid-beta injection exacerbates 4-aminopyridine-induced seizures and changes synaptic coupling in the hippocampus. *Hippocampus* 29(12):1150–1164. <https://doi.org/10.1002/hipo.23129>.
- Alvarado-Martínez R, Salgado-Puga K, Peña-Ortega F, Ravel N (2013) Amyloid Beta Inhibits Olfactory Bulb Activity and the Ability to Smell. *PLoS ONE* 8(9):e75745. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075745>.
- Armenta-Resendiz M, Cruz SL, Galván EJ (2018) Repeated toluene exposure increases the excitability of layer 5 pyramidal neurons in the prefrontal cortex of adolescent rats. *Neurotoxicol Teratol* 68:27–35. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2018.04.006>.
- Balleza-Tapia H, Huanosta-Gutiérrez H, Marquez-Ramos A, Arias H (2010) Amyloid beta oligomers decrease hippocampal spontaneous network activity in an age-dependent manner. *Current Alzheimer Res* 7(5):453–462. <https://doi.org/10.2174/156720510791383859>.
- Bischofberger J, Engel D, Li L, Geiger JRP, Jonas P (2006) Patch-clamp recording from mossy fiber terminals in hippocampal slices. *Nat Protoc* 1(4):2075–2081. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.312>.
- Bizon JL, Foster TC, Alexander GE, Glisky EL (2012) Characterizing cognitive aging of working memory and executive function in animal models. *Front Aging Neurosci* 4:1–14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2012.00019>.
- Bories C, Guitton MJ, Julien C, Tremblay C, Vandal M, Msaid M, De Koninck Y, Calon F, Borchelt DR (2012) Sex-Dependent Alterations in Social Behaviour and Cortical Synaptic Activity Coincide at Different Ages in a Model of Alzheimer's Disease.

- PLoS ONE 7(9):e46111. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046111>.
- Brennan AR, Dolinsky B, Vu MAT, Stanley M, Yeckel MF, Arnsten AFT (2008) Blockade of IP3-mediated SK channel signaling in the rat medial prefrontal cortex improves spatial working memory. *Learn Mem* 15(3):93–96. <https://doi.org/10.1101/LM.767408>.
- Brown JT, Richardson JC, Collingridge GL, Randall AD, Davies CH (2005) Synaptic transmission and synchronous activity is disrupted in hippocampal slices taken from aged TAS10 mice. *Hippocampus* 15(1):110–117. <https://doi.org/10.1002/hipo.20036>.
- Chen G-J, Xiong Z, Yan Z (2013) A β impairs nicotinic regulation of inhibitory synaptic transmission and interneuron excitability in prefrontal cortex. *Mol Neurodegener* 8(1):3. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-3>.
- Dalley JW, Cardinal RN, Robbins TW (2004) Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: Neural and neurochemical substrates. *Neurosci Biobehav Rev* 28(7):771–784. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.006>.
- Davies C, Mann D, Sumpter P, Yates P (1987) A quantitative morphometric analysis of the neuronal and synaptic content of the frontal and temporal cortex in patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 78(2):151–164. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(87\)90057-8](https://doi.org/10.1016/0022-510X(87)90057-8).
- Deacon RMJ, Rawlins JNP (2006) T-maze alternation in the rodent. *Nat Protoc* 1(1):7–12. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.2>.
- Debanne D, Guéroux NC, Gähwiler BH, Thompson SM (1996) Paired-pulse facilitation and depression at unitary synapses in rat hippocampus: quantal fluctuation affects subsequent release. *J Physiol* 491(1):163–176. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021204>.
- Dudchenko PA (2004) An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 28(7):699–709. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.002>.
- Eslamizade MJ, Saffarzadeh F, Mousavi SMM, Meftahi GH, Hosseinmardi N, Mehdizadeh M, Janahmadi M (2015) Alterations in CA1 pyramidal neuronal intrinsic excitability mediated by Ih channel currents in a rat model of amyloid beta pathology. *Neuroscience* 305:279–292. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.07.087>.
- Faucher P, Mons N, Micheau J, Louis C, Beracochea DJ (2016) Hippocampal injections of oligomeric amyloid β -peptide (1–42) induce selective working memory deficits and long-lasting alterations of ERK signaling pathway. *Front Aging Neurosci* 7:1–15. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00245>.
- Flores-Martínez E, Peña-Ortega F (2017) Amyloid A β Peptide-Induced Changes in Prefrontal Cortex Activity and Its Response to Hippocampal Input. *International Journal of Peptides* 2017:1–9. <https://doi.org/10.1155/2017/7386809>.
- Fukuda T, Sato Y, Takiguchi M, Yamamoto T, Murasawa H, Pawlak A, Kobayashi H, Tamano H, Takeda A (2020) Dehydroeffusol Rescues Amyloid β 25–35-Induced Spatial Working Memory Deficit. *Plant Foods Hum Nutr* (Dordrecht, Netherlands) 75(2):279–282. <https://doi.org/10.1007/S11130-020-00816-0>.
- Fuster JM (2001) The prefrontal cortex—an update: time is of the essence. *Neuron* 30(2):319–333. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00285-9](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00285-9).
- Gabbiani F, Krapp HG (2006) Spike-Frequency Adaptation and Intrinsic Properties of an Identified, Looming-Sensitive Neuron. *J Neurophysiol* 96(6):2951–2962. <https://doi.org/10.1152/jn.00075.2006>.
- Gamo NJ, Lur G, Higley MJ, Wang M, Paspalas CD, Vijayraghavan S, Yang Y, Ramos BP, Peng K, Kata A, Boven L, Lin F, Roman L, Lee D, Arnsten AFT (2015) Stress Impairs Prefrontal Cortical Function via D1 Dopamine Receptor Interactions With Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-Gated Channels. *Biol Psychiatry* 78(12):860–870. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.01.009>.
- Gannon OJ, Robison LS, Salinero AE, Abi-Ghanem C, Mansour FM, Kelly RD, Tyagi A, Brawley RR, Ogg JD, Zuloaga KL (2022) High-fat diet exacerbates cognitive decline in mouse models of Alzheimer's disease and mixed dementia in a sex-dependent manner. *J Neuroinflamm* 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02466-2>.
- Goto Y, Yang CR, Otani S (2010) Functional and Dysfunctional Synaptic Plasticity in Prefrontal Cortex: Roles in Psychiatric Disorders. *Biol Psychiatry* 67(3):199–207. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.08.026>.
- Gu Z, Zhong P, Yan Z (2003) Activation of muscarinic receptors inhibits beta-amyloid peptide-induced signaling in cortical slices. *J Biol Chem* 278(19):17546–17556. <https://doi.org/10.1074/JBC.M209892200>.
- Haghani M, Shabani M, Javan M, Motamedi F, Janahmadi M (2012) CB1 Cannabinoid Receptor Activation Rescues Amyloid-Induced Alterations in Behaviour and Intrinsic Electrophysiological Properties of Rat Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons. *Cell Physiol Biochem* 29. <https://doi.org/10.1159/000338494>.
- Hernández-Soto R, Rojas-García KD, Peña-Ortega F (2019) Sudden Intrabulbar Amyloid Increase Simultaneously Disrupts Olfactory Bulb Oscillations and Odor Detection. *Neural Plast.* 2019:3424906. <https://doi.org/10.1155/2019/3424906>.
- Herry C, Garcia R (2002) Prefrontal cortex long-term potentiation, but not long-term depression, is associated with the maintenance of extinction of learned fear in mice. *J Neurosci* 22(2):577–583. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-02-00577.2002>.
- Hruska Z, Dohanich GP (2007) The effects of chronic estradiol treatment on working memory deficits induced by combined infusion of β -amyloid (1–42) and ibotenic acid. *Horm Behav* 52(3):297–306. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.05.010>.
- Hsieh H, Boehm J, Sato C, Iwatsubo T, Tomita T, Sisodia S, Malinow R (2006) AMPAR Removal Underlies A β -Induced Synaptic Depression and Dendritic Spine Loss. *Neuron* 52(5):831–843. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2006.10.035>.
- Hulshof LA, Frajmund LA, van Nuijs D, van der Heijden DCN, Middeldorp J, Hol EM (2022) Both male and female APPsw/PSEN1dE9 mice are impaired in spatial memory and cognitive flexibility at 9 months of age. *Neurobiol Aging* 113:28–38. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2021.12.009>.
- Jack CR, Bernstein MA, Fox NC, Thompson P, Alexander G, Harvey D, Borowski B, Britson PJ, Whitwell JL, Ward C, Dale AM, Felmlee JP, Gunter JL, Hill DLG, Killiany R, Schuff N, Fox-Bosetti S, Lin C, Studholme C, DeCarli CS, Krueger G, Ward HA, Metzger GJ, Scott KT, Mallozzi R, Blezek D, Levy J, Debbins JP, Fleisher AS, Albert M, Green R, Bartzokis G, Glover G, Mugler J, Weiner MW (2008) The Alzheimer's disease neuroimaging initiative (ADNI): MRI methods. *J Magn Reson Imaging* 27(4):685–691. <https://doi.org/10.1002/jmri.21049>.
- Jin J, Maren S (2015) Prefrontal-Hippocampal Interactions in Memory and Emotion. *Front Syst Neurosci* 9:170. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00170>.
- Jordá JF, Ayala-Grosso CA, Markham K, Huang Y, Chopra R, Mclaurin J, Hynynen K, Aubert I, Khoury J El (2010) Antibodies Targeted to the Brain with Image-Guided Focused Ultrasound Reduces Amyloid-b Plaque Load in the TgCRND8 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *PLoS One* 5(5):e10549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010549>.
- Joseph S, Knezevic D, Zomorrodí R, Blumberger DM, Daskalakis ZJ, Mulsant BH, Pollock BG, Voineskos A, Wang W, Rajji TK, Kumar S (2021) Dorsolateral prefrontal cortex excitability abnormalities in Alzheimer's Dementia: Findings from transcranial magnetic stimulation and electroencephalography study. *Int J Psychophysiol* 169:55–62. <https://doi.org/10.1016/J.IJPSYCHO.2021.08.008>.
- Kalpourzos G, Eustache F, Sayette V, Viader F, Chételat G, Desgranges B (2005) Working memory and FDG-PET dissociate early and late onset Alzheimer disease patients. *J Neurol* 252(5):548–558. <https://doi.org/10.1007/s00415-005-0685-3>.
- Kellner V, Menkes-Caspi N, Beker S, Stern EA (2014) Amyloid- β alters ongoing neuronal activity and excitability in the frontal cortex. *Neurobiol Aging* 35(9):1982–1991. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2014.04.001>.

- Kensinger EA, Shearer DK, Locascio JJ, Growdon JH, Corkin S (2003) Working memory in mild Alzheimer's disease and early Parkinson's disease. *Neuropsychology* 17(2):230–239. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.17.2.230>.
- Kim M-S, Bang J, Kim B-Y, Jeon WK, Anderson RM (2021) Impaired Cognitive Flexibility Induced by Chronic Cerebral Hypoperfusion in the 5XFAD Transgenic Mouse Model of Mixed Dementia. *J Gerontol Ser A: Biol Sci Med Sci* 76(7):1169–1178. <https://doi.org/10.1093/gerona/glab075>.
- Klupp E, Grimmer T, Tahmasian M, Sorg C, Yakushev I, Yousefi BH, Drzezga A, Förster S (2015) Prefrontal Hypometabolism in Alzheimer Disease Is Related to Longitudinal Amyloid Accumulation in Remote Brain Regions. *J Nucl Med* 56(3):399–404. <https://doi.org/10.2967/jnumed.114.149302>.
- Koukoulis F, Rooy M, Maskos U (2016) Early and progressive deficit of neuronal activity patterns in a model of local amyloid pathology in mouse prefrontal cortex. *Aging (Albany NY)* 8(12):3430. <https://doi.org/10.18632/aging.101136>.
- Křištofiková Z, Řičný J, Kozmíková I, Řířpová D, Zach P, Klaschka J (2006) Sex-dependent actions of amyloid beta peptides on hippocampal choline carriers of postnatal rats. *Neurochem Res* 31(3):351–360. <https://doi.org/10.1007/S11064-005-9026-2>.
- Kumar A, Migliore S, Sollievo C, Sofferenza D, Kandimalla R, Guarino A, Casagrande M, Favieri F, Boncompagni I, Agostini F, Cantone M (2019) Executive Functions in Alzheimer Disease: A Systematic Review. *Front Aging Neurosci* 1:437. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00437>.
- Kurudenkandy R, Zilberter M, Biverstål H, Presto J, Honcharenko D, Strömberg R, Johansson J, Winblad B, Fisahn A (2014) Amyloid-Induced Action Potential Desynchronization and Degradation of Hippocampal Gamma Oscillations Is Prevented by Interference with Peptide Conformation Change and Aggregation. *J Neurosci* 34(34):11416–11425. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1195-14.2014>.
- Lara-Valderrábano L, Galván EJ, Rocha L (2017) Propylparaben suppresses epileptiform activity in hippocampal CA1 pyramidal cells in vitro. *Epilepsy Res* 136:126–129. <https://doi.org/10.1016/J.EPLEPSYRES.2017.08.006>.
- Latif-Hernandez A, Shah D, Craessaerts K, Saido T, Saito T, De Strooper B, Van der Linden A, D'Hooge R (2019) Subtle behavioral changes and increased prefrontal-hippocampal network synchronicity in APP NL–G–F mice before prominent plaque deposition. *Behav Brain Res* 364:431–441. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.11.017>.
- Lecordier S, Pons V, Rivest S, Elali A, McBride DW, Gu BJ (2022) Multifocal Cerebral Microinfarcts Modulate Early Alzheimer's Disease Pathology in a Sex-Dependent Manner. *Front Immunol* 12:813536. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.813536>.
- Liu P, Jing Y, Collie ND, Campbell SA, Zhang H (2011) Pre-aggregated A β 25–35 alters arginine metabolism in the rat hippocampus and prefrontal cortex. *Neuroscience* 193:269–282. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.07.054>.
- Lok K, Zhao H, Shen H, Wang Z, Gao X, Zhao W, Yin M (2013) Characterization of the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease in senescence accelerated background. *Neurosci Lett* 557(PB):84–89. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2013.10.051>.
- Luebke JI, Amatrudo JM (2012) Age-related increase of sl(AHP) in prefrontal pyramidal cells of monkeys: relationship to cognition. *Neurobiol Aging* 33(6):1085–1095. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2010.07.002>.
- Mander BA, Marks SM, Vogel JW, Rao V, Lu B, Saletin JM, Ancoli-Israel S, Jagust WJ, Walker MP (2015) Beta amyloid disrupts human NREM slow waves and related hippocampus-dependent memory consolidation. *Nat Neurosci* 18. <https://doi.org/10.1038/nn.4035>.
- Martínez-García I, Hernández-Soto R, Villasana-Salazar B, Ordaz B, Peña-Ortega F (2021) Alterations in Piriform and Bulbar Activity/Excitability/Coupling Upon Amyloid- β Administration in vivo Related to Olfactory Dysfunction. *J Alzheimer's Dis* 82(s1):S19–S35. <https://doi.org/10.3233/JAD-201392>.
- Mayordomo-Cava J, Iborra-Lázaro G, Djebbari S, Temprano-Carazo S, Sánchez-Rodríguez I, Jeremic D, Gruart A, María Delgado-García J, Jiménez-Díaz L, Navarro-López JD (2020) Impairments of Synaptic Plasticity Induction Threshold and Network Oscillatory Activity in the Hippocampus Underlie Memory Deficits in a Non-Transgenic Mouse Model of Amyloidosis. *Biology (Basel)* 9(7):175. <https://doi.org/10.3390/biology9070175>.
- Méndez-Salcido FA, Torres-Flores MI, Ordaz B, Peña-Ortega F (2022) Abnormal innate and learned behavior induced by neuron-microglia miscommunication is related to CA3 reconfiguration. *Glia* 70(9):1630–1651. <https://doi.org/10.1002/glia.24185>.
- Miller EK, Cohen JD (2001) An Integrative Theory of Prefrontal Cortex Function. *Annu Rev Neurosci* 24(1):167–202. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.167>.
- Mondragón-Rodríguez S, Salas Gallardo A, González Pereyra P, Macías M, Ordaz B, Peña Ortega F, Aguilar Vázquez A, Orta Salazar E, Díaz Cintra S, Perry G, Williams S (2018) Phosphorylation of Tau protein correlates with changes in hippocampal theta oscillations and reduces hippocampal excitability in Alzheimer's model. *J Biol Chem* 293(22):8462–8472. <https://doi.org/10.1074/JBC.RA117.001187>.
- Mori T, Shimada H, Shinotoh H, Hirano S, Eguchi Y, Yamada M, Fukuhara R, Tanimukai S, Zhang M-R, Kuwabara S, Ueno S-I, Suhara T (2014) Apathy correlates with prefrontal amyloid β deposition in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 85:449–455. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2013-306110>.
- Morris RG, Baddeley AD (1988) Primary and working memory functioning in Alzheimer-type dementia. *J Clin Exp Neuropsychol* 10(2):279–296. <https://doi.org/10.1080/01688638808408242>.
- Mueller SM, Arias MG, Mejuto Vázquez G, Schiebener J, Brand M, Wegmann E (2019) Decision support in patients with mild Alzheimer's disease. *J Clin Exp Neuropsychol* 41(5):484–496. <https://doi.org/10.1080/13803395.2019.1585517>.
- Navakkode S, Gaunt JR, Pavon MV, Bansal VA, Abraham RP, Chong YS, Ch'ng TH, Sajikumar S (2021) Sex-specific accelerated decay in time/activity-dependent plasticity and associative memory in an animal model of Alzheimer's disease. *Aging Cell* 20(12). <https://doi.org/10.1111/acer.13502>.
- Orta-Salazar E, Feria-Velasco AI, Díaz-Cintra S (2019) Primary motor cortex alterations in Alzheimer disease: a study in the 3xTg-AD model. *Neurologia* 34(7):429–436. <https://doi.org/10.1016/J.NRLENG.2019.02.001>.
- Owlett LD, Karaahmet B, Le L, Belcher EK, Dionisio-Santos D, Olschowka JA, Elliott MR, O'Banion MK (2022) Gas6 induces inflammation and reduces plaque burden but worsens behavior in a sex-dependent manner in the APP/PS1 model of Alzheimer's disease. *J Neuroinflamm* 19(1):1–17. <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02397-y>.
- Parent MA, Wang L, Su J, Netoff T, Yuan LL (2010) Identification of the hippocampal input to medial prefrontal cortex in vitro. *Cereb Cortex* 20(2):393–403. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp108>.
- Paxinos G, Watson C (2009) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. London: Academic Press.
- Pedigo SF, Song EY, Jung MW, Kim JJ (2006) A computer vision-based automated Figure-8 maze for working memory test in rodents. *J Neurosci Methods* 156(1–2):10–16. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2006.01.029>.
- Peña-Ortega F, Bernal-Pedraza R (2012) Amyloid Beta Peptide slows down sensory-induced hippocampal oscillations. *Int J Peptides* 2012:1–8. <https://doi.org/10.1155/2012/236289>.
- Peña-Ortega F, Gutierrez-Lerma A, Quiroz-Baez R, Arias C (2006) The Role of β -Amyloid Protein in Synaptic Function: Implications for Alzheimer's Disease Therapy. *Curr Neuropharmacol* 4(2):149. <https://doi.org/10.2174/157015906776359531>.
- Peña-Ortega F, Ordaz B, Balleza-Tapia H, Bernal-Pedraza R, Márquez-Ramos A, Carmona-Aparicio L, Giordano M (2010) Beta-amyloid protein (25–35) disrupts hippocampal network activity: Role of Fyn-kinase. *Hippocampus* 20(1):78–96. <https://doi.org/10.1002/hipo.20592>.

- Pervolaraki E, Hall SP, Foresteire D, Saito T, Saido TC, Whittington MA, Lever C, Dachter J (2019) Insoluble A β overexpression in an App knock-in mouse model alters microstructure and gamma oscillations in the prefrontal cortex, affecting anxiety-related behaviours. *Dis Models Mech* 12. <https://doi.org/10.1242/dmm.040550>.
- 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, Cai H (2011) Abnormal Cognition, Sleep, EEG and Brain Metabolism in a Novel Knock-In Alzheimer Mouse, PLB1. *PLoS ONE* 6(11):e27068. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027068>.
- Poirel O, Mella S, Videau C, Ramet L, Davoli MA, Herzog E, Katsel P, Mechawar N, Haroutunian V, Epelbaum J, Daumas S, Mestikawy SE (2018) Moderate decline in select synaptic markers in the prefrontal cortex (BA9) of patients with Alzheimer's disease at various cognitive stages OPEN. *Sci Rep* 8:938. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19154-y>.
- Pousinha PA, Mouska X, Bianchi D, Temido-Ferreira M, Rajão-Saraiva J, Gomes R, Fernandez SP, Salgueiro-Pereira AR, Gandin C, Raymond EF, Barik J, Goutagny R, Bethus I, Lopes LV, Migliore M, Marie H (2019) The Amyloid Precursor Protein C-Terminal Domain Alters CA1 Neuron Firing, Modifying Hippocampus Oscillations and Impairing Spatial Memory Encoding. *Cell Rep* 29(2):317–331.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.08.103>.
- Proulx É, Fraser P, McLaurin J, Lambe EK (2015) Impaired Cholinergic Excitation of Prefrontal Attention Circuitry in the TgCRND8 Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci* 35(37):12779–12791. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4501-14.2015>.
- Regitz-Zagrosek V (2012) Sex and gender differences in health: Science & Society Series on Sex and Science. *EMBO Rep* 13(7):596–603. <https://doi.org/10.1038/embor.2012.87>.
- Ren S, Yao W, Yan J, Jin C, Yin J, Yuan J, Yu S (2018) Amyloid β causes excitation / inhibition imbalance through dopamine receptor 1-dependent disruption of fast-spiking GABAergic input in anterior cingulate cortex. *Sci Rep* 8(302):1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18729-5>.
- Roder S, Danober L, Pozza MF, Lingenhoehl K, Wiederhold KH, Olpe HR (2003) Electrophysiological studies on the hippocampus and prefrontal cortex assessing the effects of amyloidosis in amyloid precursor protein 23 transgenic mice. *Neuroscience* 120(3):705–720. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(03\)00381-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00381-6).
- Romberg C, Horner AE, Bussey TJ, Saksida LM (2013) A touch screen-automated cognitive test battery reveals impaired attention, memory abnormalities, and increased response inhibition in the TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 34(3):731–744. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.08.006>.
- Salgado-Puga K, Peña-Ortega F (2015) Cellular and network mechanisms underlying memory impairment induced by amyloid β protein. *Protein Pept Lett* 22(4):303–321. <https://doi.org/10.2174/0929866522666150202112154>.
- Salgado-Puga K, Prado-Alcalá RA, Peña-Ortega F (2015) Amyloid β Enhances Typical Rodent Behavior While It Impairs Contextual Memory Consolidation. *Behav Neurol* 2015:1–12. <https://doi.org/10.1155/2015/526912>.
- Salgado-Puga K, Rodríguez-Colorado J, Prado-Alcalá RA, Peña-Ortega F (2017) Subclinical Doses of ATP-Sensitive Potassium Channel Modulators Prevent Alterations in Memory and Synaptic Plasticity Induced by Amyloid- β . *Journal of Alzheimer's Disease* 57(1):205–226. <https://doi.org/10.3233/JAD-160543>.
- Sánchez-Rodríguez I, Djebari S, Temprano-Carazo S, Vega-Avelaira D, Jiménez-Herrera R, Iborra-Lázaro G, Yajeya J, Jiménez-Díaz L, Navarro-López JD (2020) Hippocampal long-term synaptic depression and memory deficits induced in early amyloidopathy are prevented by enhancing G-protein-gated inwardly rectifying potassium channel activity. *J Neurochem* 153(3):362–376. <https://doi.org/10.1111/jnc.14946>.
- Sánchez-Rodríguez I, Temprano-Carazo S, Nájera A, Djebari S, Yajeya J, Gruart A, Delgado-García JM, Jiménez-Díaz L, Navarro-López JD (2017) Activation of G-protein-gated inwardly rectifying potassium (Kir3/GirK) channels rescues hippocampal functions in a mouse model of early amyloid- β pathology. *Sci Rep* 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15306-8>.
- Schaeffers A, Winter Y (2011) Rapid task acquisition of spatial-delayed alternation in an automated T-maze by mice. *Behav Brain Res* 225(1):56–62. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.06.032>.
- Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, Holstege H, Chételat G, Teunissen CE, Cummings J, van der Flier WM (2021) Alzheimer's disease. *The Lancet* 397(10284):1577–1590. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32205-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32205-4).
- Schmid S, Rammes G, Blobner M, Kellermann K, Bratke S, Fendl D, Kaichuan Z, Schneider G, Jungwirth B (2019) Cognitive decline in Tg2576 mice shows sex-specific differences and correlates with cerebral amyloid-beta. *Behav Brain Res* 359:408–417. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.11.022>.
- Schmidt B, Duin AA, Redish AD (2019) Disrupting the medial prefrontal cortex alters hippocampal sequences during deliberative decision making. *J Neurophysiol* 121(6):1981–2000. <https://doi.org/10.1152/jn.00793.2018>.
- Shah D, Latif-Hernandez A, De Strooper B, Saito T, Saido T, Verhoye M, D'Hooge R, Van der Linden A (2018) Spatial reversal learning defect coincides with hypersynchronous telencephalic BOLD functional connectivity in APP NL-F/NL-F knock-in mice OPEN. *Sci Rep* 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24657-9>.
- Stepanichev MY, Moiseeva YV, Lazareva NA, Onufriev MV, Gulyaeva NV (2003) Single intracerebroventricular administration of amyloid-beta (25–35) peptide induces impairment in short-term rather than long-term memory in rats. *Brain Res Bull* 61(2):197–205. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(03\)00118-7](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(03)00118-7).
- Tamagnini F, Scullion S, Brown JT, Randall AD (2015) Intrinsic excitability changes induced by acute treatment of hippocampal CA1 pyramidal neurons with exogenous amyloid β peptide. *Hippocampus* 25(7):786–797. <https://doi.org/10.1002/hipo.22403>.
- Tyszkiewicz JP, Yan Z (2005) β -Amyloid Peptides Impair PKC-Dependent Functions of Metabotropic Glutamate Receptors in Prefrontal Cortical Neurons. *J Neurophysiol* 93(6):3102–3111. <https://doi.org/10.1152/JN.00939.2004>.
- Van den Broeck L, Hansquin P, Callaerts-Vegh Z, D'Hooge R (2019) Impaired Reversal Learning in APPS1-21 Mice in the Touchscreen Visual Discrimination Task. *Front Behav Neurosci* 92. <https://doi.org/10.3389/FNBEH.2019.00092>.
- van Heusden FC, Palacín i Bonsón S, Stiedl O, Smit AB, van Kesteren RE (2021) Longitudinal Assessment of Working Memory Performance in the APPswe/PSEN1dE9 Mouse Model of Alzheimer's Disease Using an Automated Figure-8-Maze. *Front Behav Neurosci* 15. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.655449>.
- Vargas-Barroso V, Ordaz-Sánchez B, Peña-Ortega F, Larriba-Sahd JA (2016) Electrophysiological Evidence for a Direct Link between the Main and Accessory Olfactory Bulbs in the Adult Rat. *Front Neurosci* 9:518. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00518>.
- Villanueva-Castillo C, Tecuatl C, Herrera-López G, Galván EJ (2017) Aging-related impairments of hippocampal mossy fibers synapses on CA3 pyramidal cells. *Neurobiol Aging* 49:119–137. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.09.010>.
- Viña J, Lloret A, Zhu X, Beal MF, Wang X, Perry G, Smith MA (2010) Why Women Have More Alzheimer's Disease Than Men: Gender and Mitochondrial Toxicity of Amyloid- β Peptide. *J Alzheimer's Dis* 20(s2):S527–S533. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-100501>.
- Wang DD, Li J, Yu LP, Wu MN, Sun LN, Qi JS (2016) Desipramine improves depression-like behavior and working memory by up-regulating p-CREB in Alzheimer's disease associated mice. *J Integr Neurosci* 15(2):247–260. <https://doi.org/10.1142/S021963521650014X>.
- Wang M, Ramos BP, Paspalas CD, Shu Y, Simen A, Duque A, Vijayraghavan S, Brennan A, Dudley A, Nou E, Mazer JA, McCormick DA, Arnsten AFT (2007) α 2A-Adrenoceptors

- Strengthen Working Memory Networks by Inhibiting cAMP-HCN Channel Signaling in Prefrontal Cortex. *Cell* 129(2):397–410. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2007.03.015>.
- Wang Y, Zhang G, Zhou H, Barakat A, Querfurth H (2009) Opposite effects of low and high doses of A β 1-42 on electrical network and neuronal excitability in the rat prefrontal cortex. *PLoS ONE* 4(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008366>.
- Wang Y, Zhou TH, Zhi Z, Barakat A, Hlatky L, Querfurth H (2013) Multiple effects of β -amyloid on single excitatory synaptic connections in the PFC. *Front Cell Neurosci*:129. <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2013.00129>.
- Winter S, Dieckmann M, Schwabe K (2009) Dopamine in the prefrontal cortex regulates rats behavioral flexibility to changing reward value. *Behav Brain Res* 198(1):206–213. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.10.040>.
- Wu XB, Liang B, Gao YJ (2016) The increase of intrinsic excitability of layer V pyramidal cells in the prelimbic medial prefrontal cortex of adult mice after peripheral inflammation. *Neurosci Lett* 611:40–45. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.11.030>.
- Xu W, Fitzgerald S, Nixon RA, Levy E, Wilson DA (2015) Early hyperactivity in lateral entorhinal cortex is associated with elevated levels of A β PP metabolites in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Exp Neurol* 264:82–91. <https://doi.org/10.1016/J.EXPNEUROL.2014.12.008>.
- Yoon T, Okada J, Jung MW, Kim JJ (2008) Prefrontal cortex and hippocampus subserve different components of working memory in rats. *Learn Mem* 15(3):97–105. <https://doi.org/10.1101/lm.850808>.
- Zhang L, Fang Y, Xu Y, Lian Y, Xie N, Wu T, Zhang H, Sun L, Zhang R, Wang Z, Blum D (2015) Curcumin Improves Amyloid β -Peptide (1–42) Induced Spatial Memory Deficits through BDNF-ERK Signaling Pathway. *PLoS ONE* 10(6):e0131525. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0131525>.
- Zhang X-H, Liu S-S, Yi F, Zhuo M, Li B-M (2013) Delay-dependent impairment of spatial working memory with inhibition of NR2B-containing NMDA receptors in hippocampal CA1 region of rats. *Molecular Brain* 6(1):13. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-6-13>.
- Zhen C, Zhang T (2015) Synaptic plasticity-related neural oscillations on hippocampus–prefrontal cortex pathway in depression. *Neuroscience* 292:170–180. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2015.01.071>.
- Zhuo J, Prescott S, Murray M, Zhang H, Baxter M, Nicolle M (2007) Early discrimination reversal learning impairment and preserved spatial learning in a longitudinal study of Tg2576 APPsw mice. *Neurobiol Aging* 28(8):1248–1257. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2006.05.034>.
- Zhuo J, Prakasam A, Murray M, Zhang H, Baxter M, Sambamurti K, Nicolle M (2008) An increase in Abeta42 in the prefrontal cortex is associated with a reversal-learning impairment in Alzheimer's disease model Tg2576 APPsw mice. *Curr Alzheimer Res* 5(4):385–391. <https://doi.org/10.2174/156720508785132280>.

(Received 8 January 2022, Accepted 7 July 2022)
(Available online 15 July 2022)