



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR**

**ALTERACIONES EN LAS PROPIEDADES INTRÍNSECAS, SINÁPTICAS Y COGNITIVAS  
DE LA REGIÓN CA1 DEL HIPOCAMPO EN MODELOS DE TAUPATÍA Y AMILOIDOSIS:  
MODULACIÓN POR LA EPOTILONA-D**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**

**ÁNGEL ABDIEL ROBLES GÓMEZ**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. José Fernando Peña Ortega**  
Instituto de Neurobiología, UNAM

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:**

**Dr. José Fernando Peña Ortega**  
Instituto de Neurobiología, UNAM

**Dr. Víctor Hugo De Lafuente Flores**  
Instituto de Neurobiología, UNAM

**Dra. Isabel Arrieta Cruz**  
Instituto Nacional de Geriátría

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX., FEBRERO DE 2024**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR**

**ALTERACIONES EN LAS PROPIEDADES INTRÍNSECAS, SINÁPTICAS Y COGNITIVAS  
DE LA REGIÓN CA1 DEL HIPOCAMPO EN MODELOS DE TAUPATÍA Y AMILOIDOSIS:  
MODULACIÓN POR LA EPOTILONA-D**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**

**ÁNGEL ABDIEL ROBLES GÓMEZ**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. José Fernando Peña Ortega**  
Instituto de Neurobiología, UNAM

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:**

**Dr. José Fernando Peña Ortega**  
Instituto de Neurobiología, UNAM

**Dr. Víctor Hugo De Lafuente Flores**  
Instituto de Neurobiología, UNAM

**Dra. Isabel Arrieta Cruz**  
Instituto Nacional de Geriátría

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX., FEBRERO DE 2024**

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR  
OFICIO: CGEP/CPCB/IFC/0062/2024  
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
P r e s e n t e

Me permito informar a usted, que en la reunión del Comité Académico de (Biología Experimental) del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **27 de noviembre de 2023** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** del estudiante **ROBLES GÓMEZ ÁNGEL ABDIEL** con número de cuenta **310310615** con la tesis titulada **“Alteraciones en las propiedades intrínsecas, sinápticas y cognitivas de la región ca1 del hipocampo en modelos de taupatía y amiloidosis: modulación por la epotilona-d”**, realizada bajo la dirección del **DR. JOSÉ FERNANDO PEÑA ORTEGA**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. MARTHA LILIA ESCOBAR RODRÍGUEZ  
Vocal : DR. SALVADOR LEONARDO HERNÁNDEZ LÓPEZ  
Vocal : DRA. CARMEN YOLANDA ACEVES VELASCO  
Vocal : DRA. MARÍA ELVIRA GALARRAGA PALACIO  
Secretario: DR. VICTOR HUGO DE LAFUENTE FLORES

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**A T E N T A M E N T E**  
**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 18 de enero de 2024

**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**



c. c. p. Expediente del alumno

AGNS/SEMI/EARR/semi

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM, proyecto número IG200521.

Al CONAHCYT, CVU # 859433. Proyecto número A1-S-7540

Al Dr. Fernando Peña Ortega, Tutor Principal de la tesis

A los miembros del Comité Tutor:

Dr. Víctor Hugo De Lafuente Flores

Dra. Isabel Arrieta Cruz

# ÍNDICE

## ÍNDICE DE FIGURAS

## ABREVIATURAS

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
1 – INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 – SISTEMA DE MICROTÚBULOS NEURONAL.....	3
1.1.1 – Agentes moduladores de los microtúbulos neuronales .....	5
1.1.1.1 – Epotilona-D.....	5
1.2 – PROTEÍNA TAU Y TAUPATÍAS.....	8
1.2.3 – Enfermedad de Alzheimer: tau y $\beta$ -amiloide .....	11
1.3 – LA FORMACIÓN HIPOCAMPAL.....	15
1.3.1 – Anatomía y conectividad del hipocampo .....	15
1.3.2 – Funciones cognitivas del hipocampo .....	17
1.3.3 – CA1.....	18
1.3.3.1 – Anatomía y conectividad de CA1.....	18
1.3.3.2 – Fisiología y excitabilidad de las neuronas principales de CA1.....	19
1.3.3.3 – Vía temporoammónica.....	19
1.3.3.4 – Aspectos computacionales y cognitivos de la red de CA1.....	21
1.4 – ANTECEDENTES .....	21
1.4.1 – Alteraciones en el modelo rTg4510 .....	21
1.4.2 – Relación tau- $\beta$ -amiloide .....	22
1.4.3 – Estabilizadores del citoesqueleto como tratamiento para taupatías .....	23
1.5 – RELEVANCIA.....	25

2 – HIPÓTESIS.....	26
3 – OBJETIVOS.....	26
4 – METODOLOGÍA.....	26
4.1 – ANIMALES.....	26
4.2 – INYECCIÓN INTRACEREBROVENTRICULAR.....	27
4.3 – INYECCIÓN DE LA EPOTILONA-D.....	27
4.4 – ANÁLISIS DE LA CONDUCTA.....	27
4.4.1 – Prueba de campo abierto.....	27
4.4.2 – Prueba de Hebb-Williams.....	28
4.5 – REGISTROS DE <i>PATCH CLAMP</i> .....	30
4.6 – TINCIÓN DE NISSL.....	33
4.7 – FARMACOLOGÍA.....	34
4.8 – ANÁLISIS DE DATOS.....	34
5 – RESULTADOS.....	35
5.1 – LA EPO-D ALTERA LA LOCOMOCIÓN DE LOS RATONES TG.....	35
5.2 – MEMORIA ESPACIAL.....	36
5.2.1 – El $\beta$ A y la proteína P-tau reducen la recuperación de la memoria espacial.....	36
5.2.2 – La epotilona-D revierte las alteraciones causadas por el $\beta$ A y la proteína P-tau.....	37
5.2.3 – La epotilona-D reduce la flexibilidad cognitiva.....	38
5.3 – PROPIEDADES INTRÍNSECAS DE LAS NEURONAS PIRAMIDALES DE HIPOCAMPO.....	39
5.3.1 – El $\beta$ A y la proteína P-tau inducen efectos divergentes sobre la excitabilidad neuronal.....	39
5.3.2 – La hiperexcitabilidad inducida por el $\beta$ A predomina sobre la hipoexcitabilidad asociada a la proteína P-tau.....	42
5.3.3 – La epotilona-D altera la excitabilidad neuronal intrínseca.....	42



5.3.4 – La epotilona-D previene restaura parcialmente la excitabilidad en presencia del $\beta$ A, P-tau y su combinación .....	44
5.4 – PROPIEDADES SINÁPTICAS DE LA VÍA TEMPOROAMMÓNICA .....	47
5.4.1 – La combinación del $\beta$ A y la Epo-D incrementa la transmisión sináptica espontánea .....	47
5.4.2 – El $\beta$ A y la proteína P-tau producen efectos divergentes sobre la vía temporoammónica .....	48
5.4.3 – La epotilona-D deprime la transmisión sináptica y la plasticidad a corto plazo ...	50
5.4.4 – La epotilona-D revierte las alteraciones inducidas por el $\beta$ A en la vía temporoammónica .....	50
5.4.5 – La epotilona-D deprime la transmisión sináptica y su plasticidad en animales Tg .....	51
5.5 – EVALUACIÓN HISTOLÓGICA .....	53
5.6 – EFECTOS DE LA EPOTILONA-D IN VITRO .....	54
6 – DISCUSIÓN .....	57
6.1 – DEL $\beta$ A Y P-TAU SOBRE LA INTEGRIDAD HISTOLÓGICA Y LA MEMORIA .....	57
6.2 – EFECTOS INDIVIDUALES DEL $\beta$ A .....	59
6.3 – EFECTOS INDIVIDUALES DE LA PROTEÍNA P-TAU .....	63
6.4 – EFECTOS CONJUNTOS DE LA PROTEÍNA P-TAU Y EL BA .....	66
6.5 – ESTABILIZACIÓN DE LOS MICROTÚBULOS EN CONDICIONES NORMALES Y PATOLÓGICAS .....	70
7 – CONCLUSIONES .....	78
7.1 – CONCLUSIÓN GENERAL .....	78
7.2 – CONCLUSIONES PARTICULARES .....	78
8 – REFERENCIAS .....	79
ARTÍCULO DE REQUISITO .....	104

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de los microtúbulos neuronales.....	4
Figura 2. Estructura y efectos de las epotilonas.....	6
Figura 3. Procesamiento de la APP.....	12
Figura 4. Conectividad de la formación hipocampal.....	16
Figura 5. Conectividad de los blancos de salida de la formación hipocampal.....	20
Figura 6. Protocolo experimental.....	29
Figura 7. Prueba de campo abierto.....	36
Figura 8. Aprendizaje, memoria espacial y flexibilidad cognitiva.....	38
Figura 9. Propiedades intrínsecas de las neuronas las piramidales de CA1.....	41
Figura 10. Forma del potencial de acción (PA).....	43
Figura 11. Potencial sag.....	45
Figura 12. Propiedades sinápticas basales en neuronas piramidales de CA1.....	47
Figura 13. Registro de las EPSCs evocadas de la vía temporoammónica.....	49
Figura 14. Transmisión y plasticidad sináptica a corto plazo.....	52
Figura 15. Integridad histológica de CA1.....	53
Figura 16. Efectos de la epotilona-D in vitro sobre las propiedades intrínsecas de las neuronas principales.....	55
Figura 17. La epotilona-D reduce la transmisión y la plasticidad sináptica.....	56
Figura 18. Modelo de interacción entre el $\beta$ A, la P-tau y la estabilización de microtúbulos.....	77

## ABREVIATURAS

4-AP	4-aminopiridina
AEC	agente estabilizante del citoesqueleto
ADC	agente desestabilizante del citoesqueleto
AICD	dominio intracelular del APP (por sus siglas en inglés)
ANOVA	análisis de varianza
AP	potencial de acción (por sus siglas en inglés)
APP	proteína precursora del $\beta$ -amiloide (siglas en inglés para <i>amyloid-<math>\beta</math> precursor protein</i> )
APPs	amino terminal del APP (por sus siglas en inglés)
APP-CTF	fragmento carboxilo terminal del APP (por sus siglas en inglés)
U. A.	unidades arbitrarias
$\beta$ A	$\beta$ -amiloide
CA1	<i>cornus Ammonis</i> 1
CA2	<i>cornus Ammonis</i> 2
CA3	<i>cornus Ammonis</i> 3
CaM-KII	cinasa II de calcio-calmodulina (por sus siglas en inglés)
CE	corteza entorrinal
Cm	capacitancia de membrana
DMSO	dimetilsulfóxido
EA	enfermedad de Alzheimer
Epo-D	epotilona-D
EPSC	corriente postsináptica excitatoria (siglas en inglés para <i>excitatory postsynaptic current</i> )
EEM	error estándar de la media
FPP	facilitación por pulsos pareados
GABA	ácido $\gamma$ -aminobutírico ( <i><math>\gamma</math>-aminobutiric acid</i> )
GD	giro dentado

IC	índice de codificación
IE	índice de enriquecimiento
IF	2nglês2da2e-frecuencia
IO	entrada-salida (inglas em inglês para <i>input-output</i> )
IR	índice de recuperación
IV	corriente-voltaje
LTD	depresión a largo plazo (por sus siglas en inglés)
LTP	potenciación a largo plazo (por sus siglas en inglés)
MAP	proteína 2nglês2da a los microtúbulos (siglas em 2nglês para <i>microtubule associated protein</i> )
Máx Vel	pendiente máxima del PA
NMDA	N-metil-D-aspartato
PPH	post-potencial hiperpolarizante
P-tau	proteína tau hiperfosforilada
Ra	resistencia de acceso
Rm	resistencia de membrana
SIA	segmento inicial del axón
<i>sl</i>	<i>stratum lucidum</i>
<i>slm</i>	<i>stratum lacunosum moleculare</i>
<i>sr</i>	<i>stratum radiatum</i>
<i>so</i>	<i>stratum oriens</i>
SNC	sistema nervioso central
STP	plasticidad a corto plazo ( <i>short-term plasticity</i> )
Tg	transgénico
Veh	vehículo
VelSD	desviación estándar de la velocidad
Vm	potencial de reposo

VT vía temporoammónica

WT ratón silvestre (siglas en inglés para *wild type*)

## RESUMEN

El péptido  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ A) y la proteína tau hiperfosforilada (P-tau) son biomarcadores de la enfermedad de Alzheimer (EA) que interactúan de manera muy compleja y ocasionan la mayoría de las alteraciones cerebrales y cognitivas observadas en esta enfermedad; lo que hace muy difícil revertirlas. Dado que el citoesqueleto neuronal es un blanco de ambos péptidos, la EA se ha asociado con una mayor inestabilidad de los microtúbulos neuronales. La administración de agentes estabilizadores del citoesqueleto (AEC) parece proteger contra las condiciones patológicas inducidas por  $\beta$ A y P-tau. Sin embargo, los efectos negativos de los AEC cuestionan su efectividad y requiere evaluar sus acciones en diferentes condiciones patológicas. Por lo tanto, en este trabajo se evaluó si la epotilona-D, un AEC de uso clínico, revierte las alteraciones electrofisiológicas y cognitivas producidas por la inyección intracerebroventricular del  $\beta$ A, la presencia de P-tau en ratones transgénicos (rTg4510) o la combinación de ambas condiciones. Se midió la memoria espacial dependiente del hipocampo y las propiedades intrínsecas y sinápticas de las neuronas piramidales de CA1. En esta tesis encontramos que tanto el  $\beta$ A como P-tau deterioraron la recuperación de la memoria espacial, pero produjeron efectos contrastantes sobre la excitabilidad intrínseca. Además, la combinación del  $\beta$ A y P-tau exacerbó las alteraciones en la excitabilidad y en el aprendizaje espacial. Como se esperaba, la epotilona-D evitó la mayoría de las deficiencias inducidas por ambos péptidos. Sin embargo, la epotilona-D también mostró algunos efectos secundarios cuya incidencia dependió de la patología por la proteína P-tau. El descubrimiento de que la epotilona-D puede prevenir la mayoría de los efectos nocivos inducidos por el  $\beta$ A, P-tau y su combinación, respalda su uso para tratar la EA sin embargo, sus efectos secundarios deben considerarse en cada condición patológica.

## **ABSTRACT**

The  $\beta$ amyloid- $\beta$  peptide ( $A\beta$ ) and hyperphosphorylated tau protein (P-tau) are biomarkers of Alzheimer's disease (AD) that interact in a very complex manner and cause most of the brain and cognitive alterations observed in this disease, making it very difficult to reverse them. Since the neuronal cytoskeleton is a target of both peptides, AD has been associated with increased instability of neuronal microtubules. The administration of cytoskeleton-stabilizing agents (CSAs) appears to protect against pathological conditions induced by  $A\beta$  and P-tau. However, the negative effects of CSAs raise questions about their effectiveness, and it is necessary to evaluate their actions under different pathological conditions. Therefore, in this study, we evaluated whether epothilone-D, a clinically used CSA, reverses the electrophysiological and cognitive alterations produced by intracerebroventricular injection of  $A\beta$ , the presence of P-tau in transgenic mice (rTg4510), or the combination of both conditions. We measured hippocampus-dependent spatial memory and the intrinsic and synaptic properties of CA1 pyramidal neurons. In this thesis, we found that both  $A\beta$  and P-tau impaired the retrieval of spatial memory but had contrasting effects on intrinsic excitability. Furthermore, the combination of  $A\beta$  and P-tau exacerbated alterations in excitability and spatial learning. As expected, epothilone-D prevented most of the deficiencies induced by both peptides. However, epothilone-D also showed some side effects whose incidence depended on the predominant pathological condition. The discovery that epothilone-D can prevent most of the harmful effects induced by  $A\beta$ , P-tau, and their combination supports its use, along with other stabilizers, to treat AD; however, its side effects should be considered in each pathological condition.

# 1 – INTRODUCCIÓN

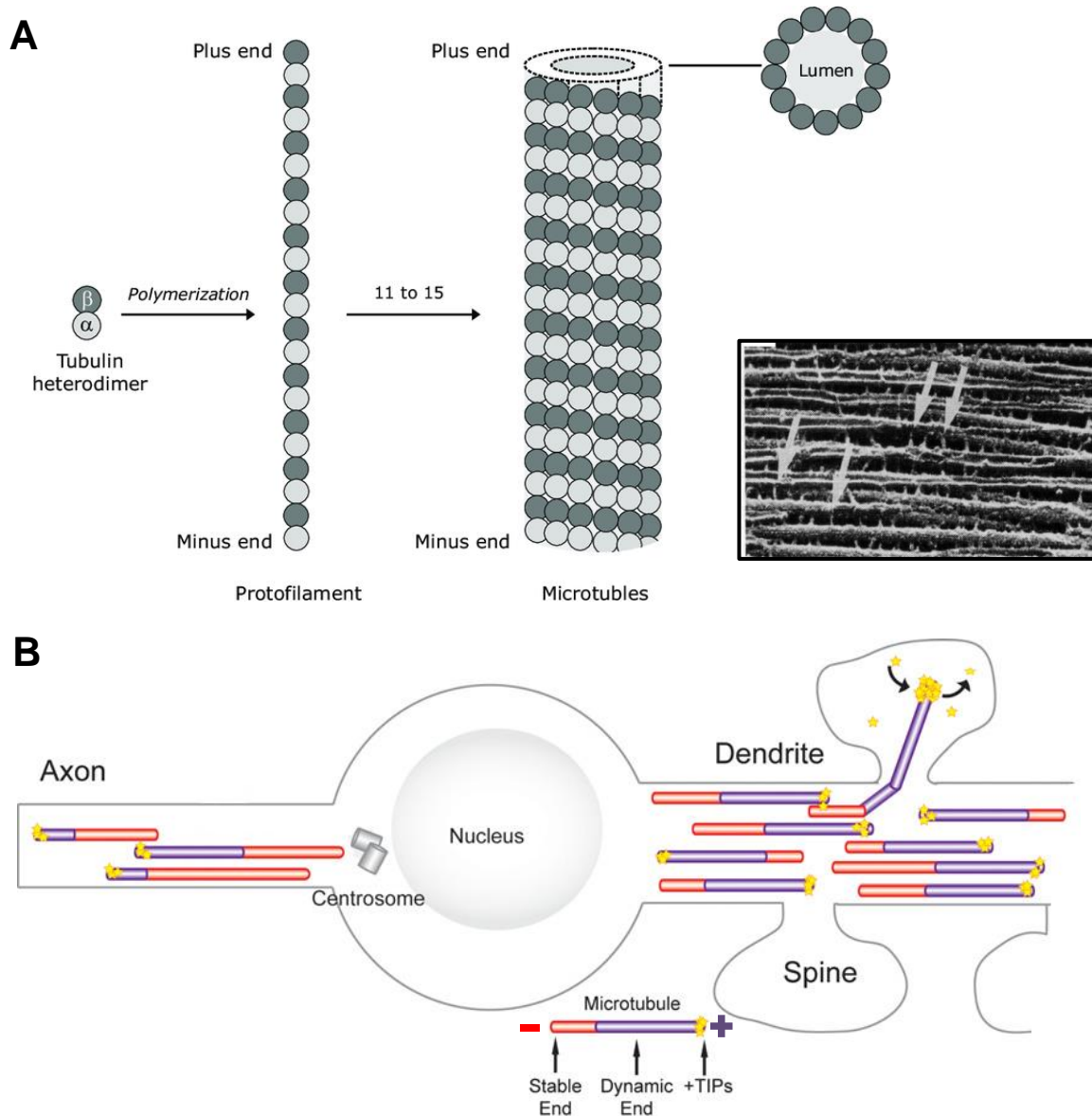
## 1.1 – SISTEMA DE MICROTÚBULOS NEURONAL

El citoesqueleto neuronal es un sistema proteico de soporte mecánico y andamiaje que presenta un arreglo diferente al de otros tipos celulares [Drubin y Kirshner, 1986]. Este arreglo se debe a la organización de sus ensamblajes de microtúbulos (Fig. 1A) [Okabe y Hirokawa, 1988]. Los microtúbulos son estructuras polipeptídicas tubulares conformadas por protofilamentos lineales que, a su vez, se componen de dímeros de tubulina- $\alpha$  y tubulina- $\beta$  (Fig. 1A). Además de dar soporte mecánico, los microtúbulos neuronales funcionan como una matriz o “*hub*” central de procesos intracelulares que median la polarización celular, la morfología neuronal, el transporte axonal (rápido y lento) y la señalización intracelular para la plasticidad sináptica y la neuromodulación [Gordon-Weeks y Fournier, 2013; Baas et al., 2016]. En su estructura, los microtúbulos presentan un extremo “menos” (–, conformado por tubulina- $\alpha$ ) y un extremo “más” (+, conformado por tubulina- $\beta$ ) de tal manera que, dentro del axón, el extremo + siempre se encuentra orientado hacia las terminales sinápticas, mientras que el extremo – lo está hacia el soma de la neurona [Zheng et al., 2008]. No obstante, en las dendritas los microtúbulos no presentan una orientación uniforme hacia el soma como sucede en el axón (Fig. 1.B) [Baas et al., 1988]. Estas diferencias en la orientación permiten diferenciar los procesos neuronales (axón y dendritas) y se asocian a diferentes funciones de transporte y señalización mediados por los microtúbulos [Zheng et al., 2008] (Fig. 1B).

Los microtúbulos presentan dominios que están definidos por diferentes grados de estabilidad [Walker et al., 1988; Desai & Mithison, 1997]. La estabilidad de los microtúbulos se refiere a la tasa de cambios estructurales intermitentes entre fases de crecimiento y encogimiento [Walker et al., 1988]. Debido a que estos cambios nunca alcanzan un equilibrio químico en condiciones fisiológicas, este comportamiento molecular se describe como “inestabilidad dinámica” [Walker et al., 1988]. Dentro de un mismo microtúbulo es posible identificar (1) dominios estables que mantienen la integridad de la estructura, y (2) dominios con inestabilidad dinámica definidos por su intermitencia entre reacciones de polimerización y despolimerización [Walker et al., 1988]. Los estados dinámicos de los microtúbulos permiten procesos plásticos asociados al aprendizaje y la memoria, y son más frecuentes en sus extremos + en axones y dendritas, ya que constituyen un dominio más dinámico o “lábil” y, por lo tanto, responsivo para generar cambios estructurales [Rolls et al., 2020; Atarod et al., 2015]. Los microtúbulos en estado lábil



se involucran en el transporte activo de proteínas y vesículas sinápticas, la ramificación del axón, la formación de nuevas sinapsis y la regeneración tras lesiones mecánicas [Atarod et al., 2015; Qiang et al. 2018]. El sistema de microtúbulos neuronales, al ocupar una posición medular en la plasticidad neuronal, están involucrados en múltiples enfermedades cerebrales que se caracterizan por una desregulación en su dinámica [Matsuyama y Jarvik, 1989].



**Figura 1. Estructura de los microtúbulos neuronales.** **A**, Los microtúbulos están compuestos de 11 a 15 hileras de protofilamentos compuestos de dímeros de tubulina- $\alpha$  y tubulina- $\beta$ . En el inserto se aprecia una micrografía electrónica de barrido donde se observa un fascículo de microtúbulos dentro de un axón. Nótese la organización paralela y equidistante entre ellos. Las flechas indican la presencia de proteínas asociadas a los microtúbulos. **B**, Esquema del arreglo de los microtúbulos dentro de una neurona. En el axón, el extremo + está orientado hacia las terminales sinápticas y el extremo - lo está hacia el soma. En las dendritas los extremos + de los microtúbulos no están siempre orientados hacia el soma, sino que también pueden estarlo hacia las dendritas más distales. Los microtúbulos de esta región se encuentran en estado dinámico (color morado), mientras que el polo opuesto se caracteriza por tener microtúbulos estables. Además, en los extremos + se encuentran asociadas proteínas de tráfico del polo + (también conocidas como +TIPs) que regulan la estabilidad dinámica. **A** editado de Kumar y Mina, 2017; inserto tomado de Chen et al., 1992. **B** editado de Dent y Baas, 2014.

### **1.1.1 – Agentes moduladores de los microtúbulos neuronales**

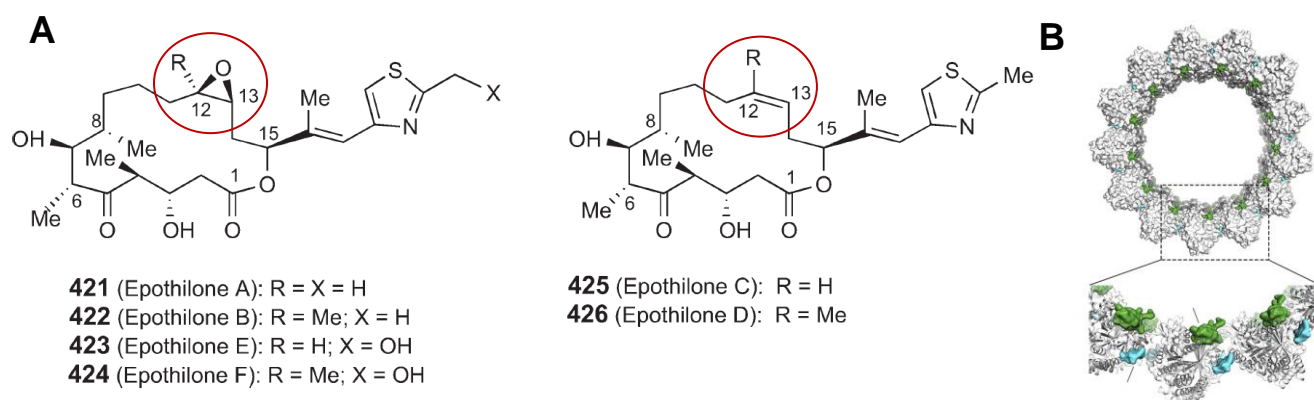
Para el estudio de la dinámica de los microtúbulos, se han utilizado agentes estabilizadores (AEC) y desestabilizadores (ADC) del citoesqueleto [Steinmetz y Prota, 2018]. Una vez que los dímeros de tubulina ya están integrados al microtúbulo, su interacción con los AEC previene su despolimerización y, por lo tanto, reduce la inestabilidad dinámica en los dominios lábiles de los microtúbulos [Nogales et al., 1998; Prota et al., 2013; Steinmetz y Prota, 2018]. En cambio, los ADC impiden el reclutamiento de nuevos dímeros de tubulina para ser incorporados a los microtúbulos en crecimiento, favoreciendo así su despolimerización espontánea [Ravelli et al., 2004; Massarotti et al., 2011; Ranaivoson et al., 2012]. La estabilización o la desestabilización excesiva de los microtúbulos, más allá de su rango fisiológico normal y plástico, repercute negativamente en algunas funciones neuronales básicas como el aprendizaje y el desempeño motor; por sus efectos en el sistema nervioso central y el periférico [Peña-Ortega et al., 2022]. En principio, los AEC han sido utilizados como un tratamiento antineoplásico debido a que detienen la división celular [Field et al., 2014]. Sin embargo, en pacientes con cáncer, o en sus modelos animales, así como en controles sanos, los efectos secundarios de los AECs sobre la cognición y la coordinación motora son comunes [Lee et al., 2006; Shemesh y Spira, 2010; Vickers & Wyllie, 2007; Shabani et al., 2012].

El hecho de que algunas enfermedades cerebrales se caractericen por la inestabilidad generalizada de los microtúbulos neuronales ha motivado la investigación del uso de los AEC como tratamiento para las mismas [Mortal et al., 2021]. Lo anterior, como una estrategia para restaurar la estabilidad del sistema de microtúbulos [Field et al., 2014; Ballatore et al., 2012; Zhang et al., 2005]. Los taxanos y las epotilonas son los AEC de mayor uso en modelos de patologías del sistema nervioso [Bollag et al., 1995]. Sin embargo, sus resultados en estos modelos animales han sido tanto favorables [Zhang et al., 2005 y 2012; Brunden et al., 2010; Brizuela et al., 2015; Guo et al., 2020], como desfavorables [Atarod et al., 2015; Li et al., 2018]. Aún se desconocen los efectos específicos de los AEC sobre la fisiología neuronal en condiciones normales y patológicas específicas, como aquellas en las que se pretenden utilizar los estabilizadores como tratamiento [Priel et al., 2006; Steinmetz y Prota, 2018].

#### 1.1.1.1 – Epotilona-D

Las epotilonas son moléculas pertenecientes a la familia de los macrólidos [Höfle et al., 1996], que son compuestos con un anillo de 12 a 16 carbonos que generalmente presentan grupos

funcionales hidrófobos (Fig. 2A) [Bryskier et al., 2005]. Las epotilonas provienen de la bacteria *Sorangium cellulosum* [Höfle et al., 1996], de la cual originalmente se aislaron dos compuestos antifúngicos que se denominaron epotilona-A y epotilona-B [Höfle et al., 1996]. Estos compuestos presentaron propiedades citotóxicas [Gerth et al., 1996] que eran similares al taxol, el cual ya se utilizaba como tratamiento contra el cáncer y se sabía que su mecanismo de acción incluía la estabilización de los microtúbulos [Bollag et al., 1995]. Las epotilonas y el taxol interactúan con el “bolsillo” (del inglés *pocket*) de unión taxoide de la tubulina- $\beta$  [Hardt et al., 2001; Nettles et al., 2004]. Este bolsillo de unión está conformado por un conjunto de residuos y asas ubicadas en la región luminal (zona que está orientada hacia la luz del microtúbulo) de la tubulina- $\beta$ . Tanto el taxol como las epotilonas establecen contactos hidrófobos y polares con diferentes residuos del bolsillo de unión taxoide (Fig. 2B) [Nettles et al., 2004]. Mediante esta interacción, las epotilonas (y los taxoles) favorecen las uniones con las tubulinas- $\beta$  vecinas y así proveen resistencia mecánica a la estructura del microtúbulo [Nettles et al., 2004; Kellog et al., 2017].



**Figura 2. Estructura y efectos de las epotilonas.** **A**, estructura química base de las epotilonas. Las epotilonas A, B, E y F presentan una estructura similar, en cuanto a que sus carbonos 12 y 13 conforman un anillo epóxido junto con un oxígeno (círculo rojo en el modelo de la izquierda). Por el otro lado, las epotilonas C y D no presentan dicho anillo, sino que mantienen un enlace doble entre los carbonos 12 y 13 (modelo de la derecha). Además de estas diferencias, las epotilonas se diferencian con base a los grupos funcionales químicos que están unidos al anillo de carbonos (R en carbono 12) y en su grupo tiazol (X; ver el código debajo de las estructuras para cada tipo de epotilona). La epotilona-D presenta un grupo metilo unido al carbono 12. **B**, modelo tridimensional de un corte transversal de un microtúbulo. Se aprecia en color verde el modelo del taxol ocupando el bolsillo de unión taxoide en la región luminal de las tubulinas- $\beta$ . En color azul se representa la pelorusida, otro agente estabilizante del citoesqueleto que se une en otro bolsillo de los dímeros de tubulina. (A) tomado de Chen y Heal, 2008. (B) editado de Steinmetz et al., 2016.

Actualmente se cuentan con 6 derivados sintéticos de la epotilona que se diferencian con base a los radicales químicos que presenten en su anillo de carbonos (Fig. 2) [Chen y Heal, 2008]. De entre todas, la epotilona-D ha llamado la atención para su uso en las enfermedades cerebrales debido a que atraviesa la barrera hematoencefálica y su eliminación del tejido nervioso es más lenta respecto a otros AEC [Schering AG, 2003; Brunden et al., 2012]. La

epotilona-D se caracteriza por presentar un grupo metilo en su carbono número 12 y en su grupo tiazol asociado al carbono 15 (ver Fig. 2A) [Chen y Heal, 2008]. La epotilona ha sido en modelos animales de esquizofrenia, obteniendo resultados protectores en la conducta de los sujetos [Andrieux et al., 2006; Fournet et al., 2012]. Asimismo, en el 2009 se registró la patente de esta epotilona para tratar modelos animales de taupatías y de la enfermedad de Alzheimer (EA; ambas enfermedades neurodegenerativas) [Albright et al., 2009]. En el 2010 se publicó el primer artículo original revisado por pares en donde la Epo-D fue probada en un modelo murino de taupatía [Brunden et al., 2010]. Tanto en la patente como en el artículo, se demostró que la Epo-D tiene efectos protectores sobre la memoria espacial y la densidad de microtúbulos en los axones en animales que modelaban una taupatía [Albright et al., 2009; Brunden et al., 2010]. En los años siguientes, se reportaron efectos protectores similares en otros modelos de enfermedades neurodegenerativas [Zhang et al., 2012; Barten et al., 2012; Cartelli et al., 2013; Penazzi et al., 2016; Sohn et al., 2016; Guo et al., 2020]. Incluso, se han observado efectos potenciadores de la Epo-D sobre la memoria en individuos sanos [Uchida et al., 2014]. Sin embargo, la Epo-D reduce la complejidad de las dendritas apicales de las neuronas piramidales sanas [Golovyashkina et al., 2015], disminuye la locomoción de sujetos sanos [Ray et al., 2011] y exacerba la evolución de la patología en un modelo de esclerosis lateral amiotrófica [Clark et al., 2018]. Curiosamente, los efectos negativos de la Epo-D dependen de la edad de los sujetos [Zhu et al., 2020] y de la temporalidad de las dosis administradas, en donde algunos efectos negativos se aprecian en un régimen de aplicación crónico [Clark et al., 2018].

El que existan reportes tanto de efectos protectores [Brunden et al., 2010; Zhang et al., 2012; Barten et al., 2012; Cartelli et al., 2013; Penazzi et al., 2016; Sohn et al., 2016; Guo et al., 2020] como de efectos deletéreos de la Epo-D [Golovyashkina et al., 2015; Ray et al., 2011; Clark et al., 2018; Zhu et al., 2020] sugiere que sus acciones netas dependen de las condiciones fisiológicas o patológicas previas en las que se encuentren los sujetos [Peña-Ortega et al., 2022]. Lo anterior, depende de tres condiciones particulares: la primera, como se mencionó, es la edad de los sujetos, pues los sujetos más jóvenes son más resistentes a los efectos negativos del estabilizante [Zhu et al., 2020]. La segunda determinante depende del estado cerebral durante el cual es administrado el estabilizante [Uchida et al., 2014]. Un ejemplo de esto es la sensibilidad de la memoria al momento en el cual se administra un estabilizador, pues los AEC potencian la memoria cuando se administran durante el fenómeno de la

retención, pero la disminuyen cuando se les administra durante la codificación de la misma [Uchida et al., 2014]. El tercer determinante de los efectos de los AEC es la condición fisiopatológica cuando se les administra, pues la Epo-D disminuye la complejidad de las dendritas cuando se administra a sujetos sanos [Golovyashkina et al., 2015], pero contrastadamente incrementa la densidad de las espinas dendríticas en un modelo de daño cerebral traumático [Chuckowree et al., 2018] y en un modelo de amiloidosis [Penazzi et al., 2016].

Como se describió, este conjunto de estudios indica que los efectos de la Epo-D dependen del estado previo de los individuos: mayormente protectores en estado patológico [Albright et al., 2009; Brunden et al., 2010; Zhang et al., 2012; Barten et al., 2012; Cartelli et al., 2013; Penazzi et al., 2016; Sohn et al., 2016; Guo et al., 2020] (sin embargo, ver [Clark et al., 2018; Qu et al., 2017]), y mayormente deletéreos en estado normal [Golovyashkina et al., 2015] (sin embargo ver [Brunden et al., 2010]). Como ya se mencionó, lo anterior también depende de la edad de los sujetos [Zhu et al., 2020] y la temporalidad de la administración [Clark et al., 2018]. El mismo patrón de efectos favorables o negativos dependientes del estado producidos por la Epo-D también se observan con el paclitaxel [Peña-Ortega et al., 2022]. Estas observaciones reportadas por diferentes grupos nos muestran el desconocimiento acerca de la seguridad y eficacia de los AEC para tratar enfermedades cerebrales, así como de los procesos fisiológicos subyacentes. Por lo tanto, esta tesis plantea el estudio de la Epo-D en un diseño experimental que permita comparar sus efectos en condiciones fisiológicas y patológicas (en un contexto de taupatía y/o amiloidosis).

## **1.2 – PROTEÍNA TAU Y TAUPATÍAS**

Uno de los factores más importantes que conducen a una falla en el sistema de microtúbulos es la disfunción de la proteína “tau”, que está estrechamente relacionada con un marcado deterioro neuronal en varias enfermedades del sistema nervioso catalogadas como taupatías [Medina et al., 2016]. La proteína tau es parte de una considerable cantidad de proteínas que tienen la función de modular la dinámica de los microtúbulos y los procesos neuronales dependientes de esta dinámica [Sheng y Pak, 2000; Gordon-Weeks y Fournier, 2013]. La proteína tau pertenece a las MAPs (siglas en inglés para *microtubule binding proteins*), que se componen de la MAP1, la MAP2 y la MAPT, esta última también conocida como “tau” [Matus,

1988]. Las MAPs modulan la dinámica de los microtúbulos por medio de su unión directa a los heterodímeros de tubulina [Chapin y Bulinski, 1992; Medina et al., 2016].

La proteína tau presenta una estructura relativamente sencilla de “enredado aleatorio” (*random coil*) en donde su cadena de aminoácidos no presenta plegamientos a manera de lámina- $\beta$  o hélice- $\alpha$  [Mylonas et al., 2008]. Su estructura primaria se divide en tres dominios: el dominio de proyección (1), que se encuentra en el amino terminal y media la interacción de tau con los microtúbulos vecinos, con filamentos de actina, con cationes y con proteínas de membrana [Guo et al, 2017]; el dominio de unión a los microtúbulos (2), que presenta una región rica en prolina y secuencias repetitivas de ciertos aminoácidos (también llamadas copias tándem), y el carboxilo terminal (3) [Guo et al, 2017].

Se han descrito seis isoformas de tau humana (tres cortas y tres largas) en el sistema nervioso central, las cuales son derivadas del *splicing* alternativo de un solo gen [Lee y Goedert, 2001]. Las isoformas de tau varían de acuerdo con la cantidad de copias de repetición tándem que contengan [Liu et al., 2001]. Estas copias son secuencias repetitivas de 31 aminoácidos que conforman la región de unión a los microtúbulos justo entre la región rica en prolina y el carboxilo terminal [Avila et al., 2004]. Las isoformas cortas contienen tres repeticiones (3R-tau) mientras que las isoformas largas presentan cuatro repeticiones (4R-tau) [Avila et al., 2004].

Dentro de las neuronas, la proteína tau presenta un gradiente de concentración que es mayor en las terminales sinápticas y que disminuye gradualmente en dirección al soma [Hoover et al., 2010]. No obstante, la proteína tau también se encuentra localizada en las espinas dendríticas actuando como proteína de andamiaje para algunas proteínas de la densidad postsináptica [Ittner et al., 2010]. La estabilización de los microtúbulos por parte de la proteína tau en estos compartimentos neuronales comprende el mantenimiento de la integridad estructural, previniendo el acortamiento por la despolimerización espontánea y el corte de los extremos + por enzimas en las terminales sinápticas [Qiang et al., 2018]. Durante el desarrollo del sistema nervioso, la proteína tau es necesaria para la axogénesis y la maduración del axón [Dawson et al., 2001; Sayas et al., 2015]. Durante la madurez, la interacción de la proteína tau con los microtúbulos es importante para la plasticidad sináptica en las terminales sinápticas y las espinas dendríticas [Regan et al., 2015; Ittner et al., 2010].

La disfunción de la proteína tau comprende primeramente su hiperfosforilación en residuos específicos (formando especies denominadas fosfo-tau o P-tau) [Kimura et al., 2018], su deslocalización y deposición dentro de las neuronas en marañas neurofibrilares [Despres et

al., 2019] y, finalmente, neurodegeneración, lo cual está correlacionado con un deterioro cognitivo y/o motor dependiendo del o los núcleos cerebrales afectados [Spillantini & Goedert, 2013].

La fosforilación de tau es una modificación postraduccional que ocurre en condiciones fisiológicas normales, generalmente como parte de los mecanismos de plasticidad neuronal [Kimura et al., 2018; Despres et al., 2019]. No obstante, hiperfosforilación de tau, que se entiende como una fosforilación más allá del rango fisiológico, es un proceso asociado a las taupatías [Götz et al., 2018]. Esta hiperfosforilación puede ser causada por las mutaciones en el gen de la proteína tau (MAPT), las cuales están relacionadas con casos familiares de taupatías [Götz et al., 2018]. Considerando su isoforma más larga en humanos (441 aminoácidos), la proteína tau puede ser fosforilada en más de 80 residuos de treonina, serina y tirosina, los cuales abundan más en la región rica en prolina [Goedert et al., 1989]. De acuerdo con el modelo actual de las taupatías, la hiperfosforilación de tau conduce a una cadena de eventos patológicos que incluyen: su doblamiento incorrecto (*misfolding*), su deposición en oligómeros, en fibrillas y en marañas neurofibrilares dentro del citoplasma de las neuronas [Hoover et al., 2010], así como su deslocalización hacia la región somatodendrítica [Hoover et al., 2010]. La proteína tau hiperfosforilada es menos afín a los dímeros de tubulina, lo que produce una menor estabilidad de la estructura de los microtúbulos [Spillantini & Goedert, 2013] y compromete funciones vitales, como el transporte axonal [Medina et al., 2016; Guo et al., 2020]. Finalmente, la interrupción de estas funciones conduce a la muerte neuronal y al daño cognitivo [Dalby et al., 2014; Hall et al., 2015]. La abundancia de la proteína tau hiperfosforilada está correlacionada con las alteraciones conductuales en los pacientes con taupatías [Kuchibhotla et al., 2014; Marinkovic et al., 2019; Barthélemy et al., 2020;]. De hecho, los oligómeros solubles han sido descritos como la especie tóxica de tau [Yoshiyama et al., 2007]. Se ha demostrado que los oligómeros de la proteína tau *per se* son capaces de alterar las propiedades intrínsecas y sinápticas de las neuronas hipocampales y corticales [Hill et al., 2019] y, al parecer, son capaces de producir hipoactividad [Hatch et al., 2017; Busche et al., 2019] o hiperactividad [Berron et al., 2019; Huijbers et al., 2019] en los circuitos neuronales. Análogamente, la desestabilización del citoesqueleto inducida farmacológicamente también provoca alteraciones en la plasticidad sináptica y la cognición [Vickers & Wyllie, 2007; Shabani et al., 2012]. Por lo tanto, se ha sugerido que las alteraciones

en el citoesqueleto neuronal, derivadas de una disfunción de la proteína tau, son uno de los principales mecanismos involucrados en las taupatías [Ballatore et al., 2012].

Las taupatías se pueden clasificar en (1) taupatías primarias, en las cuales la disfunción de la proteína tau es el factor patológico principal, y (2) taupatías secundarias que presentan otros factores que desencadenan la enfermedad además de la disfunción de la proteína tau [Josephs, 2017]. El ejemplo más reconocido dentro de las taupatías secundarias es la enfermedad de Alzheimer (EA), que se caracteriza por la deposición tanto de la proteína tau como del péptido  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ A) [Lee y Goedert, 2001; Goedert, 2005].

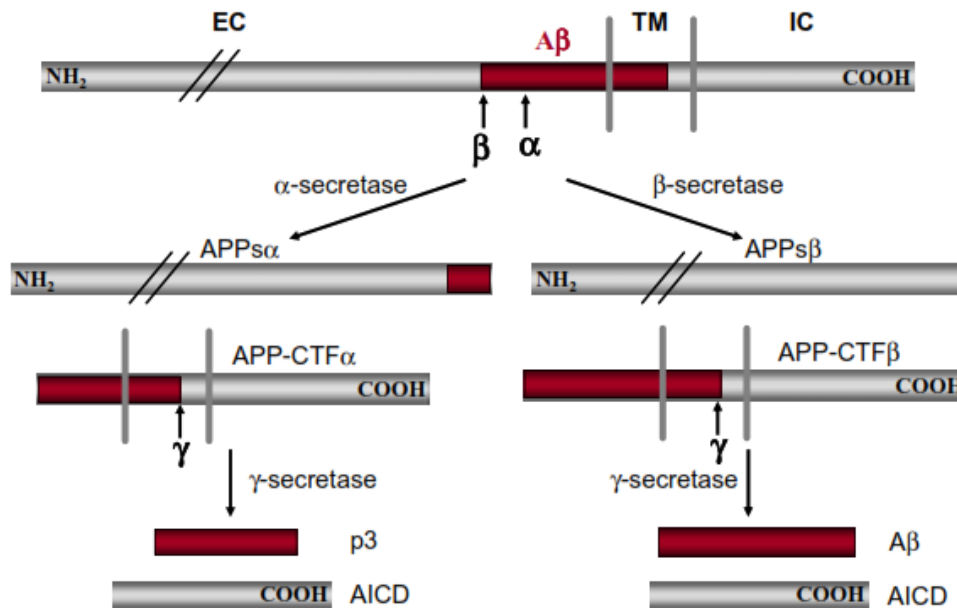
### 1.2.3 – Enfermedad de Alzheimer: tau y $\beta$ -amiloide

Los péptidos  $\beta$ A derivan de la degradación de la proteína precursora del  $\beta$ A (APP, siglas en inglés de *amyloid- $\beta$  precursor protein*), que es una proteína integral de la membrana [Zheng & Koo, 2006]. La APP participa normalmente en la plasticidad sináptica [Kamenetz et al., 2003; Li et al., 2013], en la sinaptogénesis [Moya et al., 1994] y en la proliferación de células troncales en la zona subventricular de los roedores [Caillé et al., 2004]. En general, los derivados de la degradación de la APP, incluyendo los péptidos  $\beta$ A, son necesarios para el neurodesarrollo y algunos tipos de plasticidad sináptica [Spires-Jones y Hyman, 2014; Harris et al., 2020].

En neuronas, la APP es transportada anterógradamente [Lyckman et al., 1998] y localizada en regiones sinápticas [Koo et al., 1990]. La APP colocaliza con la maquinaria necesaria para su proteólisis [Kamenetz et al., 2003; Li et al., 2013], que es llevada a cabo por proteínas denominadas secretasas ( $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -secretasa) [Zheng y Koo, 2006] (ver Fig. 3 para visualizar el proceso). Normalmente, la APP es degradada mediante un rompimiento en residuos del dominio transmembranal cercanos al carboxilo terminal, el cual se encuentra orientado hacia el exterior de la membrana plasmática [Zheng y Koo, 2006]. En este caso, la  $\alpha$ -secretasa corta a la APP dentro del dominio del  $\beta$ A, y da lugar al fragmento del amino terminal (APPs $\alpha$ ), y al fragmento del carboxilo terminal (APP-CTF $\alpha$ ) [Zheng y Koo, 2006]. Éste último, a su vez, es cortado por la  $\gamma$ -secretasa para generar al dominio intracelular de la APP (AICD, por sus siglas en inglés) y un producto de 3 kDa denominado p3 [Zheng y Koo, 2006]. Por otro lado, la APP puede ser degradada por la  $\beta$ -secretasa, que rompe a la APP fuera del dominio del  $\beta$ A (esto hace que el  $\beta$ A sólo pueda ser producido cuando la APP es procesada por la  $\beta$ -secretasa) [Reinhard et al., 2005], generando los fragmentos APPs $\beta$  y APP-CDT $\beta$  [Reinhard et al., 2005]. Este último es cortado por la  $\gamma$ -secretasa, dando lugar al AICD y a péptidos de  $\beta$ A de diferentes



tamaños [Zheng y Koo, 2006]. Posteriormente, los péptidos de  $\beta$ A pueden ser acortados por las mismas secretasas hasta obtener fragmentos de 40 aminoácidos ( $\beta$ A<sub>40</sub>) [Selkoe y Hardy, 2016]. No obstante, los cortes en residuos más alejados del amino terminal pueden dar lugar a péptidos de  $\beta$ A de 42 o más aminoácidos ( $\beta$ A<sub>42-n</sub>) [Chávez-Gutiérrez et al., 2013]. Estas especies largas de péptidos de  $\beta$ A son más propensas a agregarse debido a su baja solubilidad respecto a los péptidos de  $\beta$ A<sub>40</sub> [Glabe et al., 2008].



**Figura 3. Procesamiento de la proteína precursora del β amiloide (APP).** La APP presenta el dominio del péptido β amiloide (βA) dentro de su estructura en las regiones extracelular (EC) y transmembranal (TM). La α y β-secretasas realizan cortes en lugares distintos que dan lugar a diferentes productos finales de procesamiento de la APP (APPsα o β, APP-CTFα o β). Nótese cómo la β-secretasa mantiene la integridad de la región del βA, mas no así la α-secretasa. En ambos casos, la γ-secretasa realiza un segundo corte en la APPsα o β en el límite de la región del βA y el dominio intracelular de la APP (AICD), y esto deriva en los péptidos p3 o βA. Tomado de Zheng y Koo, 2006.

La hipótesis actual del βA en la EA plantea que tanto la producción incrementada del βA como la eliminación y degradación reducidas de este péptido favorecen el inicio de la enfermedad varios años antes de que aparezcan los primeros síntomas [Selkoe y Hardy, 2016], lo que relaciona la presencia del βA con la fase prodromal de la EA [McDade et al., 2018]. Un factor que favorece la dishomeostasis del βA es la presencia de ciertas mutaciones en los genes de la APP y de la subunidad catalítica de la γ-secretasa, denominada presenilina-1 [Scheuner et al., 1996]. Estas mutaciones son responsables de la mayoría de los casos familiares de la EA [Scheuner et al., 1996]. No obstante, en los casos de EA esporádica, los péptidos de βA pueden ser producidos en mayor cantidad sin ser degradados eficientemente [Cirrito et al., 2005; Li et al., 2013]. Ya sea por alteraciones genéticas o por factores ambientales, la

dishomeostasis del  $\beta$ A conlleva a su agregación en formas oligoméricas, en protofibrillas, en fibrillas y, finalmente, en placas insolubles en el medio extracelular [Glabe et al., 2008; Zott et al., 2023]. En modelos animales de la EA, se ha demostrado que el  $\beta$ A incrementa la excitabilidad intrínseca de las neuronas, reduce la transmisión y la plasticidad sinápticas y altera los patrones de actividad de los ensambles neuronales [Walsh et al., 2002; Eslamizade et al., 2015; Ittner et al., 2016; Raj et al., 2019; Zott et al., 2019; Busche et al., 2019; Zott et al., 2023]. Dichas alteraciones están correlacionadas con problemas en la memoria dependiente del hipocampo [Busche et al., 2015], en la memoria de trabajo asociada a la corteza cerebral [Eslamizade et al., 2015; Torres-Flores y Peña-Ortega, 2022], así como a una menor masa cerebral y menor densidad neuronal en el hipocampo [Raj et al., 2019]. Los mecanismos subyacentes a estos efectos son diversos y con numerosos mediadores [Kayed y Lasagna-Rees, 2013], pero parecen involucrar, en la mayoría de los casos, componentes que median la transmisión y plasticidad sinápticas y el balance de inhibición y excitación en los circuitos neuronales [Harris et al., 2020], como la expresión y la modulación de los canales de calcio dependientes de voltaje, la captura del glutamato en la hendidura sináptica, la disponibilidad y la activación de receptores NMDA postsinápticos, y la transmisión GABAérgica [Rovira et al., 2002; Snyder et al., 2005; Hsieh et al., 2006; Um et al., 2012; Zott et al., 2019; Garcia-Marin et al., 2009; Sun et al., 2012].

En cuanto a la temporalidad de la expresión del  $\beta$ A, como se mencionó anteriormente, la EA comprende una fase prodrómica de hasta más de dos décadas, caracterizada por un declive cognitivo indetectable, o mínimo, el cual está acompañado de una acumulación gradual del  $\beta$ A en el parénquima cerebral a manera de oligómeros solubles, así como de fibras y placas insolubles [Thal et al., 2002]. Cabe destacar que, en este periodo, la hiperfosforilación y acumulación de la proteína tau también tienen lugar de manera paulatina, y continúan incrementando después del inicio de la enfermedad [Barthélemy et al., 2020], llegando a producirse oligómeros, láminas- $\beta$ , fibrillas y marañas neurofibrilares en el citosol de las neuronas [Friedhoff et al., 2000]. Actualmente, se sabe que las formas tóxicas del  $\beta$ A [McLean et al., 1999; Lue et al., 1999; Shankar et al., 2008; Tomic et al., 2009] y de la proteína P-tau [Hill et al., 2019; Marinkovic et al., 2019] son las solubles (oligómeros). No obstante, las formas insolubles (placas extracelulares del  $\beta$ A, fibrillas y marañas neurofibrilares de la proteína P-tau) son utilizadas como marcadores moleculares histopatológicos para medir el grado de avance de la EA [LaFerla y Oddo, 2005].

Tanto la proteína P-tau como el  $\beta$ A pueden producir alteraciones en la actividad neuronal intrínseca y sináptica de manera independiente [Spires-Jones y Hyman, 2014; Stern et al., 2004; Hill et al., 2019], de tal manera que estas alteraciones pueden explicar algunos síntomas de la enfermedad con base a los efectos separados de [Mondragón-Rodríguez et al., 2018a; 2018b; Hill et al., 2019]. Sin embargo, se ha sugerido que la interacción entre P-tau y el  $\beta$ A puede explicar mejor la patofisiología de la EA en su totalidad [Ittner y Götz, 2011, Harris et al., 2020]. Esta es la hipótesis de la cooperación para la EA [Busche y Hyman, 2020]. Existe considerable evidencia que sugiere el sinergismo de efectos de  $\beta$ A-tau, misma que se puede agrupar en dos categorías que se describen a continuación:

El  $\beta$ A no está asociado individualmente con la evolución de la EA, pero la suma del  $\beta$ A y P-tau sí lo está. Los péptidos del  $\beta$ A pueden estar presentes en cerebros de personas asintomáticas [Thal et al., 2002], y una vez que los síntomas aparecen, la cantidad del  $\beta$ A fibrilar no correlaciona con el grado de evolución de la enfermedad [Hyman et al., 2011]. La aparición y aumento de la proteína tau agregada en formas insolubles, en presencia del  $\beta$ A, marca el inicio y evolución del período clínico de la enfermedad [Price et al., 1991] y, finalmente, el incremento en la cantidad de marañas neurofibrilares sí correlaciona con la evolución de la EA [Qian et al., 2017].

Los efectos deletéreos de la proteína tau son detonados y exacerbados en presencia del  $\beta$ A y viceversa. La hiperfosforilación de tau es inducida *de novo* por el mismo  $\beta$ A [Jin et al., 2011]. Una vez que ya existe una patología de tau previa, su hiperfosforilación y agregación en marañas neurofibrilares es acelerada al coexpresar el  $\beta$ A [Lewis et al., 2001]. Al parecer, el  $\beta$ A requiere de tau para provocar efectos supresores sobre la transmisión y plasticidad sinápticas [Ittner et al., 2010; Roberson et al., 2007; Shipton et al., 2011; Pickett et al., 2019] y producir neurodegeneración [Rapoport et al., 2002]. De manera contrastante, la proteína tau puede favorecer la formación de péptidos de  $\beta$ A [Lei et al., 2012; Jackson et al., 2016], a través de la modulación del tráfico de la APP desde el citoplasma hacia la membrana plasmática [Lei et al., 2012]. Por consiguiente, la supresión de la expresión de la proteína tau puede tener efectos protectores en contra del  $\beta$ A [Roberson et al., 2007; Jin et al., 2011], aunque esto no siempre puede resultar en un rescate hacia las condiciones normales [Busche et al., 2019].

Estos reportes sugieren un mecanismo cooperativo que puede explicar el inicio y el progreso de la patología, según la hipótesis del  $\beta$ A-tau [Busche y Hyman, 2012], pero las consecuencias a escala neuronal y sináptica no se han entendido por completo [Ittner y Götz, 2012; Spires-

Jones y Hyman, 2014; Busche et al., 2016, 2019]. Algunos grupos reportan efectos independientes, opuestos y antagónicos del  $\beta$ A y tau sobre el movimiento y el aprendizaje espacial [Yetman et al., 2016], la actividad neuronal basal [Busche et al., 2019], la transmisión y plasticidad sináptica [Capilla-López et al., 2013], y la expresión de genes asociados a la respiración celular [Barendrecht et al., 2023]. En resumen, los efectos del  $\beta$ A y la patología de tau ejercen efectos independientes que difieren de sus efectos sumados en el cerebro y la memoria. Por consiguiente, en esta tesis se sostiene que el estudio de la interacción  $\beta$ A y tau requiere describir los efectos independientes y sumados, ya que esto permitirá elucidar la mecánica de la EA e identificar mejores blancos y estrategias de tratamiento [ADI, 2018; Kepp et al., 2023].

Las estructuras cerebrales más involucradas en la sintomatología de la EA son la corteza cerebral y la formación hipocampal [Braak y Braak, 1991a], pues ambas estructuras desempeñan funciones cognitivas que están mayormente disminuidas en la enfermedad [Thal et al., 2002]. El presente trabajo se enfoca en la formación hipocampal, por lo que a continuación se describirá la anatomía, conectividad, fisiología y funciones cognitivas del hipocampo, con un énfasis particular en su región CA1 y en la vía temporoamónica [Zemla y Basu, 2017].

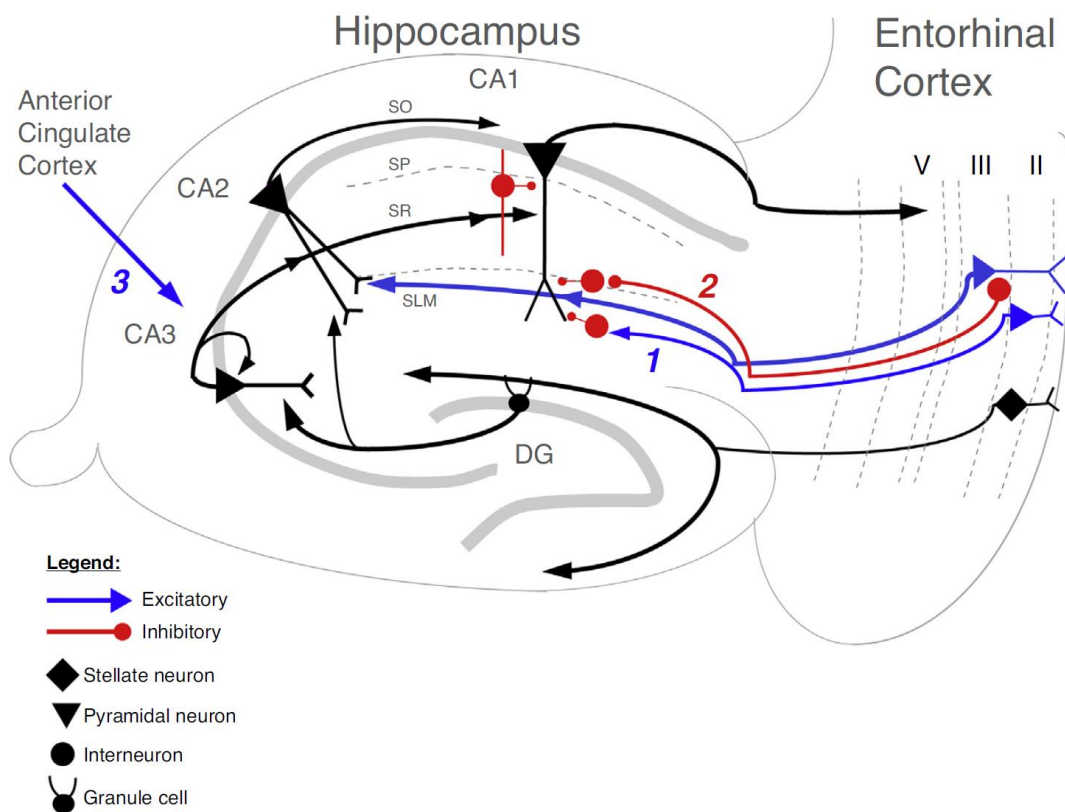
## **1.3 – LA FORMACIÓN HIPOCAMPAL**

### **1.3.1 – Anatomía y conectividad del hipocampo**

La formación hipocampal es un conjunto de estructuras del lóbulo temporal: el hipocampo y el *subiculum* [Witter y Amaral, 2004]. El hipocampo es una estructura alargada y bilateral que en los roedores presenta un eje longitudinal desde la región dorsal o septal (adyacente a los núcleos septales), hacia la región ventral del lóbulo temporal [Witter y Amaral, 2004]. Tanto en roedores como en los primates, el hipocampo se compone de dos subregiones altamente interconectadas: el *cornus amonis* (CA) y el giro dentado (GD). El *cornus amonis* se subdivide en tres partes funcionales: CA1, CA2 y CA3 [Hammond, 2008]. Todas estas subregiones presentan una arquitectura laminada o en capas (desde la capa más superficial a la más profunda): el GD se compone de la capa molecular, la capa de células granulares, la zona subgranular y el *hillus* [Hammond, 2008]. En CA1 y CA2 se reconocen los siguientes estratos: *stratum lacunosum moleculare* (*slm*), *stratum radiatum* (*sr*), *stratum pyramidale* (*sp*) y *stratum*

*oriens* (so) [van Strien et al., 2009]. En CA3 se reconocen las mismas capas con la presencia de una adicional denominada *stratum lucidum* (sl), que se localiza entre los estratos *sr* y *sp* [van Strien et al., 2009].

La conectividad del hipocampo generalmente se describe con base a un circuito lineal trisináptico clásico [Amaral 1993]. Este circuito comienza en la corteza cerebral, específicamente la corteza entorrinal, que envía aferencias hacia el GD y que es la principal entrada de información al hipocampo [Zemla y Basu, 2017]. Esta vía de entrada se denomina vía perforante y está compuesta por aferencias provenientes de las neuronas piramidales de la capa II de corteza entorrinal (CE) que establecen contactos sinápticos con las células granulares [Zemla y Basu, 2017]. Las células granulares, a su vez, relevan la información hacia las neuronas principales de CA3 y CA2 a través de las fibras musgosas [van Strien et al., 2009].



**Figura 4. Conectividad de la formación hipocampal. A.** La entrada de información cortical al hipocampo proviene de la capa II de la corteza entorrinal (CE) y se constituye en la vía perforante, que es recibida por neuronas granulares del giro dentado. Dichas neuronas relevan la información hacia neuronas piramidales de CA3 y CA2 por medio de las fibras musgosas (rojo), conformando así la sinapsis GD-CA2-3. Las neuronas piramidales de CA3 y CA2 proyectan hacia sus homólogas de CA1, las cuales conforman la salida de información, junto con el *subiculum*, hacia neuronas de la capa V de la CE. Existe, además, una entrada cortical de información directa a CA3, CA2 y CA1 sin relevo en el GD, la cual se origina de un subgrupo de las neuronas piramidales de capas II y III de la CE. En azul, se muestran las conexiones excitatorias y en rojo las inhibitorias que no son parte del circuito trisináptico canónico hipocampal. Además de este circuito canónico, algunas neuronas piramidales de la CE (capas II y III) proyectan directamente a neuronas principales de CA1 (1), y algunas neuronas GABAérgicas de CE proyectan hacia interneuronas inhibitorias de CA1 (2). Por otro lado, CA3 recibe influencia excitadora proveniente de la corteza cingulada anterior (3). Editado de Zemla y Basu, 2017.

Posteriormente, las neuronas piramidales de CA3 y CA2 dirigen el flujo de información hacia las neuronas piramidales de CA1 (vía las colaterales de Schaffer) que, junto con el *subiculum*, conforma la principal salida de información de la formación hipocampal [Witter, 2015]. Estas eferencias hipocampales están dirigidas a neuronas piramidales de la capa V de la CE, culminando así el circuito trisináptico hipocampal (CE → GD → CA3/CA2 → CA1) [Zemla y Basu, 2017] (Fig. 4).

Este circuito trisináptico muestra una linealidad en el flujo de información desde la corteza cerebral, a través del hipocampo y de regreso a la misma corteza [Amaral, 1993]. Sin embargo, existen otras vías hipocampales que enriquecen la conectividad hipocampal intrínseca y con otras regiones cerebrales [Witter, 2015]. Por ejemplo, las células del *hillus* que mantienen proyecciones comisurales (interhemisféricas) y asociativas (intrahemisféricas en el eje septo-temporal) hacia las neuronas principales de CA3 y hacia las células granulares [Scharfman & Myers, 2012]. Dentro de CA3 las neuronas principales establecen contactos sinápticos con ellas mismas, formando un circuito auto-asociativo [Guzman et al., 2016]. Por otro lado, CA1 también proyecta hacia el *subiculum* con una conectividad particular: las neuronas principales de CA1 más distales proyectan preferentemente hacia las regiones más proximales del *subiculum* [Amaral et al., 1991]. Además de la vía perforante dirigida hacia el GD, la CE establece proyecciones hacia CA2, CA1 y el *subiculum*, principalmente en sus capas moleculares. A esta vía se le conoce como la vía temporoammónica (TA; Fig. 5) [Witter, 2015]. Más adelante se ahondará sobre esta vía y el circuito de CA1.

### 1.3.2 – Funciones cognitivas del hipocampo

Con base a la conectividad hipocampal y a estudios de lesiones, se han desarrollado modelos que explican las funciones desempeñadas por el hipocampo en la cognición y la conducta [Kesner y Rolls, 2015; Squire, 2009]. En general, se plantea que las principales funciones del hipocampo son la formación, la consolidación y la recuperación de la memoria episódica y la navegación espacial [Squire, 2009; Zemla y Basu, 2017]. En cuanto a la memoria episódica, constantemente el hipocampo recibe y codifica la información multimodal proveniente de la corteza entorrinal, esta corteza integra y releva las entradas de las cortezas sensoriales asociadas a las experiencias [Sugar et al., 2019]. Por lo tanto, constantemente se forman representaciones de las experiencias en el hipocampo y en la corteza cerebral, y estas

representaciones son el sustrato de la memoria episódica y de la navegación espacial [Goode et al., 2020]. En el caso particular de la navegación espacial, el hipocampo funciona generando un mapa cognitivo del mundo exterior, que consiste en ensambles específicos de neuronas cuya actividad codifica el espacio y los objetos físicos [Quiroga et al., 2015; O'Keefe, 1991]. El ejemplo más claro de las representaciones del espacio en el hipocampo son las células de lugar, las cuales son moduladas por la ubicación del sujeto dentro de un contexto [O'Keefe y Dostrovsky, 1971; O'Keefe y Nadel, 1978]. Por el otro lado, la memoria episódica funciona como un sistema de representaciones hipocampales de memorias y experiencias (engramas) que funcionan como índices para la activación consecutiva y específica de más representaciones corticales y subcorticales que codifican aspectos de dichas experiencias pasadas [Cenquizca et al., 2007]. Esta evocación de engramas en todo el cerebro generaría conductas correspondientes y actualizaría o reforzaría dichas memorias episódicas [Teyler y Rudy et al., 2007].

### **1.3.3 – CA1**

#### **1.3.3.1 – Anatomía y conectividad de CA1**

Las neuronas principales de CA1 presentan un soma ovoide o piramidal de alrededor de 15  $\mu\text{m}$  de diámetro ubicado en la capa piramidal, del cual emergen una dendrita apical y de 2 a 8 dendritas basales más delgadas [Vida, 2015]. Las dendritas apicales generalmente se bifurcan en el *sr* y forman un penacho en el *slm* [Vida, 2015]. Las neuronas piramidales de CA1 presentan conexiones recurrentes escasas, por lo que la mayor fuente de excitación comprende (1) las entradas excitadoras desde CA3, denominadas colaterales de Schaffer [Kajiwara et al., 2007], que hacen contactos sinápticos con las dendritas apicales en el *sr*, y (2) la vía temporoamónica (TA) proveniente de las neuronas piramidales de la capa III de la CE cuyas terminales arriban al *slm* [Kohler, 1985; Kajiwara et al., 2007]. Algunas aferencias talámicas provenientes del núcleo reuniens y entradas de la amígdala también arriban a CA1, aunque esta última entrada se limita al hipocampo ventral [Vertes, 2015; Canteras et al., 1992]. Estas entradas excitadoras se limitan a las dendritas y las espinas dendríticas, mientras que las entradas inhibitorias se encuentran principalmente en el soma y el segmento inicial del axón de las neuronas piramidales de CA1 [Megías et al., 2001]. Las neuronas piramidales de CA1 proyectan principalmente a neuronas piramidales del *subiculum* y de las capas V/VI de la CE, a la corteza perirrinal, a la corteza retrosplenial, a la corteza frontal orbital, y a las neuronas

de núcleos subcorticales, como el estriado y la amígdala basolateral [Amaral et al., 1991; Naber et al., 2001; van Strien et al., 2009]. Las interneuronas de CA1 se encuentran distribuidas en todas las láminas y llevan a cabo procesos de inhibición retroalimentada [Blasco-Ibáñez, 1995], inhibición alimentada hacia adelante [Lacaille y Schwartzkroin, 1988] y de desinhibición (inhibición de interneuronas inhibitorias) [Turi et al., 2019], especialmente en *stratum radiatum* y *stratum oriens* que afinan el patrón de actividad de las neuronas principales [Amaral et al., 1991]. Las interneuronas de CA1 presentan una gran diversidad de citoarquitectura, conectividad y propiedades excitables, describiendo hasta 21 tipos [Somogyi y Klausberger, 2018].

### 1.3.3.2 – Fisiología y excitabilidad de las neuronas principales de CA1

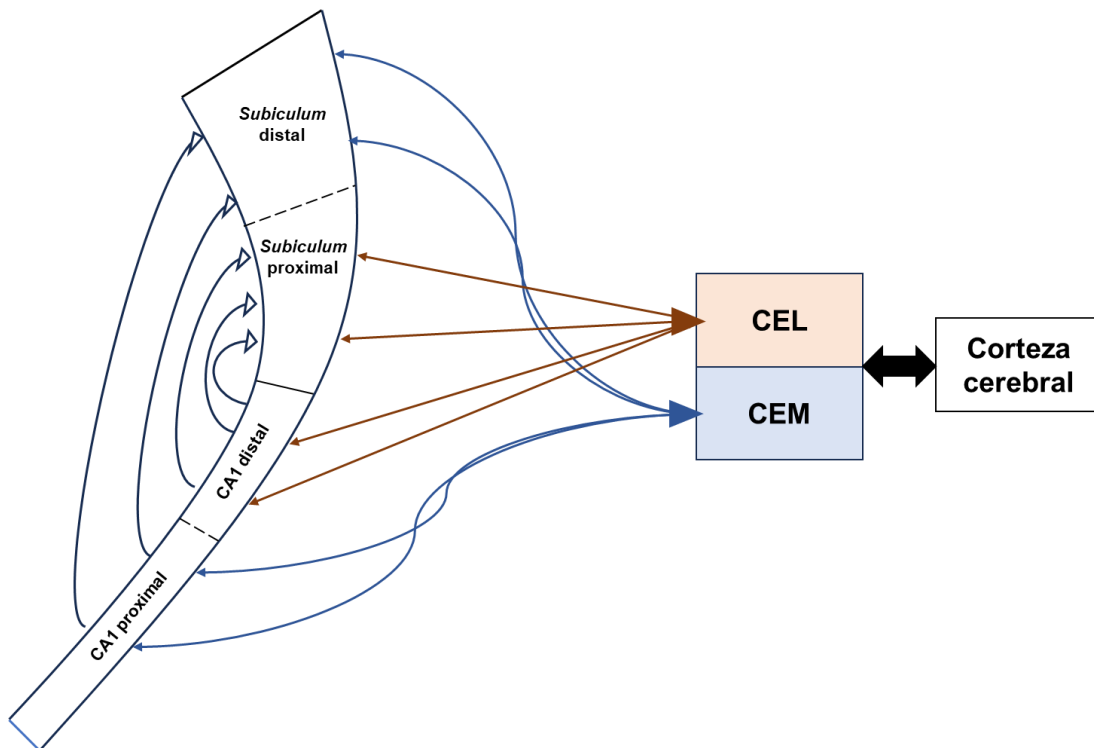
Las neuronas piramidales de CA1 presentan un potencial de reposo entre -55 y -66 mV, una resistencia de membrana de alrededor de 150 MΩ y una constante de membrana de aproximadamente 30 ms [Staff et al., 2000; Tamagnini et al., 2015]. Estas neuronas presentan una rectificación entrante dependiente del tiempo y activada por hiperpolarización denominada “sag” [Booth et al. 2016b]. Las neuronas piramidales de CA1 mantienen un patrón de disparo regular con una acomodación de 2 veces la frecuencia inicial de un tren evocado [Knauer et al., 2019]. Alternativamente, estas neuronas son capaces de generar ráfagas de disparo *in vivo* e *in vitro*, que al son generadas intrínsecamente o bien, son inducidas por las entradas excitadoras sincronizadas [Azouz et al. 1996; Golding et al., 1998, 1999]. Esta entrada sincrónica puede originarse por la convergencia de las aferencias de CA3 y de la CE en distintos niveles del árbol dendrítico en el *sry* y el *slm* [van Strien et al., 2008]. El acople funcional entre las propiedades intrínsecas, como la resistencia de membrana y el sag, permiten que las neuronas principales de CA1 tengan una preferencia para resonar su potencial de membrana a las frecuencias de la banda theta (4-7 Hz) en respuesta a las entradas sinápticas [Hu et al., 2002]. Una de las sinapsis que participa en establecer el ritmo theta en CA1 es la vía TA [Fernández-Ruiz et al., 2017].

### 1.3.3.3 – Vía temporoammónica

La vía TA fue inicialmente reconocida como un conjunto de axones provenientes de la CE que no atravesaban el *subiculum* de la misma manera que el resto de los axones de la vía perforante, sino que se limitaban al *so* de CA1, CA2 y CA3 [Witter, 2015]. A partir de esta



lámina, los axones atraviesan el resto de las capas hasta llegar al *slm* de CA1, CA2 y CA3 [Witter, 2015]. Aunque algunos axones pueden atravesar todas las láminas y establecer contactos sinápticos con las dendritas basales de so más próximas al soma de las neuronas principales, el blanco principal de esta vía son las dendritas apicales del *slm* [Witter, 2015]. Hay una lógica de conectividad entre la CE y CA1/*subiculum* que está basada en el patrón de aferencias de CA1 hacia el *subiculum* descrita previamente: La porción lateral de la CE (CEL) proyecta hacia la porción distal de CA1 y a la porción proximal del *subiculum* [Naber et al., 2001]. Asimismo, la porción medial de la CE (CEM) proyecta hacia la región proximal de CA1 y a la porción distal del *subiculum* (ver Fig. 5; Witter, 2000). Es importante mencionar que las proyecciones de CA1 y el *subiculum* hacia la CE presentan el mismo arreglo espacial que la vía TA, por lo que la CEM y la CEL reciben retroalimentación directamente de las mismas regiones a las que proyectan (Fig. 5) [Naber et al., 2001]. Alrededor del 95% de las sinapsis de la vía TA son asimétricas y el 92% hacen contacto en las espinas dendríticas de las neuronas principales [Witter, 2015; Desmond et al., 1994].



**Figura 5. Conectividad de los sitios de salida de la formación hipocámpal.** CA1 y el *subiculum* son las principales regiones de salida del hipocampo y se subdividen en porciones proximales y distales. Las regiones distal y proximal de CA1 proyectan hacia las porciones proximal y distal del *subiculum*, respectivamente; formando así un patrón de semicírculos concéntricos paralelos. Asimismo, la región CA1 distal y el *subiculum* proximal establecen conexiones recíprocas con la corteza entorrinal lateral (CEL), mientras que a región CA1 proximal y el *subiculum* distal mantienen conexiones recíprocas con la corteza entorrinal medial (CEM). Las proyecciones desde la CE hacia el subiculum y CA1 forman parte de la vía temporoammónica (TA). La CE, a su vez, recibe y envía proyecciones desde y hacia la corteza cerebral.

#### **1.3.3.4 – Aspectos computacionales y cognitivos de la red de CA1**

La conectividad sináptica y las propiedades electrofisiológicas de las neuronas principales de CA1 constituyen un sistema que compara e integra la información proveniente de manera directa de la CE (vía TA) junto con aquella que ha sido procesada previamente en el GD y CA3 (colaterales de Schaffer) [Kajiwara et al., 2007], para establecer patrones de actividad de salida que son retroalimentados hacia la CE y la corteza cerebral [Naber et al., 2001; Cenquizca et al., 2007]. Esta salida de información de regreso a la corteza cerebral puede instalar o reiterar la actividad en circuitos corticales que representan memorias episódicas [Goode et al., 2020]. El papel integrador y retroalimentador de CA1 en el circuito hipocampal y hacia los circuitos corticales son la base de su importancia para la consolidación y la recuperación de las memorias episódicas que han sido previamente codificadas [Kesner y Rolls, 2015; Lee y Kesner, 2004; Jerman et al., 2006; Brun et al., 2008]. De hecho, las modificaciones farmacológicas y las lesiones focalizadas a CA1 y la vía TA, respectivamente, pueden reducir la recuperación de la memoria espacial [Vago et al., 2007; Lee y Kesner, 2004].

### **1.4 – ANTECEDENTES**

#### **1.4.1 – Alteraciones en el modelo rTg4510**

La identificación de mutaciones del gen MAPT (siglas en inglés para *membrane associated protein tau*) asociadas a casos familiares de taupatías ha permitido el desarrollo de animales transgénicos que modelan algunas de las alteraciones y síntomas de estas enfermedades [Götz et al., 2018]. Uno de estos modelos, la línea de ratones rTg4510, expresa el gen humano de la proteína tau con la mutación P301L asociada a la demencia frontotemporal con parkinsonismo familiar [SantaCruz et al., 2005; Hutton et al., 1998]. En los ratones rTg4510, dicha variante de tau se expresa mayoritariamente en la corteza cerebral e hipocampo, debido a que su expresión se regula bajo el control del promotor de la cinasa II de calcio-calmodulina (CaMK-II) [SantaCruz et al., 2005]. En estos ratones transgénicos, la variante de tau humana ya se encuentra hiperfosforilada desde el día 7 postnatal y su expresión aumenta hasta 13 veces más que la expresión de la tau murina endógena a partir de los 2.5 meses de edad [Ramsden et al., 2015]. Desde esta misma edad también se detectan las primeras marañas neurofibrilares cuya complejidad y tamaño incrementan en función de la edad [Ramsden et al.,

2015]. Las primeras marañas neurofibrilares en estos ratones están correlacionadas con el deterioro cognitivo, las alteraciones neurofisiológicas en el hipocampo, y la muerte neuronal en CA1 [SantaCruz et al., 2005; Ramsden et al., 2005]. Crimins et al. (2012) encontraron aumentos en la excitabilidad de las neuronas piramidales de la corteza premotora en este modelo desde los 4 meses de edad. No obstante, Busche et al (2019) encontraron una menor actividad, medida por cambios en el calcio intracelular, en las neuronas de las capas 2/3 de la neocorteza, en este mismo modelo transgénico, aunque en una edad posterior (8.4 meses). En la CE medial se han encontrado alteraciones en las propiedades intrínsecas y poblacionales de las neuronas estrelladas de los ratones rTg4510 de 7 a 8 meses de edad, así como una disminución en la cantidad de neuronas [Booth et al., 2016a]. Las propiedades electrofisiológicas de las neuronas piramidales de CA1 de los ratones rTg4510 presentan una menor excitabilidad desde el primer mes de edad, que es causada por un umbral de disparo más despolarizado [Hatch et al., 2017]. Además, la transmisión y la plasticidad sináptica a largo plazo en la sinapsis CA3-CA1 se encuentran reducidas desde los 8 meses de edad [Dalby et al., 2014; Gelman et al., 2018; Hoover et al., 2010]. Estas alteraciones están relacionadas con una disminución en la facilitación por pulsos pareados [Gelman et al., 2018]. Sin embargo, no se cuentan con estudios que indaguen la funcionalidad de la sinapsis de la vía TA en este modelo de taupatía. Las células de lugar de la región CA1 de estos ratones rTg4510 exhiben una menor precisión de disparo en sus respectivos campos de lugar [Cheng et al., 2013]. Además, la codificación espacial y la de velocidad, mediada por las neuronas de la CE es menos precisa en estos ratones desde los 6 meses de edad [Ridler et al., 2020]. En resumen, el modelo rTg4510 expresa algunas alteraciones cognitivas y electrofisiológicas desde los 2.5 meses de edad, y otras se desenmascaran gradualmente hasta los 8-10 meses. Sin embargo, se desconocen las alteraciones en la excitabilidad intrínseca de las neuronas principales de CA1 de manera detallada, y el estado de la transmisión y de la plasticidad sináptica de la vía TA en este modelo.

#### **1.4.2 – Relación tau- $\beta$ -amiloide**

Algunos estudios que modelan la interacción del  $\beta$ A y la proteína tau generalmente utilizan animales que los coexpresan mediante transgenes [Roberson et al., 2007; Ittner et al., 2010, 2017; Yetman et al., 2016; Angulo et al., 2017; Busche et al., 2019; Zott et al., 2019; Capilla-López et al., 2023; Barendrecht et al., 2023]. Algunos de estos estudios han evidenciado que

el  $\beta$ A y la proteína tau ejercen efectos sinérgicos sobre la fisiología neuronal y la memoria [Ittner et al., 2010; 2016; Busche et al., 2019; Harris et al., 2020]. Por un lado, el  $\beta$ A tiene efectos excitadores en los circuitos corticales [Busche et al., 2008, 2015, 2016; Zott et al., 2019] y, por el otro lado, la proteína tau induce un perfil hipoexcitable que, a su vez, puede revertirse al reducir su expresión [Busche et al., 2019]. Sin embargo, cuando ambos péptidos son coexpresados, la hipoactividad es predominante e irreversible en las neuronas corticales [Busche et al., 2019]. Observaciones similares se han descrito para los circuitos de la CE y del hipocampo [Angulo et al., 2017], sugiriendo que la interacción entre el  $\beta$ A y la proteína tau. Por el otro lado, algunos reportes describieron consecuencias independientes contrastantes que no necesariamente se observaron cuando  $\beta$ A y tau eran coexpresados al mismo tiempo [Yetman et al., 2016; Capilla-López et al., 2023; Barendrecht et al., 2023], destacando efectos antagónicos sobre la expresión de genes asociados a la función mitocondrial [Barendrecht et al., 2023], plasticidad sináptica a corto y largo plazo [Capilla-López et al., 2023] y sobre la memoria espacial [Yetman et al., 2016]. Como se mencionó, con base a este conjunto de antecedentes, en esta tesis se plantea el estudio de los efectos independientes y sumados del  $\beta$ A y la patología de tau, con el objetivo de identificar efectos sinérgicos y antagónicos sobre la actividad neuronal y la memoria espacial.

#### **1.4.3 – Estabilizadores del citoesqueleto como tratamiento para taupatías**

Como se describió anteriormente, la estabilización del citoesqueleto es esencial para las funciones y la supervivencia neuronal [Cartelli et al., 2021]. Este hecho ha justificado la investigación y el desarrollo de tratamientos farmacológicos dirigidos a la modulación de la dinámica del citoesqueleto [Michaelis, 2006; Ballatore et al., 2012; Field et al., 2014]. Lo anterior, con la premisa de que algunas enfermedades neurodegenerativas, especialmente las taupatías, son causadas por la inestabilidad de los microtúbulos neuronales [Dubey et al., 2015]. Por lo tanto, algunos fármacos denominados “agentes estabilizadores del citoesqueleto” (AEC) podrían suplir la falta de la proteína tau funcional en las taupatías [Ballatore et al., 2012]. Recientemente, se ha descrito que el  $\beta$ A produce la deslocalización de la proteína tau hacia regiones somatodendríticas [Zempel y Mandelkow, 2012], lo que está correlacionado con la despolimerización y desorganización del sistema de microtúbulos y un menor transporte axonal de las mitocondrias [Zempel y Mandelkow, 2012; Guo et al., 2020]. Lo anterior, abre una línea de investigación sobre el papel del citoesqueleto en la patología de la EA. Entre los efectos

terapéuticos de los AEC, se han descrito efectos neuroprotectores del paclitaxel ante el daño neuronal producido por el  $\beta$ A en cultivos de neuronas [Michaelis et al., 1998; Michaelis et al., 2004]. Además, Zhang et al. (2005) demostraron que el paclitaxel también reduce la progresión del daño neuronal en el modelo PrP-Tau (con el transgén de la proteína tau humana expresado con el control del promotor del gen que codifica para la proteína priónica -PrP-). La epotilona-D (Epo-D) es un AEC con efectos similares al paclitaxel que, además, puede atravesar la barrera hematoencefálica [Wang et al., 2005]. Se han reportado resultados protectores de la Epo-D sobre los microtúbulos del nervio óptico [Brunden et al., 2010] y los de las neuronas piramidales del hipocampo [Zhang et al., 2012] de los ratones que expresan la proteína tau hiperfosforilada (debido a que presentan el transgén de la proteína tau humana con la mutación P301S) [Zhang et al., 2012]. Recientemente, este modelo transgénico ha servido para evaluar la efectividad de otros AECs con resultados positivos [Makani et al., 2016; Zhang et al., 2018]. La Epo-D también revierte la desorganización del sistema de microtúbulos [Zempel y Mandelkow et al., 2012] y la disrupción del transporte axonal rápido causadas por el  $\beta$ A [Guo et al., 2020].

A pesar de que los AECs parecen tener un efecto positivo en modelos de taupatías [Michaelis et al., 1998; Zhang et al., 2012; 2018; Brunden et al., 2010], también existen reportes sobre sus efectos negativos en condiciones normales [Wefel et al., 2012; Atarod et al., 2015; Golovyashkina et al., 2015; Ferris et al., 2019] y patológicas [Clark et al., 2018]. Sin embargo, un reporte reciente sugiere que los AEC pueden exacerbar la patología de tau cuando el  $\beta$ A también está presente en el cerebro [Qu et al., 2017]. Por consiguiente, en esta tesis se sostiene que es necesario estudiar y comparar los efectos netos de los AEC en distintas condiciones fisiológicas y patológicas para determinar las consecuencias protectoras y deletéreas y elucidar los mecanismos subyacentes en cada condición. Las consecuencias de los AEC sobre la excitabilidad neuronal aún no están comprendidas del todo. Previamente se ha demostrado que la Epo-D revierte los cambios del umbral de disparo y la posición del segmento inicial del axón (SIA, que es la región donde se generan los potenciales de acción) causados por la proteína P-tau en las neuronas piramidales de CA1 [Hatch et al., 2017]. No obstante, no se ha realizado una exploración más exhaustiva sobre los cambios en las propiedades eléctricas.

En el presente proyecto se planteó analizar los efectos de un AEC sobre la excitabilidad neuronal y la cognición en condiciones fisiológicas y patológicas que modelan la EA.

## 1.5 – RELEVANCIA

Se espera que la población mundial de pacientes con la EA se triplique para el año 2050 (de 48 en 2018 a 150 millones en 2050) [ADI, 2018]. Lo anterior exacerbará el gasto público dedicado a los tratamientos de los pacientes con EA que, en el 2018, se estimó en poco más de 800 mil millones de dólares anuales a nivel mundial [ADI, 2018]. Esto ubica a la EA como la enfermedad deshabilitante (que impide la autonomía social y económica de los pacientes) más cara en la actualidad [ADI, 2015]. Debido a la gran cantidad de tratamientos fallidos que fueron desarrollados en los últimos 20 años y que han apuntado solamente a aliviar los síntomas, se ha sugerido fuertemente entender los determinantes moleculares y celulares neurofisiológicos que causan el desarrollo temprano de la EA para diseñar un tratamiento más integral y eficiente [ADI, 2018]. El modelo transgénico de taupatía rT4510 reproduce de manera muy similar el fenotipo de algunas taupatías, ya que presenta las alteraciones estructurales, fisiológicas y cognitivas asociadas a la proteína tau observadas en casos familiares. Además, como se describió previamente, este modelo permite evaluar la interacción de la proteína tau con  $\beta$ A y los posibles efectos protectores de un AEC a nivel celular y conductual. Debido a la disyuntiva sobre los reportes de los efectos negativos de los AEC, se necesitan conocer los mecanismos celulares del  $\beta$ A y P-tau y los correlatos conductuales de estos fármacos en condiciones fisiológicas normales y patológicas. También es importante identificar los efectos de los AEC debido a que pueden ejercer efectos duales sobre la memoria de individuos sanos [Uchida et al., 2014], y estos efectos duales pueden ser potenciadores o deletéreos. Esto permitirá establecer las precauciones necesarias en su implementación como tratamientos contra la EA y otras enfermedades cerebrales en pruebas clínicas futuras.

## 2 – HIPÓTESIS

El  $\beta$ A y la proteína P-tau cooperan para producir daño neuronal y cognitivo en la EA. Por lo tanto, las alteraciones neurofisiológicas y cognitivas hipocampales presentes en un modelo transgénico de taupatía se exacerbarán por el insulto con el  $\beta$ A.

La desestabilización del citoesqueleto neuronal es uno de los mecanismos de acción del  $\beta$ A y de la proteína P-tau; por lo tanto, un tratamiento farmacológico para la estabilización del citoesqueleto en el modelo transgénico de taupatía/ $\beta$ A tendrá un efecto neuroprotector.

Los AEC producen efectos secundarios negativos con mayor frecuencia en los sujetos sanos respecto a los que modelan la EA. Los AEC tienen efectos protectores sobre la memoria en modelos de la EA. Por lo tanto, la Epo-D producirá efectos negativos sobre los ratones WT y efectos protectores en los ratones con la patología por la proteína P-tau/ $\beta$ A.

## 3 – OBJETIVOS

- I. Describir las alteraciones en las excitabilidad intrínsecas y sinápticas de las neuronas piramidales de CA1, así como en la memoria espacial dependiente del hipocampo, así como en su flexibilidad, en el modelo rTg4510.
- II. Analizar los cambios de estas alteraciones en presencia del  $\beta$ A.
- III. Analizar los cambios de estas alteraciones en presencia de la epotilona-D.

## 4 – METODOLOGÍA

### 4.1 – ANIMALES

Los procedimientos fueron aprobados por el comité de bioética del Instituto de Neurobiología. Se utilizaron ratones silvestres (*wild type*, WT; C57BL6) y ratones rTg4510 (Tg; The Jackson Laboratory, cepa 024854), de 5 a 6 meses y de ambos sexos. Los ratones Tg sobreexpresan la proteína tau humana con la mutación P301L bajo el control del promotor de la cinasa II dependiente de la calcio-calmodulina alfa (CaMKII $\alpha$ ) [SantaCruz et al., 2005; Mayford et al., 1993]. En este rango de edad ya hay hiperfosforilación de la proteína tau y deposición de la proteína P-tau en el parénquima cerebral, así como deterioro cognitivo [SantaCurz et al., 2005; Ramsden et al., 2005]. Los ratones se mantuvieron bajo resguardo en condiciones de

temperatura y humedad constantes ( $22 \pm 1$  ° C), en un ciclo de luz-oscuridad de 12 h y con alimento y agua *ad libitum*.

## **4.2 – INYECCIÓN INTRACEREBROVENTRICULAR**

Los animales pasaron por un protocolo experimental secuenciado (Fig. 6) que inició con la inyección intracerebroventricular del  $\beta$ A o del vehículo (medio F12). Para ello, los ratones fueron anestesiados con ketamina/xilacina (80/20 mg/kg, respectivamente). La anestesia se mantuvo con sevoflurano al 0.5% durante toda la cirugía. Una vez que los animales no tuvieron reflejo al dolor, fueron montados en un soporte estereotáxico y se realizó un trépano en el cráneo con las siguientes coordenadas: mediolateral = 1 mm; antero-posterior = 0.2 mm. Posteriormente, se introdujo una cánula (dorso-ventral = 2.8 mm) acoplada a una jeringa Hamilton y a una bomba de microinyección. Una vez alcanzada la profundidad deseada en el ventrículo lateral, se inyectó la solución con oligómeros del  $\beta$ A (5  $\mu$ L con 500 pmoles) [Peña et al., 2010; Balleza-Tapia et al., 2010] o el vehículo (5  $\mu$ L de medio F12) a una velocidad de 0.5  $\mu$ L/min [Alcantara-Gonzalez et al., 2019]. Después de la cirugía, los ratones fueron inyectados con Meloxicam (2 mg/kg). Se esperaron 2 semanas para la recuperación de los animales previa a las pruebas conductuales.

## **4.3 – INYECCIÓN DE LA EPOTILONA-D**

Después de las dos semanas de recuperación, los ratones fueron habituados al contexto (cuarto de conducta) y al experimentador durante 2 días, en 2 sesiones de 10 minutos por día (Fig. 6). Al final del segundo día de habituación, los ratones recibieron la primera dosis intraperitoneal de Epo-D (2 mg/kg) o del vehículo (dimetilsulfóxido, DMSO; 2 mL/kg). La administración de la Epo-D o del vehículo se repitió cada semana [Brunden et al., 2010]. En algunos experimentos, la Epo-D fue disuelta en el líquido cefalorraquídeo (100 nM) para analizar sus efectos sobre las propiedades electrofisiológicas *in vitro*.

## **4.4 – ANÁLISIS DE LA CONDUCTA**

### **4.4.1 – Prueba de campo abierto**

Al día siguiente de la habituación, se introdujo a los animales en el centro de un campo (Fig. 6) para evaluar la ambulación, exploración espacial y conductas asociadas a la ansiedad



[Gould et al., 2009]. El campo fue cuadrado (60 x 60 x 30 cm) de acrílico opaco (3600 cm<sup>2</sup>). Se grabó en video el comportamiento espontáneo de los animales en este campo durante 5 min. De las videograbaciones se midieron la distancia, la velocidad promedio y la desviación estándar de la velocidad (VelSD) de ambulación [Salgado-Puga y Peña-Ortega et al., 2015]. Además, en el campo abierto se delimitó un espacio cuadrado central de 30 x 30 cm, el cual representa el 25% del área total del campo (900 cm<sup>2</sup>), con el objetivo de medir el tiempo en el que el ratón permaneció en el centro y en la periferia del campo. Con estos datos se calculó el índice de enriquecimiento (IE):

$$IE = \frac{25 \%}{\% \text{ tiempo}}$$

En donde “25%” es la proporción del área del centro respecto al área total del campo. El % *tiempo* es el porcentaje del tiempo que el ratón permaneció en el centro respecto al tiempo total de exploración (5 min). Los valores del IE menores a la unidad indican una exploración preferencial de la periferia del campo [Prut y Belzung, 2003].

#### 4.4.2 – Prueba de Hebb-Williams

Al día siguiente de la prueba de campo abierto, se llevó a cabo la prueba de Hebb-Williams modificada para medir la memoria espacial y la flexibilidad cognitiva de los ratones (Fig. 6) [Lee y Kesner et al., 2004; Jerman et al., 2006; Vago et al., 2007; Méndez-Salcido et al., 2022; Torres-Flores y Peña-Ortega, 2022]. Los ratones fueron primeramente sometidos a un período de entrenamiento de tres días. Este entrenamiento consistió en el recorrido de un corredor lineal que conecta los compartimentos inicial y final del laberinto, siendo este último el que contenía la recompensa (una hojuela de maíz pequeña), este entrenamiento se repitió 10 sesiones por día. En cada sesión se colocó un ratón en el compartimento inicial para que recorriera el camino delimitado hacia el compartimento final y consumiera la recompensa. Después de completar las 10 sesiones diarias, se les dio alimento *ad libitum* a los ratones por 6 h, para después privarlos del mismo por 18 h (ciclo 6-18 h de alimento y ayuno). Los animales que no alcanzaran la recompensa en menos de 5 s durante las últimas cinco sesiones del tercer día del entrenamiento fueron descartados (2 ratones, que representan el 3.2% del total). Posterior a los tres días del entrenamiento, la prueba consistió en resolver el laberinto #4 de la prueba de Hebb-Williams [MacLeod et al., 2010; Méndez-Salcido et al., 2022]. Se presentó este laberinto 10 veces por día durante tres días (D1-3, Fig. 5). Al cuarto día (D4) se cambió

de laberinto [#9 de la prueba de Hebb-Williams, MacLeod et al., 2010] y se presentó 10 veces ese día. Las sesiones fueron grabadas en video para su análisis posterior. Se midieron el tiempo del recorrido, la cantidad de errores cometidos (cantidad de cruces de las líneas punteadas del laberinto en la Fig. 6), la distancia recorrida, la velocidad y la VelSD para cada sesión. Asimismo, se calcularon los índices de codificación (IC), de recuperación (IR) y de flexibilidad (IF) [Lee & Kesner, 2004], como sigue:

$$IC = Err_{D1-I} - Err_{D1-F} \quad IR = Err_{D1-F} - Err_{D2-I} \quad IF = Err_{D3-F} - Err_{D4-I}$$

En donde:

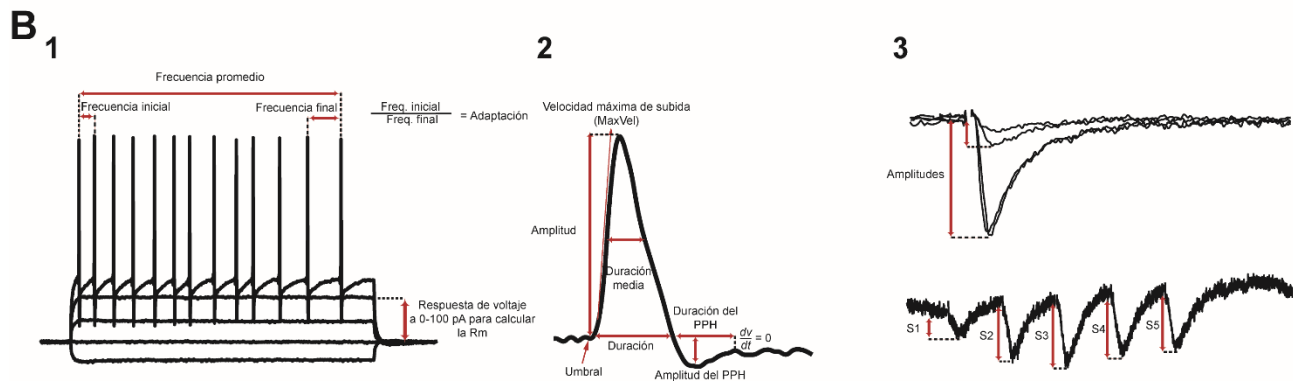
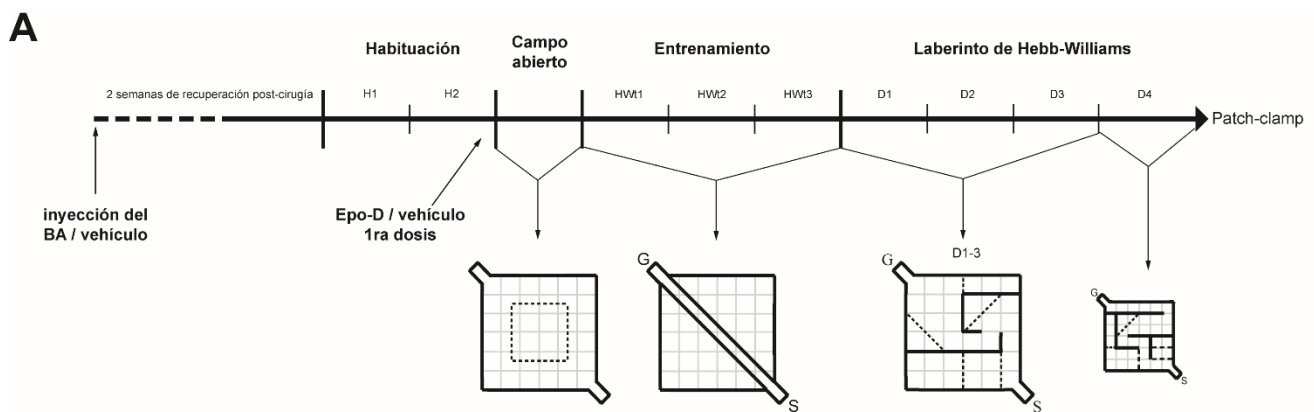
$Err_{D1-I}$  es el promedio de errores de las primeras cinco sesiones del D1

$Err_{D1-F}$  es el promedio de errores de las últimas cinco sesiones del D1

$Err_{D2-I}$  es el promedio de errores de las primeras cinco sesiones del D2

$Err_{D3-F}$  es el promedio de errores de las últimas cinco sesiones del D3

$Err_{D4-I}$  es el promedio de errores de las primeras cinco sesiones del D4



**Figura 6. Protocolo experimental.** **A**, Los sujetos fueron sometidos a un protocolo experimental que consistió, en orden secuencial: la inyección del  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ A) o su vehículo, la inyección de la epotilona-D (Epo-D) o su vehículo, la prueba de campo abierto, la prueba de Hebb-Williams (HW) y el registro de *patch-clamp*. El campo abierto consistió en un espacio cuadrado de 60 x 60 cm, el cual cuenta con una región central de 30 x 30 cm (línea punteada) para discriminar las regiones periféricas y las centrales. En este mismo contexto se llevó a cabo el entrenamiento en un corredor lineal para la prueba de HW (días HWt1-3), así como los dos laberintos subsiguientes (días D1-D3 y D4; respectivamente). El corredor lineal y los laberintos contienen dos compartimentos en sus extremos opuestos: uno inicial (S) y otro final (G). Los laberintos se componen de barreras físicas (líneas continuas) y líneas de error (líneas punteadas). **B**, en registros electrofisiológicos de las células piramidales de CA1 se midieron sus propiedades pasivas y activas, entre las que se incluyen: la resistencia de membrana ( $R_m$ ), la frecuencia de disparo, la adaptación (1), el umbral de disparo, la amplitud, la velocidad máxima de subida y la duración del potencial de acción, así como la amplitud y la duración del postpotencial hiperpolarizante (PPH) (2). Asimismo, se midieron las propiedades de la sinapsis temporoparamétrica (3) mediante protocolos de curva entrada-respuesta (trazos superiores) y trenes de plasticidad a corto plazo (trazo inferior). Las respuestas postsinápticas en los trenes se nombraron según su orden de aparición (S1-S5).

---

#### 4.5 – REGISTROS DE *PATCH CLAMP*

Después de las pruebas en el laberinto de HW, los ratones fueron utilizados para obtener rebanadas de cerebro y llevar a cabo registros electrofisiológicos con la técnica de *patch-clamp* en la configuración de célula entera. Para ello, los ratones fueron anestesiados con pentobarbital (100 mg/kg) y, después de corroborar la ausencia de reflejo al dolor, fueron perfundidos con 20 mL de solución fisiológica baja en sodio sustituido con sacarosa que contenía (en mM): 25 glucosa, 75 sacarosa, 2.5 KCl, 73 NaCl, 7 MgCl<sub>2</sub>, 0.5 CaCl<sub>2</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub>, a 4 °C y saturada con carbógeno (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>). Después, los animales fueron decapitados, su cerebro fue extraído y sus hemisferios rápidamente separados. Con ayuda de un vibrotomo, los hemisferios se cortaron en rebanadas horizontales de 350  $\mu$ m de espesor con 10° de inclinación medio-lateral para asegurar la integridad de la conectividad sináptica hipocámpal [Bischofberger et al., 2006]. Las rebanadas fueron trasladadas a una cámara de incubación con solución Ringer modificada con bajo calcio y alto magnesio que contenía (en mM): 10 glucosa, 2.5 KCl, 125 NaCl, 6 MgCl<sub>2</sub>, 0.5 CaCl<sub>2</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub>, 1.25 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, a 34 °C y saturada con carbógeno durante 1 h para su recuperación. Después de este tiempo de recuperación, las rebanadas se utilizaron para el registro electrofisiológico [Méndez-Salcido et al., 2022]. Las rebanadas fueron transferidas a una cámara de registro donde fueron mantenidas con un flujo constante de 3.5 mL/min de solución Ringer normal, que contenía (en mM): 10 glucosa, 2.5 KCl, 125 NaCl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub>, 1.25 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, a 34 °C y saturada con carbógeno. Para los registros, se fabricaron microelectrodos de capilares de borosilicato (Sutter Instrument) con una resistencia de 4-8 M $\Omega$  que fueron llenados con una

solución interna de registro que contenía (en mM): 120 gluconato de potasio, 2.5 KCl, 4 NaCl, 10 HEPES, 0.5 EGTA, 1 MgATP, 0.3 Na<sub>2</sub>GTP, con pH = 7.2 ajustado con KOH (1 M). La identificación de las diferentes láminas de la región hipocampal CA1 y el posicionamiento de los electrodos de registro y estimulación se realizaron con ayuda de un microscopio de contraste de interferencia diferencial infrarroja (Fig. 13). Asimismo, la identificación de las neuronas piramidales de CA1 se realizó con base a su ubicación anatómica dentro de la rebanada, su morfología y sus propiedades intrínsecas de membrana: resistencia de membrana ( $R_m$ ) entre 100-250 M $\Omega$ , constante de membrana de 10 a 20 ms y una frecuencia de disparo regular de entre 5-30 Hz con estimulaciones por debajo de los 200 pA [Knauer et al., 2019; Peña et al., 2010; Balleza-Tapia et al., 2010; Tamagnini et al., 2015]. Mediante el protocolo de curva corriente-voltaje (IV) se obtuvieron las familias de respuestas de voltaje para calcular las propiedades pasivas y activas de la membrana de las neuronas (Fig. 9). Una vez establecida la configuración de célula entera, se midieron las propiedades intrínsecas en fijación de corriente. Para las propiedades pasivas se utilizó el protocolo de curva IV, que consistió en aplicar pulsos cuadrados de corriente hiperpolarizante y despolarizante de 1 s de duración, desde -200 hasta 100 pA en pasos crecientes de 25 pA, para obtener las respuestas correspondientes en voltaje [Borel et al., 2013]. Para las propiedades activas, se empleó el protocolo de curvas IF [Dalby et al., 2014], en donde se administraron pulsos cuadrados despolarizantes de 1 s de intensidad creciente (0 a 375 pA, en pasos de 25 pA) para evocar trenes de potenciales de acción [Borel et al., 2013]. Las propiedades intrínsecas medidas fueron las siguientes:

- El potencial de reposo ( $V_m$ ), medido justo después de establecer la configuración de célula entera y sin corriente de mantenimiento.
- La resistencia de entrada ( $R_m$ ), como la pendiente de la relación corriente-voltaje de la curva IV tomando en cuenta los valores de corriente 0-100 pA (Fig. 6B<sub>1</sub>).
- La constante de membrana ( $\tau$ ), obtenida por el ajuste exponencial de la fase de subida del voltaje por la estimulación con un pulso cuadrado de corriente de 25 pA.
- La rectificación (*sag*), como el cociente del pico de la respuesta en voltaje por la estimulación hiperpolarizante de -200 pA dividido entre el voltaje de la fase estacionaria al final de la estimulación.

- El umbral de disparo, considerado como el primer punto del voltaje de membrana en presentar una derivada igual o mayor a 20 mV/ms [Hatch et al., 2017]. Este punto también se consideró como el inicio del PA (Fig. 6B<sub>2</sub>).
- La reobase, como la intensidad mínima de estimulación para evocar 1 potencial de acción (PA).
- La pendiente máxima de subida (MáxDev), que es el valor máximo de la derivada de la fase ascendente del PA (Fig. 6B<sub>2</sub>).
- La amplitud del PA, que abarcó desde el umbral de disparo hasta su pico.
- La duración total del PA, que abarcó desde el inicio del PA hasta el punto de la fase descendente del PA donde el voltaje alcanzara de nuevo el valor del umbral de disparo (Fig. 6B<sub>2</sub>).
- La duración media del PA, que fue medida a la mitad de su amplitud máxima (Fig. 6B<sub>2</sub>).
- La amplitud del postpotencial hiperpolarizante (PPH), que comprendió desde el final del PA hasta el valor más negativo del postpotencial.
- La duración del PPH, que se midió desde el punto final del PA hasta el punto donde el potencial de la membrana retomara una pendiente igual a 0 mV/ms.
- La frecuencia de disparo inicial y promedio, las cuales se obtuvieron a partir de las curvas I/F. La frecuencia inicial se midió en el primer par de PAs. La frecuencia promedio se calculó considerando las frecuencias inmediatas de todos los pares de PAs del tren.

Después de realizar las curvas I/V e I/F a cada célula, se procedió a analizar la actividad sináptica espontánea mediante el registro de las corrientes postsinápticas espontáneas (sPSCs, por sus siglas en inglés). Para esto se registró la actividad basal en fijación de voltaje durante 5 min. Las sPSCs fueron detectadas como eventos que (1) sobrepasaran un umbral de 3.5 veces la desviación estándar del registro, (2) tuvieran una bajada lineal y (3) presentaran una subida exponencial (Fig. 5B<sub>3</sub>). Se midieron la amplitud, la frecuencia promedio y el coeficiente de variación de todos los eventos para cada célula [Balleza-Tapia et al., 2010; Méndez-Salcido et al., 2022].

Posterior a registrar la actividad sináptica espontánea, se midieron la transmisión y la plasticidad sináptica de la vía TA [Empson y Heinmann, 1995; Capogna, 2004]. Para esto, se estimularon las aferencias de esta vía a través de un electrodo concéntrico bipolar posicionado en *slm* del *subiculum* (ver Fig. 14A, B) [Arrigoni y Greene, 2004]. Primeramente, para medir la

transmisión sináptica, se utilizaron curvas entrada-salida (I/O), las cuales consistieron en estimular la vía TA con pulsos cuadrados de corriente de 100  $\mu$ s de duración a intensidades crecientes (0-150  $\mu$ A) en pasos de 10  $\mu$ A, para evocar las corrientes postsinápticas excitadoras (EPSCs). Estos pulsos se aplicaron con una frecuencia de 0.1 Hz (cada 10 s) [Salgado-Puga et al., 2017; Alcantara-Gonzalez et al., 2019]. Las curvas I/O se construyeron relacionando la intensidad de estimulación con la amplitud de la EPSC correspondiente (Fig. 14). A partir de la relación I/O de cada célula se determinó la intensidad necesaria para obtener el 40-50% de la respuesta máxima ( $E_{40-50}$ ), la cual fue empleada para los trenes de estimulación de plasticidad sináptica a corto plazo (STP, por sus siglas en inglés) [Flores-Martínez y Peña-Ortega, 2017; Torres-Flores y Peña-Ortega, 2022]. Estos trenes consistieron en 5 pulsos cuadrados de corriente con un intervalo entre estímulo de 40 ms (25 Hz), evocando entonces 5 respuestas postsinápticas (S1-S5; Fig. 6B<sub>3</sub>). Se evocó un total de 8 trenes a una frecuencia de 0.05 Hz. Los 8 registros fueron promediados para su análisis posterior. Se midió el área bajo la curva de la relación I/O y de las curvas STP como indicadores de la eficiencia y de la plasticidad sináptica, respectivamente [Balestrino et al., 1986]. Debido a que las curvas STP se construyeron con amplitudes normalizadas de las cinco respuestas respecto a la primera (S1), el área se midió a partir de una línea base igual a 1 (ver Fig. 14B).

Las señales fueron filtradas a 5 kHz y digitalizadas a 10 kHz (Digidata, Molecular Devices). Los registros en fijación de voltaje fueron obtenidos con un potencial de mantenimiento de -70 mV. Previo a la estimulación extracelular en las curvas I/O y en el protocolo de STP, se aplicaron pulsos de voltaje (-2 mV, 20 ms) a través del electrodo de registro para medir la resistencia de acceso ( $R_a$ ) y la  $R_m$  a lo largo del tiempo. Las células que presentaron incrementos en la  $R_a$  por encima del 20% fueron descartadas (4 células, que representan el 5.5%).

#### **4.6 – TINCIÓN DE NISSL**

Además de los ratones que fueron utilizados para la conducta y el registro electrofisiológico, se utilizaron grupos independientes de animales para evaluar el posible daño en CA1 inducido por el  $\beta$ A o por la proteína P-tau [Peña y Tapia, 1999; SantaCruz et al., 2005; Eslamizade et al., 2015]. Para ello, los ratones fueron anestesiados con pentobarbital sódico (100 mg/kg). Después de verificar la ausencia del reflejo al dolor, se realizó la perfusión intracardiaca con 20 mL de solución fisiológica alta en sacarosa fría y saturada con carbógeno. Los cerebros

fueron removidos y se descartó el cerebelo, el tallo cerebral y los bulbos olfatorios. Posteriormente, los cerebros fueron depositados en 50 mL de paraformaldehído (PFA, Sigma, EUA) al 4% en buffer de fosfatos (PBS, por sus siglas en inglés; Sigma, EUA). Después de 24 h de fijación en el PFA, los cerebros se mantuvieron por 24 h más en sacarosa al 30% en PBS. Al día siguiente, los cerebros fueron seccionados en rebanadas de 30 µm de espesor con un criostato (CM 350S, Leica). Las rebanadas que contuvieron el hipocampo dorsal (3 rebanadas por animal) fueron montadas en laminillas gelatinizadas y teñidas con violeta de cresilo al 0.1% (Sigma, EUA). Las observaciones se hicieron en micrografías tomadas de la región CA1 con microscopía de campo claro y en un aumento de 20X (Axioplan 2, Zeiss, Alemania; Fig. 14). EL análisis de las imágenes se realizó en ImageJ (NIH Image). El contraste de las imágenes se realizó automáticamente por el programa, y se cuantificó el número de células hipercromáticas por unidad de área dentro de la capa piramidal [Peña y Tapia, 1999; 2000]. Asimismo, se midió el porcentaje de área hipercromática dentro de la capa piramidal:

$$\% \text{ área hipercromática} = \frac{\text{área hipercromática}}{\text{área total}} \times 100$$

El área total y el área hipercromática se delimitaron automáticamente mediante la herramienta del umbral de entropía de ImageJ. El umbral de detección del área total se estableció con base a la capa piramidal capturada en la imagen, mientras que el umbral de detección del área hipercromática se estableció con base a una célula dañada típica (ver ejemplo en Fig. 15) [Raj et al., 2019].

#### **4.7 – FARMACOLOGÍA**

La epotilona-D (MedChem Express) fue disuelta en DMSO a una concentración de 1 mg/mL, alicuotada y resguardada a -70 °C. El ifenprodil (Sigma) fue disuelto en agua destilada a una concentración (15 mM, equivalente a 1000x de la deseada para su uso, 15 µM), alicuotado y mantenido en refrigeración (-4 °C) previo a su uso.

#### **4.8 – ANÁLISIS DE DATOS**

Los registros electrofisiológicos y los vídeos de las pruebas conductuales se analizaron con códigos programados en el paquete Matlab (versión 2020b). Los trazos de la actividad sináptica fueron analizados con Clamp Fit 10 (Molecular Devices). Los datos son presentados

como la media  $\pm$  error estándar de la media (EEM). Para determinar la normalidad de los grupos de datos, se utilizó la prueba de Shapiro-Wilcoxon. Para determinar diferencias significativas entre dos grupos, se utilizaron las pruebas de  $t$  para datos pareados o no pareados de una cola, según fue el caso. Para determinar las diferencias significativas entre más de dos grupos, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con una prueba post-hoc de Dunnett. Para determinar las diferencias significativas en las curvas IF, IO y STP, se utilizó un ANOVA de dos vías con una prueba post-hoc de Sidak. Se utilizó un ajuste de Welch en las comparaciones con grupos cuyas desviaciones estándar fueran significativamente distintas. Todas las comparaciones se hicieron respecto al grupo control (WT veh). Las diferencias significativas se establecieron con una  $p < 0.05$ . Para el análisis estadístico de los datos y su graficación se utilizaron Prism 8 (GraphPad) y OriginPro 2018 (OriginLab).

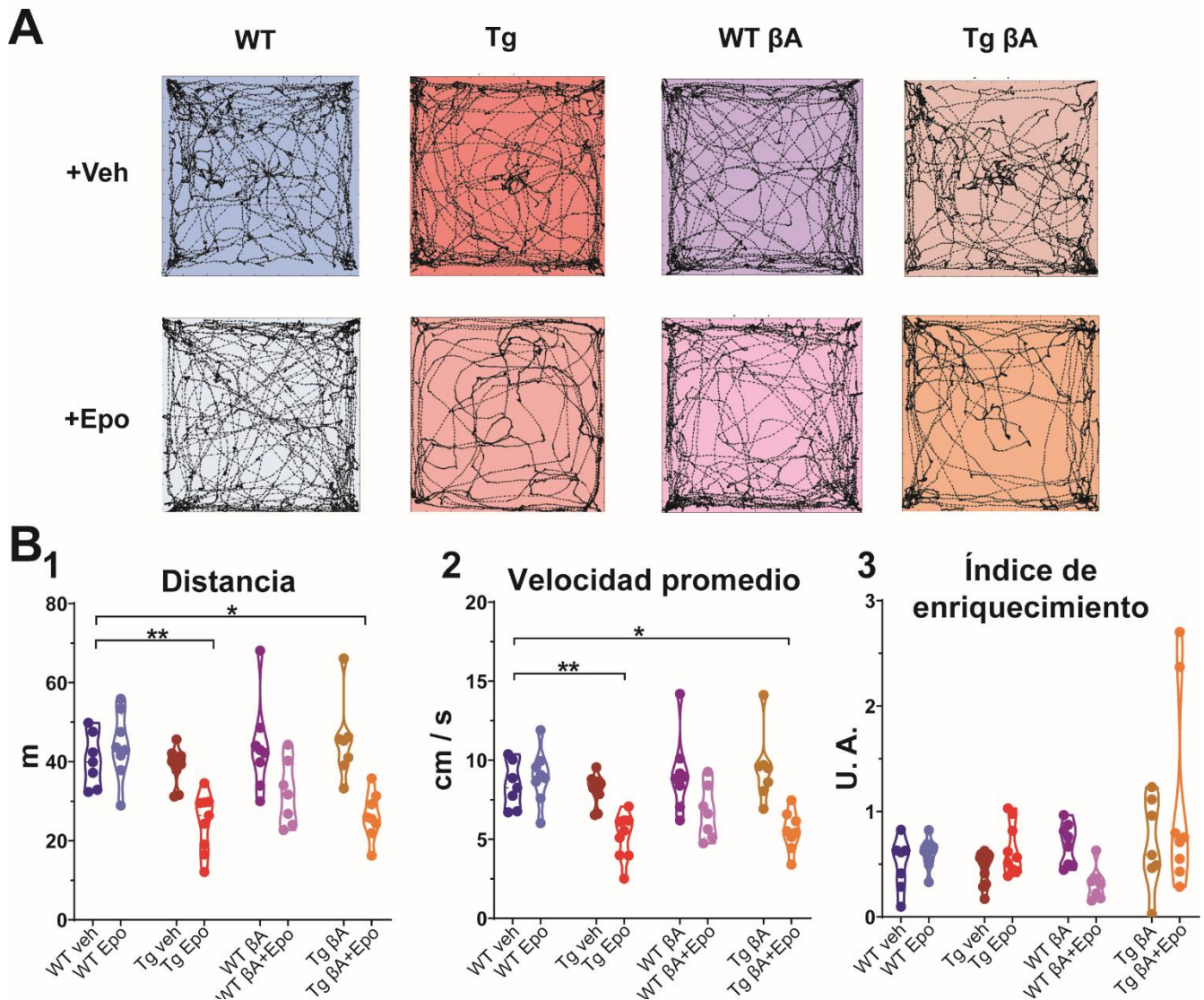
## 5 – RESULTADOS

### 5.1 – LA EPO-D ALTERA LA LOCOMOCIÓN DE LOS RATONES TG

La Epo-D reduce el movimiento en los animales [Ray et al., 2011] y puede afectar el desempeño de los ratones en las pruebas de memoria y aprendizaje. Para determinar las alteraciones en la exploración espacial, la locomoción, así como la presencia de patrones asociados a la ansiedad, los ratones fueron primeramente sometidos a la prueba de campo abierto (Fig. 7A). Los ratones WT Epo no mostraron diferencias significativas respecto al grupo control en la distancia y la velocidad promedio (Fig. 7B). Sin embargo, la Epo-D redujo la distancia (ANOVA,  $F_{7,56} = 8.059$ ,  $p < 0.0001$ , prueba post-hoc de Dunnett; distancia<sub>WT veh</sub> =  $40.308 \pm 2.561$  m, distancia<sub>Tg Epo</sub> =  $24.670 \pm 2.450$  m; Fig. 7B<sub>1</sub>) y la velocidad promedio (ANOVA,  $F_{7,56} = 8.059$ ,  $p$  ajustada  $< 0.0001$ , prueba post-hoc de Dunnett; vel<sub>WT veh</sub> =  $8.398 \pm 0.551$  cm/s, vel<sub>Tg Epo</sub> =  $5.186 \pm 0.480$  cm/s) de los ratones Tg (Fig. 7B<sub>2</sub>). Este efecto del estabilizador también se produjo en ratones Tg previamente inyectados con el  $\beta$ A (distancia<sub>Tg  $\beta$ A+Epo</sub> =  $26.298 \pm 2.104$  m; velocidad<sub>Tg  $\beta$ A+Epo</sub> =  $5.517 \pm 0.445$  cm/s). No se encontraron diferencias significativas en el índice de enriquecimiento en las comparaciones realizadas con los grupos experimentales respecto al grupo WT veh (ANOVA de Welch,  $F_{7,23.051} = 3.379$ ,  $p < 0.05$ ;  $p$  ajustada  $> 0.05$ ; Fig. 7B<sub>3</sub>). Estos datos sugieren que los estabilizantes de microtúbulos pueden generar alteraciones en el movimiento y en la exploración no motivada en condiciones



de una patología inducida por la proteína tau. Además, se observó que la patología inducida por la proteína tau o el  $\beta$ A no produce comportamientos asociados a la ansiedad [Gould et al., 2009].



**Figura 7. Prueba de campo abierto.** En A se observan las trayectorias de un ratón representativo de cada grupo durante los 5 min de exploración del campo abierto (60 x 60 cm). En B se muestran los promedios de la distancia (1), la velocidad promedio (2) y del índice de enriquecimiento (3) para todos los grupos. Significancias: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ . Veh = vehículo, Epo = epotilona-D,  $\beta$ A =  $\beta$ -amiloide.

## 5.2 – MEMORIA ESPACIAL

### 5.2.1 – El $\beta$ A y la proteína P-tau reducen la recuperación de la memoria espacial

Posterior a la prueba de campo abierto, los ratones fueron evaluados en el laberinto de HW modificado (Fig. 8) [Méndez-Salcido et al., 2022]. Con excepción de los ratones Tg inyectados

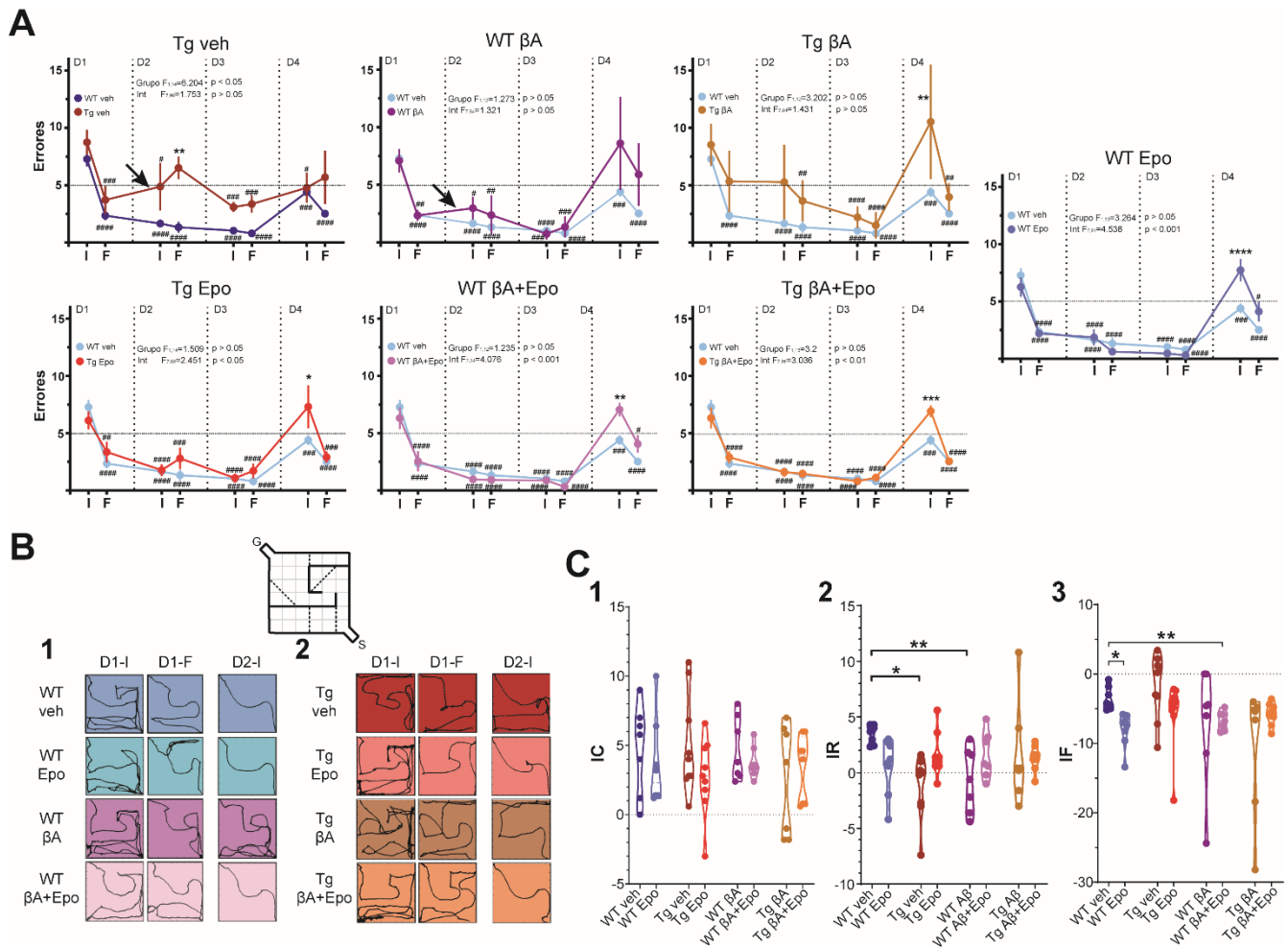
con el  $\beta$ A, todos los grupos exhibieron una curva de aprendizaje que llegó a menos de 5 errores (umbral de aprendizaje) al inicio del D2 y en el D3 todos los grupos alcanzaron este criterio de aprendizaje (Fig. 8A). El  $\beta$ A no produjo cambios significativos en la curva de aprendizaje de los ratones WT (ANOVA de dos vías, grupo  $F_{1,12} = 1.273$ ,  $p > 0.05$ ; interacción  $F_{7,84} = 1.321$ ,  $p > 0.05$ ). Sin embargo, los ratones Tg exhibieron diferencias en su curva de aprendizaje respecto al grupo WT veh (ANOVA de dos vías, grupo  $F_{1,14} = 6.204$ ,  $p < 0.05$ ). Para comparar mejor el aprendizaje de los grupos en cada fase de la prueba, se utilizaron los índices de codificación y de recuperación clásicos (IC e IR; respectivamente) [Lee y Kesner, 2004; Jerman et al., 2006]. Todos los grupos presentaron un IC positivo y sin diferencias significativas entre ellos (ANOVA,  $F_{7,54} = 1.032$ ,  $p > 0.05$ ). Sin embargo, el IR fue significativamente menor en ratones WT inyectados con  $\beta$ A y en ratones Tg veh (ANOVA,  $F_{7,54} = 2.466$ ,  $p < 0.05$ , prueba post-hoc de Dunnett;  $IR_{WT\ veh}: 3.438 \pm 0.325$ ;  $IR_{WT\ \beta A}: -0.629 \pm 1.086$ ;  $IR_{Tg\ veh}: -1.167 \pm 0.931$ ). La inyección ICV del  $\beta$ A en ratones Tg no produjo alteraciones mayores en el IR ( $IR_{Tg\ \beta A}: 1.600 \pm 1.736$ ; Fig. 8C<sub>2</sub>). Sin embargo, el desempeño de estos animales no alcanzó el límite de los 5 errores promedio y sus errores no redujeron significativamente hasta el final del D2 (Fig. 8A), indicando una alteración en el aprendizaje durante los días D1 y D2. Esta condición no se observó en los animales Tg sin el  $\beta$ A (Fig. 8A). A pesar de lo anterior, no se encontraron diferencias significativas en los índices de codificación y recuperación del grupo Tg  $\beta$ A (Fig. 8C).

### **5.2.2 – La epotilona-D revierte las alteraciones causadas por el $\beta$ A y la proteína P-tau**

Como se había esperado, el IR retomó valores normales en ratones WT con el  $\beta$ A ( $IR_{WT\ \beta A+Epo}: 1.571 \pm 0.785$ ) y en ratones Tg ( $IR_{Tg\ Epo}: 1.578 \pm 0.642$ ) administrados con Epo-D (Fig. 8C<sub>2</sub>). Cuando la Epo-D fue inyectada en los ratones Tg que habían sido administrados con el  $\beta$ A, su curva de aprendizaje también recuperó un desempeño normal por debajo de los 5 errores desde el D1 (Fig. 8A). Asimismo, el IR de este grupo no fue distinto al del grupo inyectado sólo con los vehículos ( $IR_{Tg\ \beta A+Epo} = 1.300 \pm 0.398$ ; Fig. 8C<sub>2</sub>). Estos datos indican que la proteína P-tau y el  $\beta$ A solos y sumados reducen la memoria y el aprendizaje espacial, y que la Epo-D revierte estas alteraciones.

### 5.2.3 – La epotilona-D reduce la flexibilidad cognitiva

En el D4, después de que los animales aprendieron a navegar eficientemente en el laberinto #4 en la prueba de HW, se cambió de laberinto (al #9) con el objetivo de medir su flexibilidad cognitiva ante un cambio de regla (Fig. 6A). Ante el cambio en el laberinto, los animales de todos los grupos presentaron un aumento en la cantidad de errores en los primeros cinco ensayos del D4 (Fig. 8A). Para comparar mejor el desempeño de los grupos durante esta nueva fase de la prueba, se calculó el índice de flexibilidad (IF; Fig. 8C<sub>3</sub>). La Epo-D redujo significativamente el IF en ratones WT y WT βA (ANOVA de Welch,  $F_{7,22.58} = 3.853$ ,  $p < 0.01$ ; prueba post-hoc T3 de Dunnett  $IF_{WT\ veh} = -3.486 \pm 0.634$ ;  $IF_{WT\ Epo} = -8.025 \pm 0.880$ ;  $IF_{WT\ \beta A+Epo} = 6.743 \pm 0.508$ ; Fig. 8C<sub>3</sub>). Este efecto de la Epo-D sobre la flexibilidad no se produjo en animales Tg (Fig. 8C<sub>3</sub>). Por lo tanto, estos datos indican que la Epo-D disminuye la flexibilidad en ratones WT sin afectar animales Tg.



**Figura 8. Aprendizaje, memoria espacial y flexibilidad cognitiva.** En **A** se muestran las curvas de aprendizaje de cada grupo experimental comparada con la curva del grupo WT veh (incorporada en las gráficas en azul claro). Los puntos son los promedios de la cantidad de errores de cada 5 ensayos a lo largo de los 4 días de la prueba (D1-D4). Debido a que en un día se llevaron a cabo 10 ensayos, los promedios describen la ejecución de la tarea al inicio (I) y al final (F) de los días. **B**, trayectorias de un ratón representativo de cada grupo (filas) y según el tiempo de la prueba (columnas D1-I, D1-F y D2-I). Escala: 60 x 60 cm. **C**, comparaciones del índice de codificación (IC, **1**), el índice de recuperación (IR, **2**) y el índice de flexibilidad (IF, **3**) entre todos los grupos. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  respecto al grupo WT veh. #  $p < 0.05$ , ##  $p < 0.01$ , ###  $p < 0.001$ , ####  $p < 0.0001$  respecto al inicio del D1 de la prueba. Veh = vehículo, Epo = epotilona-D,  $\beta A = \beta$ -amiloide.

---

### 5.3 – PROPIEDADES INTRÍNSECAS DE LAS NEURONAS PIRAMIDALES DE HIPOCAMPO

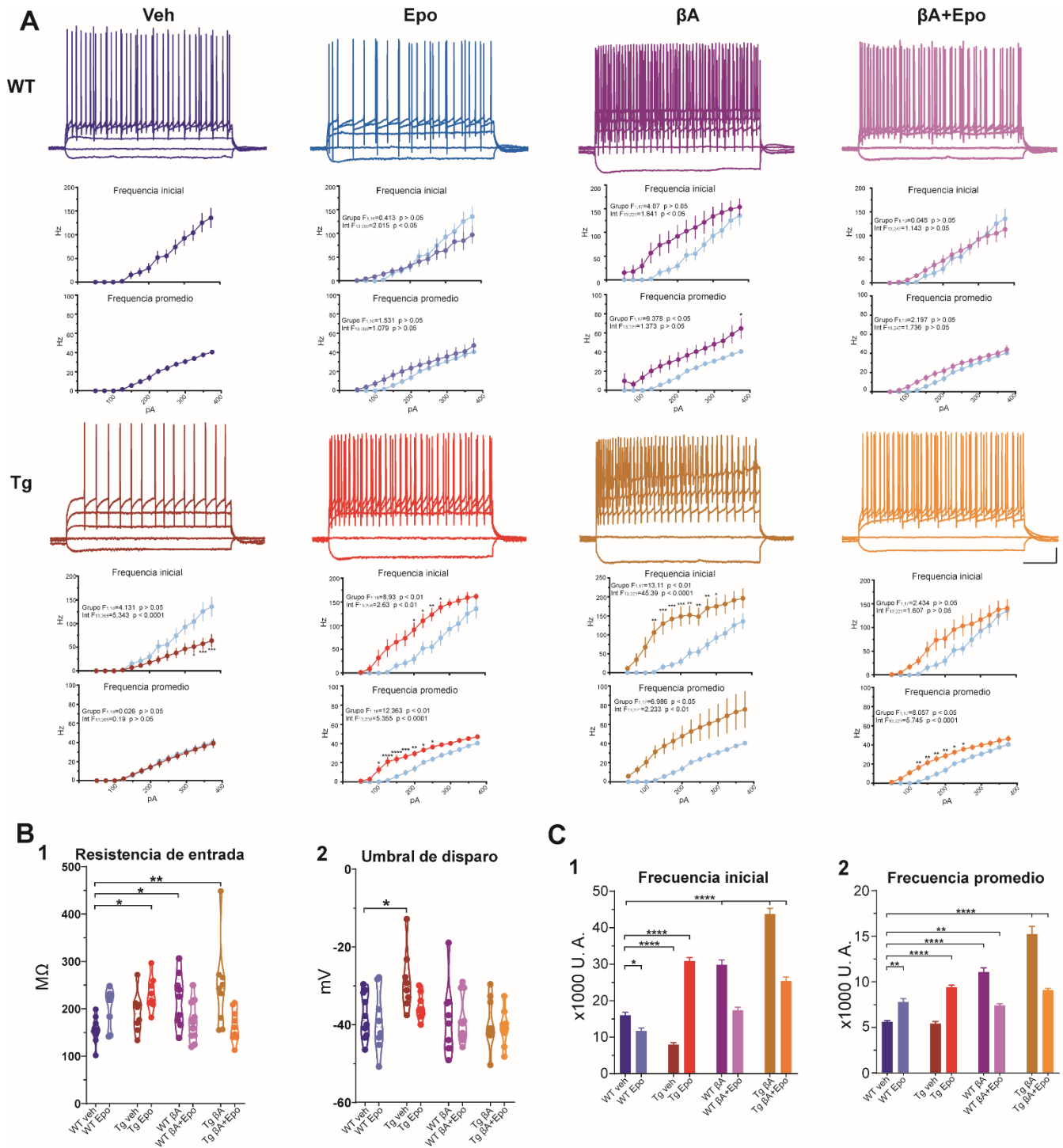
Los resultados obtenidos en la prueba de Hebb-Williams indican que varios grupos experimentales muestran alteraciones en la recuperación de la memoria, la cual se encuentra estrechamente asociada a CA1 y la vía TA del hipocampo [Lee y Kesner, 2004; Jerman et al., 2006; Vago et al., 2007]. La patología inducida por la proteína tau generalmente comienza en la corteza entorrinal y se extiende anterógradamente hacia el hipocampo mediante contactos sinápticos [Braak y Braak, 1991a, 1991b]. Además, en los ratones rTg4510 del rango de edad usado en este trabajo (5 a 6 meses) las neuronas piramidales de CA1 ya presentan a la proteína tau en formas patológicas [SantaCruz et al., 2005]. Con base en estas observaciones, se procedió a describir las propiedades electrofisiológicas de las neuronas piramidales de CA1 y de la vía TA de los mismos ratones evaluados conductualmente (Figs. 9-14).

#### 5.3.1 – El $\beta A$ y la proteína P-tau inducen efectos divergentes sobre la excitabilidad neuronal

Las neuronas piramidales de CA1 de los ratones WT administrados con el  $\beta A$  presentaron una mayor excitabilidad (Fig. 9A), asociada a una mayor  $R_m$  (ANOVA,  $F_{7,64} = 4.063$ ,  $p < 0.01$ ; prueba post-hoc de Dunnett;  $R_{mWT\ veh} = 155.401 \pm 8.361\ M\Omega$ ;  $R_{mWT\ \beta A} = 218.222 \pm 18.442\ M\Omega$ ; Fig. 9B<sub>1</sub>) y una mayor frecuencia de disparo promedio (ANOVA de dos vías, grupo  $F_{1,17} = 6.378$ ,  $p < 0.05$ , prueba post-hoc de Sidak; ver Fig. 9A). Para comparar mejor la frecuencia de disparo entre todos los grupos, se utilizaron las áreas bajo las curvas I/F inicial y promedio (Fig. 9C). El  $\beta A$  incrementó el área bajo las curvas IF inicial (ANOVA,  $F_{7,64} = 120.777$ ,  $p < 0.0001$ , prueba post-hoc de Dunnett;  $\text{área}_{WT\ veh} = 15971.054 \pm 2573.957$ ,  $\text{área}_{WT\ \beta A} = 29048 \pm 3746.774$ ; Fig. 9C<sub>1</sub>) y promedio (ANOVA,  $F_{7,64} = 66.796$ ,  $p < 0.0001$ , prueba post-hoc de Dunnett;  $\text{área}_{WT\ veh} = 5597.638 \pm 496.226$ ,  $\text{área}_{WT\ \beta A} = 11275.707 \pm 1461.971$ ; Fig. 9C<sub>2</sub>). El  $\beta A$  también produjo PAs de menor amplitud (ANOVA,  $F_{7,64} = 6.488$ ,  $p < 0.0001$ , prueba post-hoc

de Dunnett;  $\text{amplitud}_{\text{WT veh}} = 106.289 \pm 1.762 \text{ mV}$ ,  $\text{amplitud}_{\text{WT } \beta\text{A}} = 82.244 \pm 6.867 \text{ mV}$ ; Fig. 10B<sub>1</sub>) y más lentos (ANOVA,  $F_{7,64} = 3.767$ ,  $p < 0.01$ , prueba post-hoc de Dunnett;  $\text{MáxVel}_{\text{WT veh}} = 248.501 \pm 20.706 \text{ mV/ms}$ ,  $\text{MáxVel}_{\text{WT } \beta\text{A}} = 138.177 \pm 26.017 \text{ mV/ms}$ ; Fig. 10B<sub>2</sub>; Tabla 1).

Las neuronas piramidales de CA1 de los ratones Tg exhibieron un perfil hipoexcitable (Fig. 9A) con un umbral de disparo significativamente más despolarizado (ANOVA,  $F_{7,64} = 2.813$ ,  $p < 0.01$ , prueba post-hoc de Dunnett;  $\text{umbral}_{\text{WT veh}} = -37.772 \pm 1.839 \text{ mV}$ ;  $\text{umbral}_{\text{Tg veh}} = -28.649 \pm 2.736 \text{ mV}$ ; Fig. 9B<sub>2</sub>), una menor frecuencia de disparo inicial (ANOVA de dos vías, interacción  $F_{13,208} = 5.343$ ,  $p < 0.0001$ , Sidak's post-hoc test; Fig. 9A) y un área bajo la curva IF inicial reducida ( $7942.386 \pm 1565.202 \text{ U. A.}$ ; Fig. 9C<sub>1</sub>). Las neuronas piramidales de CA1 de los ratones Tg también presentaron un potencial sag significativamente más grande (ANOVA de Welch,  $F_{7,25.869} = 51.801$ ,  $p < 0.0001$ , prueba post-hoc T3 de Dunnett;  $\text{sag}_{\text{WT veh}} = 0.061 \pm 0.016$ ;  $\text{sag}_{\text{Tg veh}} = 0.171 \pm 0.011$ ; Fig. 11). Estas propiedades intrínsecas de las neuronas de los ratones rTg4510 son similares a las reportadas previamente por otros grupos [Booth et al., 2016b; Hatch et al., 2017]. Estos resultados describen que el  $\beta\text{A}$  incrementa la excitabilidad intrínseca a través de cambios en la  $R_m$ , y altera la forma del PA de neuronas principales de CA1, mientras que P-tau reduce la excitabilidad a través de un cambio en el umbral de disparo.



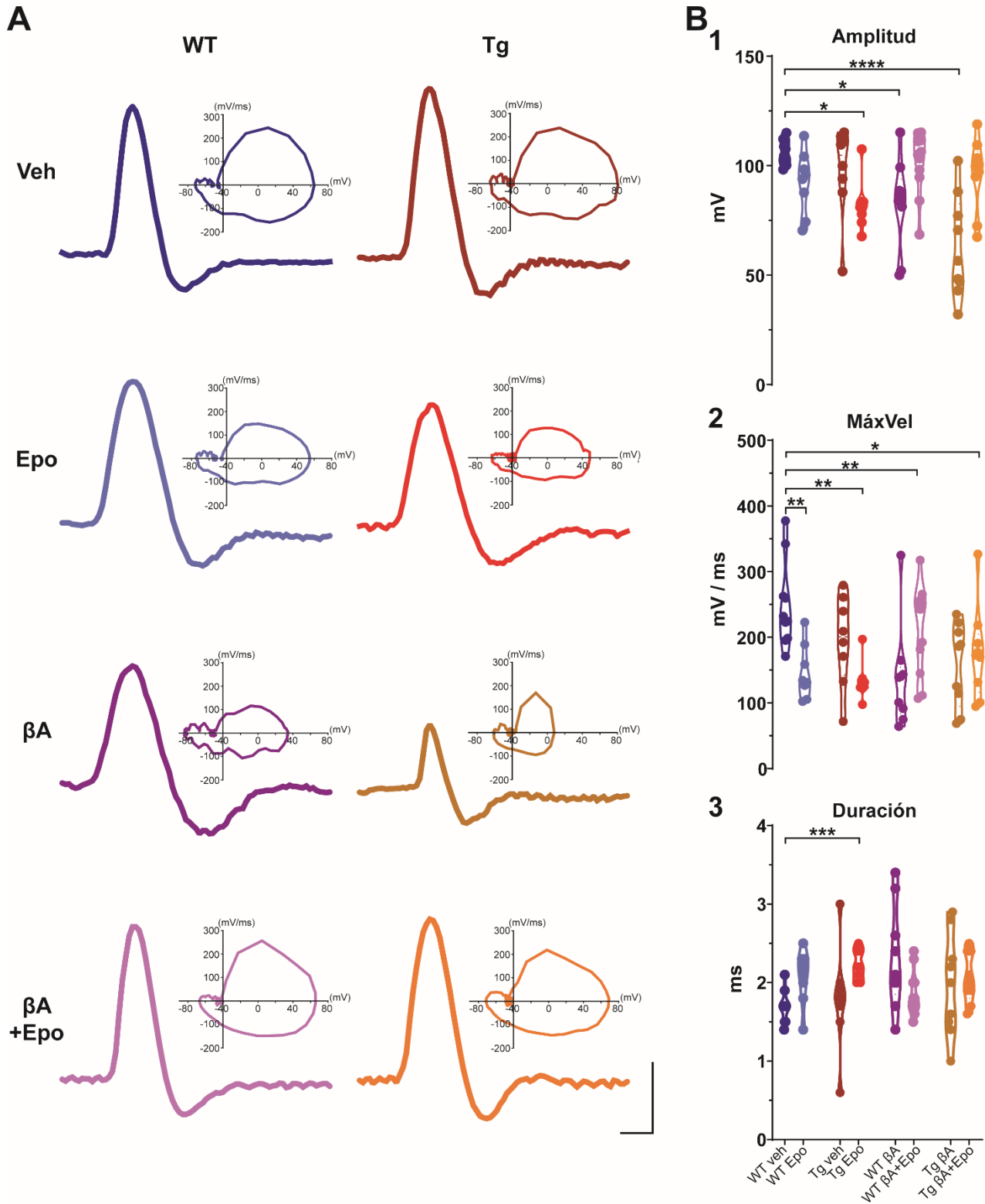
**Figura 9. Propiedades intrínsecas de las neuronas piramidales de CA1.** En **A** se muestran las respuestas en voltaje a la estimulación con pulsos cuadrados de corriente de las neuronas piramidales de CA1 representativas para cada grupo. Las respuestas mostradas corresponden a las intensidades de -100, 0, 100, 200 y 300 pA a partir de un potencial de mantenimiento de -70 mV. Escalas: 200 ms, 20 mV. También, se incluyen las respectivas comparaciones de las curvas intensidad-frecuencia (I/F) inicial y promedio de cada grupo experimental respecto al grupo WT veh (incorporada en azul claro). **B**, comparación de la resistencia de entrada ( $R_m$ ; **1**) y del umbral de disparo (**2**) de todos los grupos (ver la Tabla 1 para consultar el resto de las propiedades intrínsecas). En **C** se muestran el área bajo la curva IF inicial (**1**) y promedio (**2**). Significancias: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ . Veh = vehículo, Epo = epotilona-D,  $\beta$ A =  $\beta$ -amiloide.

### **5.3.2 – La hiperexcitabilidad inducida por el $\beta$ A predomina sobre la hipoexcitabilidad asociada a la proteína P-tau**

Para evaluar los efectos de la combinación del  $\beta$ A y la proteína P-tau sobre la excitabilidad neuronal, se inyectó el  $\beta$ A en ratones Tg (Fig. 6A). Se encontró que las neuronas piramidales de CA1 de estos ratones exhibían una tasa de disparo incrementada (IF inicial: ANOVA de dos vías, grupo  $F_{1,17} = 13.11$ ,  $p < 0.01$ , prueba post-hoc de Sidak; IF promedio: ANOVA de dos vías, grupo  $F_{1,17} = 6.986$ ,  $p < 0.05$ , prueba post-hoc de Sidak; Fig. 9A) y una mayor área bajo las curvas IF inicial ( $43757.338 \pm 4757.842$ ; Fig. 9C<sub>1</sub>) y promedio ( $15231.681 \pm 2459.868$ ; Fig. 9C<sub>2</sub>). Lo anterior estuvo acompañado de una mayor Rm ( $245.011 \pm 29.531$  M $\Omega$ ; Fig. 9B<sub>2</sub>), y de PAs con amplitud menor ( $62.756 \pm 7.727$  mV; Fig. 10B<sub>1</sub>) y más lentos ( $158.115 \pm 21.131$  mV/ms; Fig. 10B<sub>2</sub>). Asimismo, de manera inesperada, el  $\beta$ A redujo el potencial sag a valores normales ( $0.033 \pm 0.006$ ; Fig. 11). Estos datos sugieren que los efectos excitadores del  $\beta$ A se potencian en presencia de la patología inducida por la proteína tau, y que el  $\beta$ A disminuye la amplitud del sag en las neuronas principales de CA1 de los ratones Tg.

### **5.3.3 – La epotilona-D altera la excitabilidad neuronal intrínseca**

Antes de evaluar los efectos de la Epo-D directamente en condiciones patológicas, se evaluaron sus efectos en condiciones fisiológicas normales. Las neuronas piramidales de CA1 de los ratones WT inyectados con epotilona-D exhibieron cambios mixtos en su frecuencia de disparo: una reducción en el área bajo la curva IF inicial ( $11678.774 \pm 3205.784$ ; Fig. 9C<sub>1</sub>) y un incremento en el área bajo la curva IF promedio ( $7777.248 \pm 1079.223$ ; Fig. 9C<sub>2</sub>). La velocidad de los PAs en su fase de subida también fue reducida en estas neuronas piramidales de CA1 ( $146.299 \pm 14.773$  mV/ms; Fig. 10B<sub>2</sub>; Tabla 1). Por lo tanto, este estabilizador de los microtúbulos produce alteraciones significativas en las propiedades eléctricas de las neuronas principales de CA1.



**Figura 10. Forma del potencial de acción (PA).** En **A** se aprecian los PAs representativos y el gráfico de fase correspondiente a cada grupo experimental. Escalas: 1 ms y 50 mV. **B**, comparación de la amplitud (1), la velocidad máxima de subida (MáxVel) y la duración del PA de todos los grupos. Significancias: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ . Veh = vehículo, Epo = epotilona-D,  $\beta$ A =  $\beta$ -amiloide.

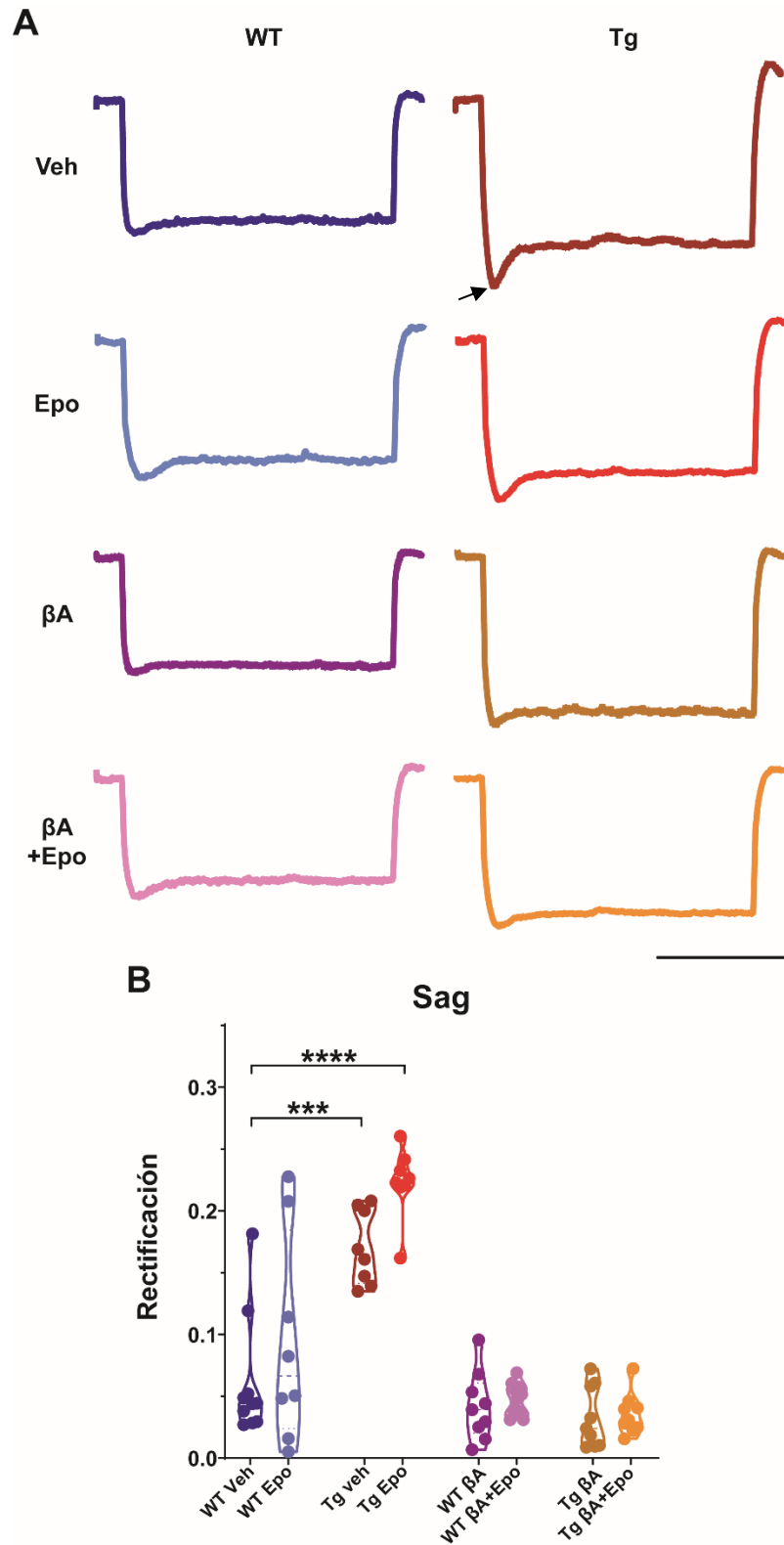


### 5.3.4 – La epotilona-D previene restaura parcialmente la excitabilidad en presencia del $\beta$ A, P-tau y su combinación

Con base a los efectos protectores que se observaron en la memoria espacial por parte de la Epo-D, se procedió a evaluar si este estabilizador también prevenía las alteraciones electrofisiológicas del  $\beta$ A y P-tau. Cuando la epotilona-D fue administrada sistémicamente a ratones WT que previamente habían sido inyectados con el  $\beta$ A, las neuronas presentaron una  $R_m$  ( $172.521 \pm 13.684 \text{ M}\Omega$ ; Fig. 9B<sub>1</sub>), una frecuencia de disparo inicial (área bajo la curva =  $18502.531 \pm 2793.805$ ; Fig. 9C<sub>1</sub>) y una frecuencia promedio normales (área bajo la curva =  $7677.738 \pm 691.251$ ; Fig. 9C<sub>2</sub>).

Paralelamente, en presencia de P-tau, la Epo-D restauró el umbral de disparo ( $-35.324 \pm 1.193 \text{ mV}$ ; Fig. 9B<sub>2</sub>). Sin embargo, esto vino acompañado de un incremento en la  $R_m$  ( $231.963 \pm 12.555 \text{ M}\Omega$ ; Fig. 9B<sub>1</sub>), en la frecuencia de disparo (I/F inicial: ANOVA de dos vías, grupo  $F_{1,16} = 8.93$ ,  $p < 0.01$ , prueba post-hoc de Sidak; I/F promedio: ANOVA de dos vías, grupo  $F_{1,16} = 12.363$ ,  $p < 0.0001$ , prueba post-hoc de Sidak; Fig. 9A) y en su área bajo la curva (área bajo la curva IF inicial =  $30907.319 \pm 2558.783$ ; área bajo la curva IF promedio =  $9416.027 \pm 588.163$ ; Fig. 9C). Además, el estabilizante del citoesqueleto disminuyó la amplitud, la velocidad máxima e incrementó la duración del PA (amplitud =  $82.138 \pm 4.095 \text{ mV}$ , MáxVel =  $133.514 \pm 10.014 \text{ mV/ms}$ ; duración =  $2.225 \pm 0.067 \text{ ms}$ ; Fig. 10B<sub>3</sub>).

Posteriormente, se evaluó si la Epo-D podía restaurar las propiedades excitables de las neuronas piramidales de CA1 de los ratones Tg en presencia del  $\beta$ A. En estas condiciones, la Epo-D restauró parcialmente la frecuencia de disparo inicial (área bajo la curva =  $25344.144 \pm 3481.106$ ; Fig. 9C<sub>1</sub>) y la frecuencia de disparo promedio (área bajo la curva =  $9082.273 \pm 629.619$ ; Fig. 9C<sub>2</sub>), y normalizó totalmente la  $R_m$  ( $164.955 \pm 11.313 \text{ M}\Omega$ ; Fig. 9B<sub>1</sub>) y la forma del PA (amplitud =  $95.978 \pm 5.489 \text{ mV}$ , MáxVel =  $175.646 \pm 23.278 \text{ mV/ms}$ , duración =  $2.056 \pm 0.107 \text{ ms}$ ; Fig. 10; Tabla 1). Estos resultados sugieren que la Epo-D tiene efectos dependientes del estado patológico previo: incrementa robustamente la excitabilidad y altera el PA en condiciones hipoexcitables asociadas a una patología inducida por la proteína tau, mientras que, en condiciones hiperexcitables asociadas al  $\beta$ A, la Epo-D ejerce un efecto inhibitorio en la excitabilidad neuronal sin producir cambios en la forma del PA. Asimismo, la Epo-D previene parcialmente la hiperexcitabilidad inducida por la combinación del  $\beta$ A y la proteína P-tau.



**Figura 11. Potencial sag.** **A**, respuestas del voltaje ante la estimulación con un pulso cuadrado de corriente negativa de 1s y 200 pA de amplitud, en donde se aprecia el potencial sag como el pico más negativo e inicial en la respuesta (flecha). Escalas: 500 ms y 15 mV. En **B** se muestra la comparación del tamaño de la rectificación respecto al potencial sag para todos los grupos. Significancias: \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ . Veh = vehículo, Epo = epotilona-D,  $\beta$ A =  $\beta$ -amiloide.

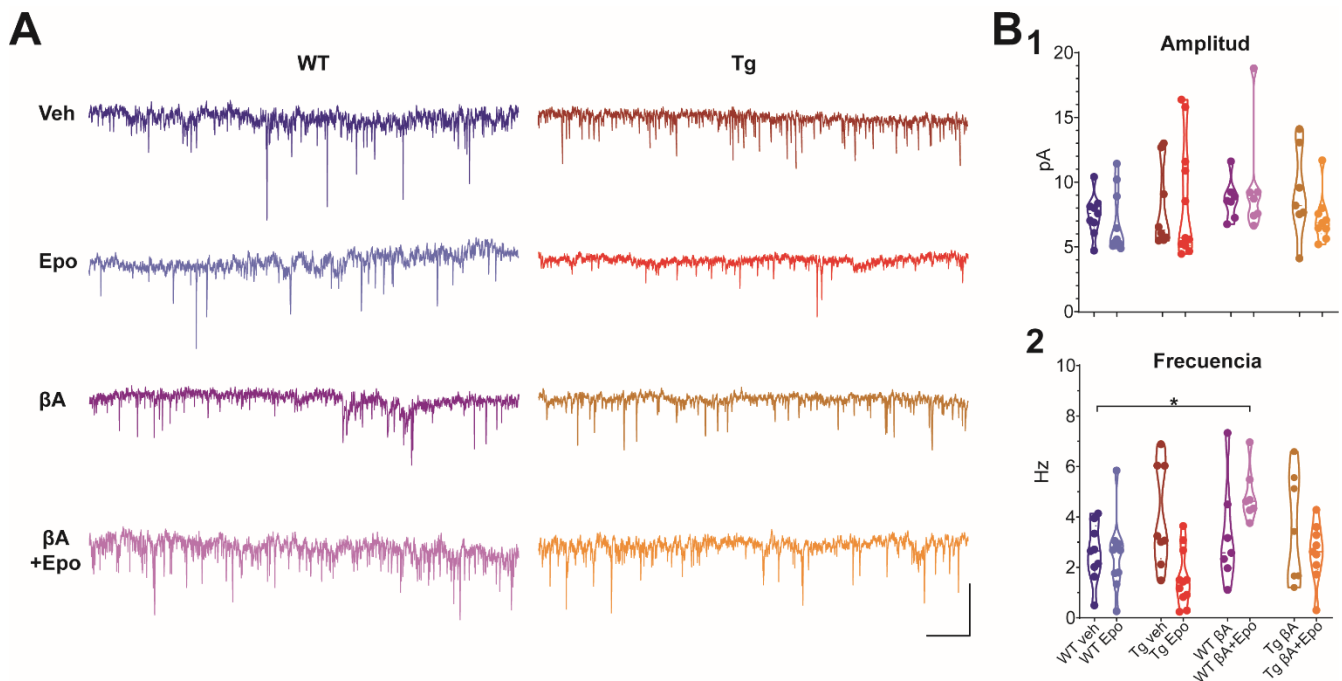
**Tabla 1.** Resumen de las propiedades electrofisiológicas de las neuronas piramidales de CA1 de todos los grupos experimentales. Los datos se muestran como promedio  $\pm$  EEM. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ , respecto al grupo control; #  $p < 0.05$ , ##  $p < 0.01$ , ####  $p < 0.0001$  respecto al grupo Tg. Veh = vehículo, Epo = epotilona-D,  $\beta$ A =  $\beta$ -amiloide.

	WT veh	WT Epo	WT $\beta$ A	WT $\beta$ A+Epo	Tg veh	Tg Epo	Tg $\beta$ A	Tg $\beta$ A+Epo	ANOVA	
	n = 10	n = 8	n = 9	n = 11	n = 8	n = 8	n = 9	n = 9	F	p
<b>Propiedades pasivas</b>										
Vm (mV)	-59.456 $\pm$ 1.875	-56.118 $\pm$ 2.497	-58.279 $\pm$ 2.326	-63.701 $\pm$ 1.974	-53.388 $\pm$ 2.537	-63.538 $\pm$ 2.377	-63.589 $\pm$ 1.191	-65.259 $\pm$ 2.596	3.662	< 0.01
Tau (ms)	15.037 $\pm$ 2.987	10.419 $\pm$ 2.098	9.137 $\pm$ 1.325	12.594 $\pm$ 2.087	15.357 $\pm$ 1.661	19.086 $\pm$ 1.178	17.241 $\pm$ 1.348	19.411 $\pm$ 2.199	3.439	< 0.01
Rm (M $\Omega$ )	155.401 $\pm$ 8.361	202.737 $\pm$ 14.593	218.222 $\pm$ 18.442*	172.809 $\pm$ 12.381	191.275 $\pm$ 15.051	231.963 $\pm$ 12.555*	245.011 $\pm$ 29.531**	164.955 $\pm$ 11.313	4.063	< 0.01
Cm (pF)	75.453 $\pm$ 6.701	50.845 $\pm$ 9.921	45.621 $\pm$ 7.966	77.339 $\pm$ 14.351	82.066 $\pm$ 8.503	84.034 $\pm$ 6.797	77.395 $\pm$ 9.996	128.711 $\pm$ 23.884*	3.887	< 0.01
Sag (proporción)	0.061 $\pm$ 0.016	0.094 $\pm$ 0.029	0.042 $\pm$ 0.009	0.047 $\pm$ 0.004	0.171 $\pm$ 0.011***	0.223 $\pm$ 0.011****	0.033 $\pm$ 0.006	0.036 $\pm$ 0.006	(W) 51.801	< 0.0001
<b>Propiedades activas</b>										
Rheobase (pA)	175.000 $\pm$ 17.078	125.000 $\pm$ 18.898	111.111 $\pm$ 19.593*	132.364 $\pm$ 17.309	168.750 $\pm$ 16.870	96.875 $\pm$ 11.017**	75.000 $\pm$ 11.785***	94.444 $\pm$ 8.098**	5.104	< 0.01
Umbral (mV)	-37.772 $\pm$ 1.839	-39.085 $\pm$ 2.849	-38.892 $\pm$ 3.066	-38.674 $\pm$ 1.787	-28.649 $\pm$ 2.736*	-35.324 $\pm$ 1.193	-39.572 $\pm$ 2.114	-40.782 $\pm$ 1.522	2.813	< 0.05
Amplitud del PA (mV)	106.289 $\pm$ 1.762	92.263 $\pm$ 5.121	82.244 $\pm$ 6.867*	101.142 $\pm$ 4.317	97.825 $\pm$ 7.444	82.136 $\pm$ 4.095*	62.756 $\pm$ 7.727****	95.98 $\pm$ 5.5	6.488	< 0.0001
Tiempo de subida del PA(ms)	0.820 $\pm$ 0.061	1.050 $\pm$ 0.070	1.022 $\pm$ 0.76	0.836 $\pm$ 0.047	0.875 $\pm$ 0.062	1.025 $\pm$ 0.041	0.867 $\pm$ 0.093	0.944 $\pm$ 0.058	2.018	> 0.05
MáxVel (mV/ms)	248.500 $\pm$ 20.706	146.299 $\pm$ 14.773**	138.177 $\pm$ 26.017**	211.265 $\pm$ 20.704	194.549 $\pm$ 24.379	133.514 $\pm$ 10.014**	158.115 $\pm$ 21.131*	175.646 $\pm$ 23.278	3.767	< 0.01
Duración (ms)	1.690 $\pm$ 0.064	2.075 $\pm$ 0.122	2.311 $\pm$ 0.221	1.864 $\pm$ 0.086	1.788 $\pm$ 0.233	2.225 $\pm$ 0.067***	1.967 $\pm$ 0.215	2.056 $\pm$ 0.107	(W) 4.869	< 0.001
Duración media (ms)	0.970 $\pm$ 0.052	1.225 $\pm$ 0.070	1.311 $\pm$ 0.119	1.073 $\pm$ 0.054	1.138 $\pm$ 0.094	1.325 $\pm$ 0.045***	1.133 $\pm$ 0.128	1.222 $\pm$ 0.619*	(W) 4.074	< 0.01
Amplitud del PPH (mV)	30.970 $\pm$ 3.165	36.000 $\pm$ 2.620	25.400 $\pm$ 4.033	27.923 $\pm$ 1.911	34.487 $\pm$ 3.028	25.875 $\pm$ 1.519	21.711 $\pm$ 2.169	28.579 $\pm$ 2.659	2.846	< 0.05
Duración del PPH (ms)	2.222 $\pm$ 0.205	2.388 $\pm$ 0.194	3.089 $\pm$ 0.516	2.245 $\pm$ 0.101	2.538 $\pm$ 0.205	2.913 $\pm$ 0.168	2.622 $\pm$ 0.220	2.459 $\pm$ 0.108	1.619	> 0.05
Área bajo la curva I/F inicial (U. A.)	15971.054 $\pm$ 813.654	11678.774 $\pm$ 817.663*	29048.585 $\pm$ 1344.48****	17343.250 $\pm$ 839.945	7942.386 $\pm$ 553.382****	30907.319 $\pm$ 904.672****	43757.338 $\pm$ 1585.600****	25344.144 $\pm$ 1160.367****	120.777	< 0.0001
Área bajo la curva I/F media (U. A.)	5597.638 $\pm$ 156.922	7777.248 $\pm$ 381.555**	11070.220 $\pm$ 473.830****	7404.316 $\pm$ 209.147**	5419.564 $\pm$ 234.215	9416.027 $\pm$ 207.946****	15231.681 $\pm$ 819.967****	9082.273 $\pm$ 209.873****	66.796	< 0.0001
Área bajo la curva I/O (U. A.)	5019.101 $\pm$ 313.804	3306.011 $\pm$ 367.342***	1838.851 $\pm$ 121.273****	3846.083 $\pm$ 277.119	6255.751 $\pm$ 491.793*	1283.875 $\pm$ 105.642****	568.2224 $\pm$ 400.667	2175.556 $\pm$ 132.800****	38.007	< 0.0001
STP area (U. A.)	2.265 $\pm$ 0.263	0.241 $\pm$ 0.122****	6.709 $\pm$ 1.309*	3.176 $\pm$ 0.661	1.122 $\pm$ 0.218*	3.037 $\pm$ 0.911	0.052 $\pm$ 0.108****	2.424 $\pm$ 0.429	(W) 16.859	< 0.0001

## 5.4 – PROPIEDADES SINÁPTICAS DE LA VÍA TEMPOROAMMÓNICA

### 5.4.1 – La combinación del $\beta$ A y la Epo-D incrementa la transmisión sináptica espontánea

Después de registrar las propiedades intrínsecas de las neuronas piramidales de CA1, se procedió a registrar la actividad sináptica espontánea. Las corrientes postsinápticas espontáneas (sPSCs, por sus siglas en inglés) fueron grabadas durante 5 min en un potencial de mantenimiento de -70 mV (Figura 12). No se encontraron diferencias significativas en la amplitud de las sPSCs entre todos los grupos ( $F_{7,60} = 0.856$ ,  $p > 0.05$ ; Fig. 12 B<sub>1</sub>). Sin embargo, la frecuencia de las sEPSCs de los ratones WT  $\beta$ A+Epo fue mayor respecto al grupo WT veh (ANOVA,  $F_{7,60} = 3.892$ ,  $p < 0.01$ , prueba post-hoc de Dunnett; WT veh:  $2.566 \pm 0.384$  Hz; WT  $\beta$ A+Epo:  $4.873 \pm 0.401$  Hz; Fig. 12B<sub>2</sub>). Estos datos sugieren que la combinación del  $\beta$ A+Epo-D incrementa la actividad sináptica espontánea sólo en ratones WT. Debido a que se encontraron cambios en la frecuencia, mas no así en la amplitud de las sPSCs, estos efectos pudieran deberse mecanismos presinápticos [Mohojerani et al., 2007].



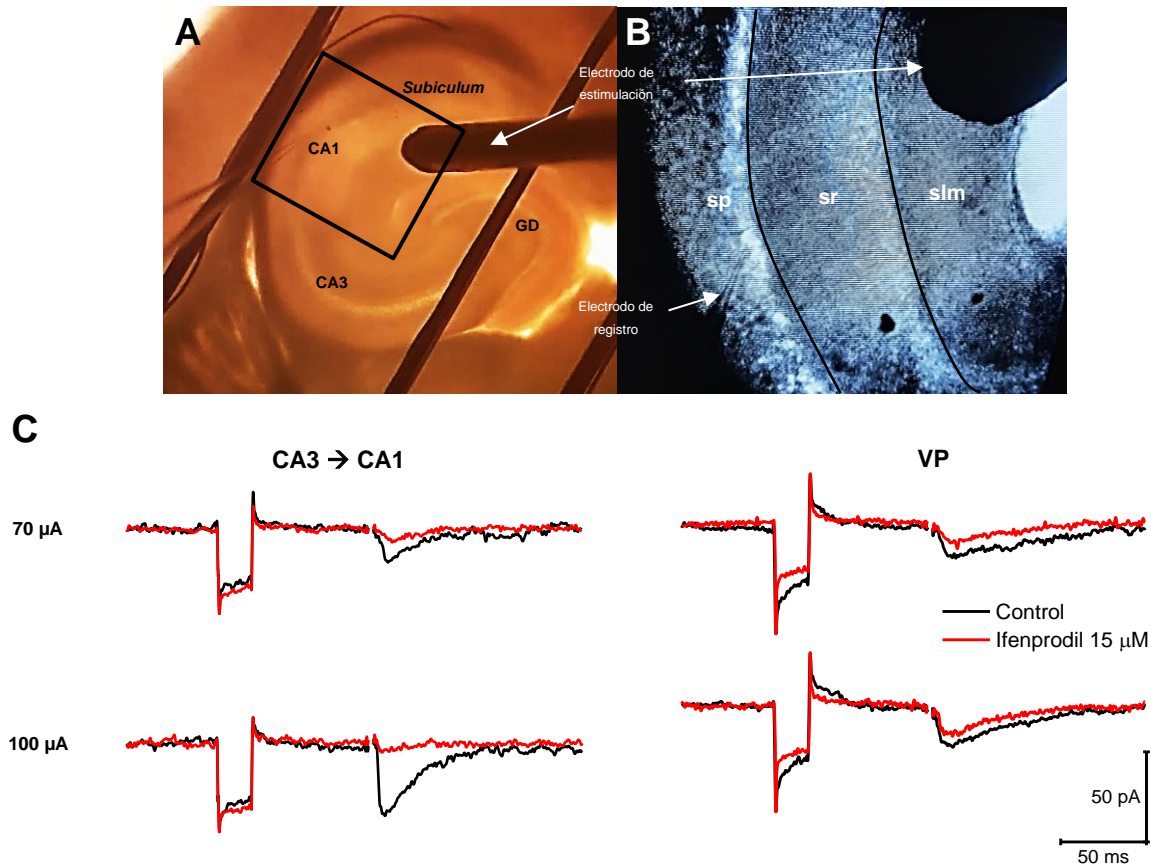
**Figura 12. Propiedades sinápticas espontáneas en neuronas piramidales de CA1.** A, trazos representativos de las corrientes postsinápticas espontáneas (sPSCs) de cada grupo experimental. Escalas: 10 s y 2 pA. En B se comparan la amplitud media y la frecuencia promedio de las sPSCs de todos los grupos experimentales. Significancias: \*  $p < 0.05$ . Veh = vehículo, Epo = epotilona-D,  $\beta$ A =  $\beta$ -amiloide.

#### **5.4.2 – El $\beta$ A y la proteína P-tau producen efectos divergentes sobre la vía temporoamónica**

Después de medir la actividad sináptica espontánea, se procedió a evaluar la transmisión sináptica y su plasticidad evocadas en la vía TA [Capogna, 2004; Arrigoni y Greene et al., 2004]. Para asegurar que el electrodo de estimulación activara la vía TA dentro de la lámina *slm*, se hizo un experimento preliminar en donde se bloquearon selectivamente los receptores NMDA que contuvieran la subunidad NR2B con ifenprodil (15  $\mu$ M) [Arrigoni y Greene, 2004]. Estos receptores están mayormente expresados en la postsinapsis de la vía de las colaterales de Schaffer (CA3→CA1; electrodo de estimulación en el *sr*) respecto a la vía temporoamónica (CE-CA1; electrodo de estimulación en el *slm*) [Arrigoni y Greene et al., 2004].

El ifenprodil redujo la amplitud de las corrientes postsinápticas excitadoras (EPSCs, por sus siglas en inglés) evocadas en un  $74.003 \pm 2.390$  % respecto al control (Fig. 13C). En contraste, las EPSCs evocadas por la estimulación de las colaterales de Schaffer fueron reducidas casi en su totalidad en presencia de ifenprodil ( $5.673 \pm 0.975$  %; Fig. 13C).

Esto corrobora que podemos activar selectivamente una u otra vía según el posicionamiento del electrodo de estimulación dentro de las láminas de CA1 [Arrigoni & Greene, 2004].



**Figura 13. Registro de las EPSCs evocadas de la vía temporoammonica.** En **A** se muestra una micrografía (aumento 40x) de una rebanada hipocámpal utilizada para el registro electrofisiológico. El recuadro negro define el campo ampliado (100x) que se aprecia en **B**. Nótese el arreglo de los electrodos de registro y estimulación respecto a la anatomía del hipocampo, así como la división laminar en CA1/subiculum (las líneas negras delimitan las láminas de manera aproximada). **C**, A la izquierda se muestran las corrientes postsinápticas espontáneas (EPSCs) evocadas en neuronas piramidales de CA1 por la estimulación de las colaterales de Schaffer. A la derecha se observan las EPSCs obtenidas por la estimulación de la vía temporoammonica (TA). En ambos casos, se aprecian las condiciones de registro antes (negro) y después (rojo) de 15 min de la aplicación del bloqueador de receptores NMDA-NR2B, ifenprodil (15  $\mu$ M). Nótese la mayor reducción en la respuesta postsináptica en la vía CA3  $\rightarrow$  CA1 respecto a la observada en la vía TA. CA1 = cornus ammonis 1, CA3 = cornus ammonis 3, GD = giro dentado, sp = stratum pyramidale, sr = stratum radiatum, slm = stratum lacunosum moleculare

La amplitud de las EPSCs obtenidas de los ratones WT con el  $\beta$ A fueron reducidas robustamente (ANOVA de dos vías, grupo  $F_{1,18} = 7.514$ ,  $p < 0.05$ , prueba post-hoc de Sidak; Fig. 14A<sub>1</sub>), lo cual se reflejó en el área bajo la curva I/O (ANOVA,  $F_{7,60} = 38.007$ ,  $p < 0.0001$ , prueba post-hoc de Dunnett;  $\text{área}_{\text{WT veh}} = 5019.101 \pm 992.336$ ;  $\text{área}_{\text{WT } \beta\text{A}} = 1838.851 \pm 383.456$ ; Fig. 14A<sub>3</sub>). Asimismo, el  $\beta$ A alteró la plasticidad a corto plazo en esta sinapsis al incrementar el área bajo la curva STP (ANOVA de Welch,  $F_{7,23.754} = 18.376$ ,  $p < 0.0001$ , prueba T3 de Dunnett;  $\text{área}_{\text{WT veh}} = 2.265 \pm 0.263$ ;  $\text{área}_{\text{WT } \beta\text{A}} = 6.709 \pm 1.309$ ; Fig. 14B<sub>2</sub>).

Las EPSCs en ratones Tg no cambiaron significativamente cuando se les compara individualmente en la curva I/O (Fig. 14A<sub>1</sub>), pero el área bajo la curva fue significativamente mayor respecto al grupo WT veh ( $6255.751 \pm 1390.588$ ; Fig. 14A<sub>3</sub>). Además, el área bajo la

curva STP fue reducida ( $1.122 \pm 0.218$ ; Fig. 14B<sub>2</sub>) con respecto a la del control. Estos datos indican que el  $\beta$ A disminuye la transmisión sináptica e incrementa la plasticidad a corto plazo, mientras que la proteína P-tau ejerce efectos totalmente contrarios en la vía TA.

Posteriormente, se evaluaron los efectos de la combinación del  $\beta$ A y la proteína P-tau sobre la vía TA. No se encontraron cambios significativos en las amplitudes de las EPSCs en estos ratones cuando se les compara en la curva I/O (prueba post-hoc de Dunnett,  $p > 0.05$ ; Fig. 14A<sub>1</sub>) o en el área bajo la curva ( $5684.222 \pm 1202.389$ ; Fig. 14A<sub>3</sub>). No obstante, las EPSCs evocadas en los trenes de plasticidad fueron similares entre sí, sin mostrar una facilitación similar a la del grupo WT veh (ANOVA de dos vías, grupo  $F_{1,17} = 9.657$ ,  $p < 0.01$ , prueba post-hoc de Sidak; Fig. 14B<sub>1</sub>). Asimismo, el área bajo la curva STP fue significativamente menor respecto a la del grupo WT veh ( $0.052 \pm 0.092$ ; Fig. 14B<sub>2</sub>).

#### **5.4.3 – La epotilona-D deprime la transmisión sináptica y la plasticidad a corto plazo**

Debido a que la Epo-D *per se* produjo efectos sutiles pero significativos sobre la excitabilidad intrínseca (Figs. 9 y 10), se procedió a evaluar sus efectos sobre las propiedades sinápticas en la vía TA. Las EPSCs de los ratones WT con Epo-D tendieron a ser menores respecto a aquellas obtenidas de animales que sólo recibieron el vehículo (ANOVA de dos vías, interacción  $F_{15,240} = 1.542$ ,  $p = 0.091$ , prueba post-hoc T3 de Dunnett,  $p$  ajustada = 0.059; Fig. 14A<sub>1</sub>). Sin embargo, sí se observó una disminución significativa sobre el área bajo la curva I/O ( $3306.011 \pm 1039.191$ ; Fig. 14B<sub>2</sub>). Además, las EPSCs evocadas por trenes de plasticidad mostraron una facilitación reducida (ANOVA de dos vías, grupo  $F_{1,16} = 6.783$ ,  $p < 0.05$ , prueba post-hoc de Sidak; Fig. 14B<sub>1</sub>) y esto se vio reflejado en una menor área bajo la curva STP ( $0.241 \pm 0.122$ ; Fig. 14B<sub>2</sub>). Por lo tanto, la Epo-D inhibe tanto la transmisión sináptica como su plasticidad a corto plazo.

#### **5.4.4 – La epotilona-D revierte las alteraciones inducidas por el $\beta$ A en la vía temporoammónica**

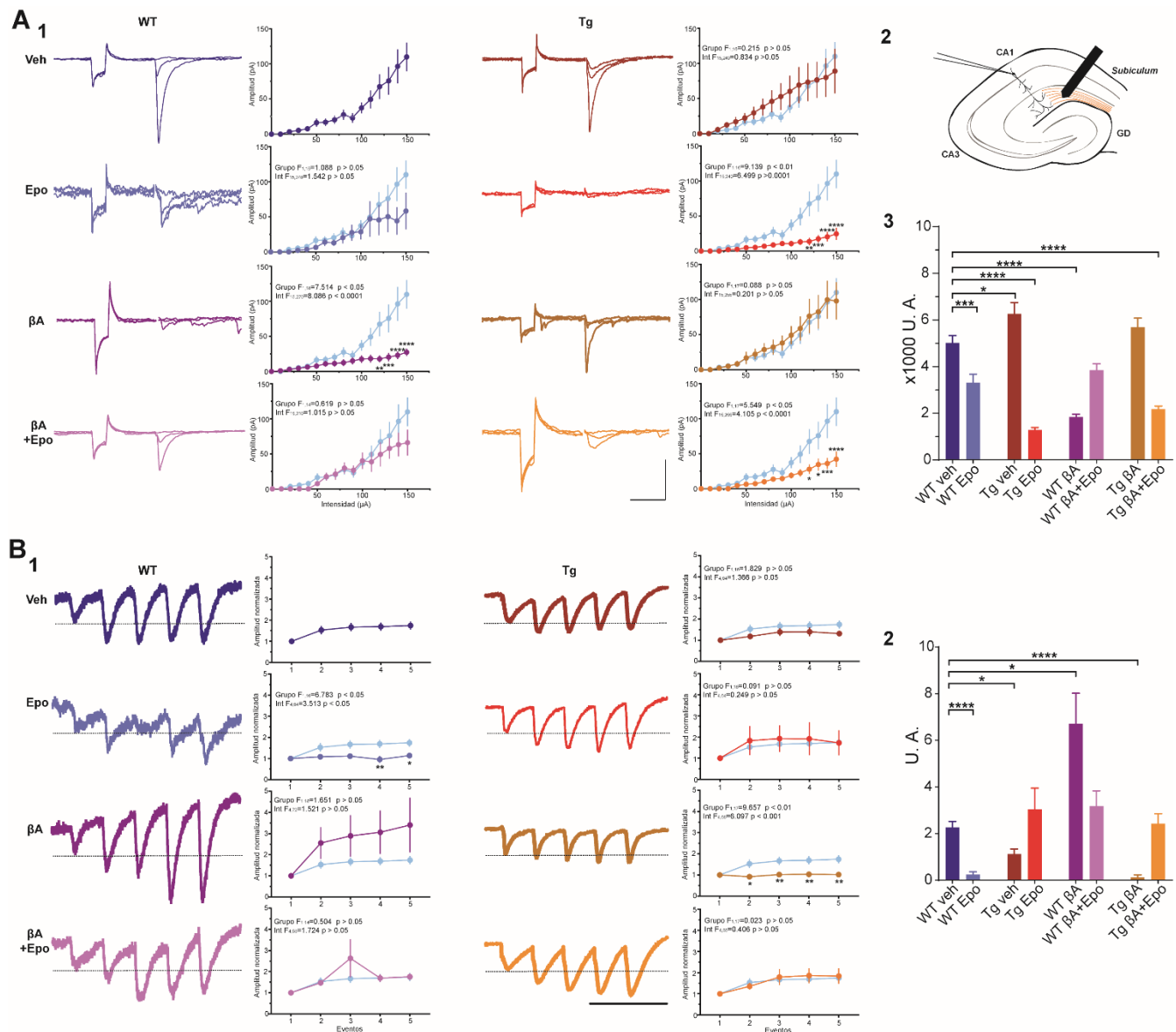
Cuando el estabilizador de los microtúbulos fue inyectado en animales WT, que previamente habían sido administrados con el  $\beta$ A, las amplitudes de las EPSCs (prueba post-hoc de Sidak,  $p > 0.05$ ; Fig. 14A<sub>1</sub>) y el área bajo la curva I/O fueron similares a las de los animales control ( $3846.083 \pm 678.841$ ; Fig. 14A<sub>3</sub>). Lo anterior, estuvo asociado a una normalización del área

bajo la curva STP ( $3.176 \pm 0.661$ ; Fig. 14B<sub>2</sub>). Por lo tanto, la Epo-D restaura la transmisión y la plasticidad sináptica en presencia del  $\beta$ A.

#### **5.4.5 – La epotilona-D deprime la transmisión sináptica y su plasticidad en animales Tg**

La Epo-D redujo drásticamente la amplitud de las EPSCs (ANOVA de dos vías, grupo  $F_{1,16} = 9.139$ ,  $p < 0.01$ , prueba post-hoc de Sidak; Fig. 14A<sub>1</sub>) y el área bajo la curva I/O en ratones Tg ( $1283.875 \pm 298.773$ ; Fig. 14B<sub>3</sub>). Interesantemente, el efecto inhibitor de la Epo-D también se observó en animales Tg previamente inyectados con  $\beta$ A (curva I/O: ANOVA, grupo  $F_{1,17} = 5.549$ ,  $p < 0.05$ , prueba post-hoc de Sidak; área bajo la curva:  $2175.556 \pm 398.355$ ; Fig. 14A). Sin embargo, la plasticidad a corto plazo (Fig. 14B<sub>1</sub>) y el área bajo la curva STP de los ratones Tg Epo ( $3.211 \pm 0.807$ ) y Tg  $\beta$ A+Epo ( $2.424 \pm 0.429$ ) fueron similares a la del grupo WT veh ( $2.265 \pm 0.26$ ; Fig. 14B<sub>2</sub>). Estos resultados remarcan la dependencia de los efectos de la epotilona-D al estado patológico o fisiológico previo del sujeto. Mientras que la Epo-D restaura la transmisión sináptica en presencia del  $\beta$ A, tiene efectos extremadamente supresores sobre la misma en presencia de la proteína P-tau sola o en combinación con el  $\beta$ A.

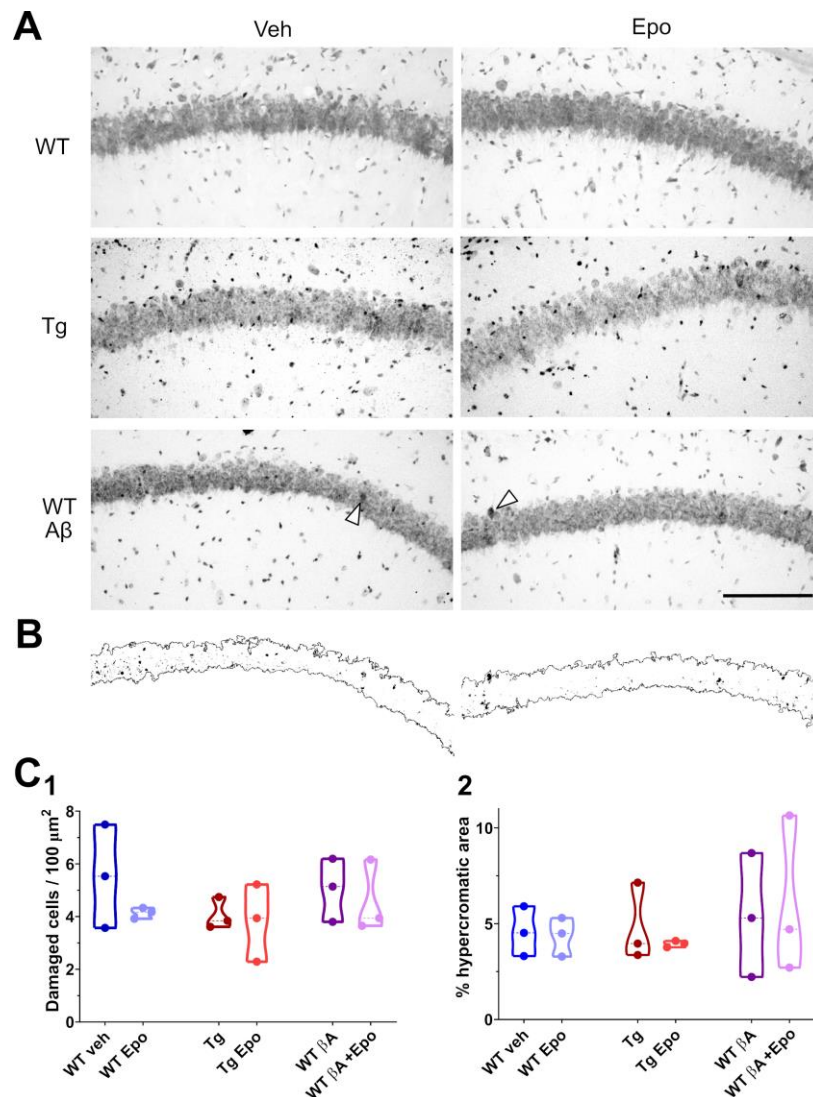




**Figura 14. Transmisión sináptica y su plasticidad a corto plazo.** En A (1) se observan las familias de registros de las corrientes postsinápticas excitadoras (EPSCs) inducidas por la estimulación a las intensidades de 40, 60 y 100  $\mu$ A, así como la correspondiente relación entrada-salida (I/O) para cada grupo experimental. Escalas: 100 ms y 100 pA. En 2 se muestra un esquema representativo de la disposición de los electrodos de estimulación y de registro en una rebanada de hipocampo para el registro de las EPSCs de la vía temporoammónica. El área bajo las curvas I/O en 1 se comparan en 3. En B (1) se aprecian las EPSCs evocadas por la estimulación con trenes de 25 Hz para cada grupo. Los trazos son el promedio de 8 registros de la misma célula. La escala fue ajustada para que la amplitud de las de la segunda a la quinta respuestas (S2-S5) estén normalizadas a la primera respuesta (fijada como 1; S1, líneas punteadas). Por lo tanto, se puede comparar el cambio proporcional de las EPSCs durante el tren entre todos los grupos. Escalas: 100 ms. También se muestra la comparación de la curva de plasticidad a corto plazo (STP) correspondiente a cada grupo respecto al grupo WT veh (azul claro). (2), comparación del área bajo las curvas STP mostradas en 1. Significancias: \*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ . Veh = vehículo, Epo = epotilona-D,  $\beta$ A =  $\beta$ -amiloide, U. A. = unidades arbitrarias.

## 5.5 – EVALUACIÓN HISTOLÓGICA

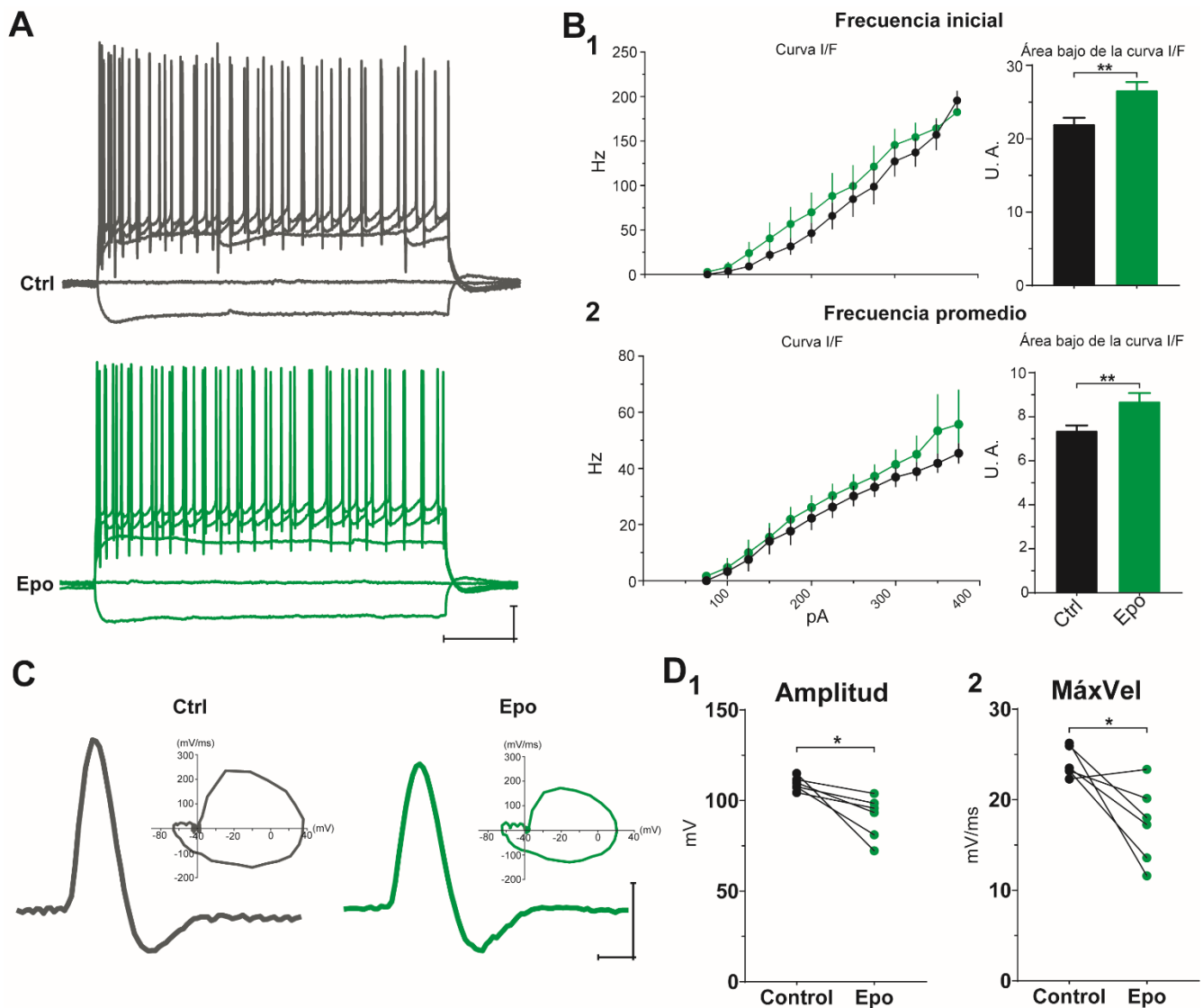
En otro bloque independiente de animales se evaluó la integridad de la capa piramidal de CA1 mediante la tinción con violeta de cresilo [Peña y Tapia, 1999; 2000]. No se encontraron diferencias significativas en la densidad de células dañadas (ANOVA de una vía,  $F_{5,12} = 0.795$ ,  $p > 0.05$ ; Fig. 15C<sub>1</sub>), ni en la proporción de área hipercromática ( $F_{5,12} = 0.294$ ,  $p > 0.05$ ; Fig. 15C<sub>2</sub>). Estos datos indican que el tratamiento con el  $\beta A$  y la patología inducida por la proteína tau no producen daño celular en CA1.



**Figura 15. Integridad celular de la capa piramidal de CA1.** En **A** se muestran cortes representativos, a la altura de la capa piramidal de CA1, teñidos con el violeta de cresilo. Se muestran dos células dañadas (hipercromáticas) con las flechas. En **B** se observan las imágenes binarizadas de la capa piramidal de las dos micrografías correspondientes a los grupos WT  $\beta A$  y WT  $\beta A$ +Epo del panel **A**. Escala: 150  $\mu m$ . La cuantificación de las células dañadas (1) y del porcentaje de área hipercromática (2) se muestran en **C**.

## 5.6 – EFECTOS DE LA EPOTILONA-D IN VITRO

Los efectos de la Epo-D sobre la excitabilidad neuronal descritos previamente se deben a una exposición crónica y sistémica (2-3 semanas, 1 dosis por semana de 2 mg/kg). Sin embargo, se desconoce si la Epo-D es capaz de alterar la excitabilidad neuronal desde el momento en que entra en contacto con las redes neuronales. Para responder a esto, se evaluaron los efectos de la Epo-D (100 nM) *in vitro* sobre las neuronas principales de CA1 en rebanadas de hipocampo de los ratones WT. De manera similar a lo descrito para las condiciones *in vivo*, la Epo-D incrementó la frecuencia de disparo promedio, lo que se refleja en un aumento en el área bajo la curva IF después de 15 minutos de exposición al fármaco (prueba de t no pareada,  $t = 2.944$ ,  $p < 0.01$ ;  $\text{área}_{\text{ctrl}} = 7370.251 \pm 574.334$  U. A.,  $\text{área}_{\text{Epo-D}} = 8696.556 \pm 541.432$  U. A.; Fig. 16B<sub>2</sub>). La Epo-D también disminuyó la amplitud (prueba de t pareada,  $t = 3.269$ ,  $p < 0.05$ ;  $\text{amplitud}_{\text{ctrl}} = 109.300 \pm 3.680$  mV,  $\text{amplitud}_{\text{Epo-D}} = 90.833 \pm 941.432$  mV; Fig. 16D<sub>1</sub>) y la velocidad máxima de subida del primer PA evocado (prueba de t pareada,  $t = 3.044$ ,  $p < 0.05$ ;  $\text{MáxVel}_{\text{ctrl}} = 240.580 \pm 6.659$  mV/ms,  $\text{MáxVel}_{\text{Epo-D}} = 173.187 \pm 17.463$  mV/ms; Fig. 16D<sub>2</sub>). A diferencia de lo observado en condiciones *in vivo* (Fig. 9C<sub>1</sub>), el estabilizante de los microtúbulos también incrementó la frecuencia de disparo inicial (prueba de t no pareada,  $t = 3.323$ ,  $p < 0.01$ ;  $\text{área}_{\text{ctrl}} = 22018.574 \pm 2051.967$  U. A.,  $\text{área}_{\text{Epo-D}} = 26624.568 \pm 2704.593$  U. A.; Fig. 16B<sub>1</sub>). También a diferencia de lo observado en condiciones *in vivo* (Fig. 9B<sub>1</sub>), la Epo-D no cambió significativamente la  $R_m$  (prueba de t pareada,  $t = 1.543$ ,  $p > 0.05$ ;  $R_{m\text{ctrl}} = 174.383 \pm 15.629$  M $\Omega$ ,  $R_{m\text{Epo-D}} = 213.233 \pm 24.721$  M $\Omega$ ).

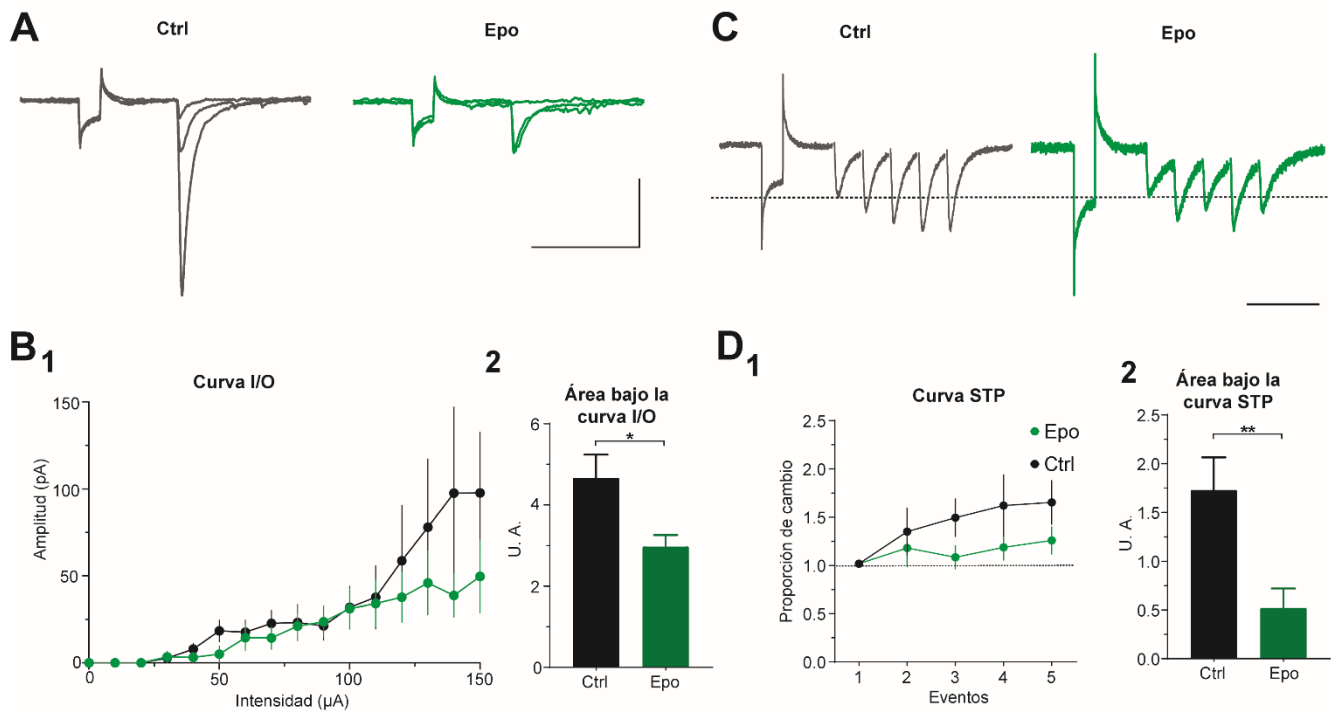


**Figura 16. Efectos de la epotilona-D sobre las propiedades intrínsecas de las neuronas principales *in vitro*.** **A**, respuestas del voltaje a la estimulación con pulsos cuadrados de corriente (-100, 0, 100, 200 y 300 pA de intensidad) de una neurona principal de CA1 antes (Ctrl, negro) y después de 15 min en presencia de la epotilona-D (Epo, verde). Escalas: 200 ms, 20 mV. **B<sub>1</sub>**, a la izquierda se aprecian las curvas intensidad-frecuencia inicial (curva IF) control y en presencia de la Epo. A la derecha se observa la comparación de las dos áreas bajo las curvas IF. **B<sub>2</sub>**, a la izquierda se muestran las curvas intensidad-frecuencia promedio en condiciones control y con la Epo. El área bajo la curva IF para las dos condiciones se aprecia a la derecha. **C**, primer potencial de acción (PA) evocado con la mínima estimulación (rheobase) de una neurona en condiciones control (izquierda) y en presencia de la Epo (derecha). Los gráficos de fase correspondientes a cada PA se muestran en los insertos. Escalas: 1 ms, 50 mV. **D<sub>1</sub>**, comparación de la amplitud del primer PA evocado en condiciones control y con Epo. **D<sub>2</sub>**, comparación de la velocidad máxima de subida del primer PA (MáxVel) entre los dos grupos experimentales. U. A. = unidades arbitrarias. Significancias: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

Debido a que la Epo-D afecta la excitabilidad intrínseca minutos después de ser administrada *in vitro*, se evaluaron los posibles cambios en la transmisión sináptica y su plasticidad a corto plazo en la vía TA. Después de 20 min, la Epo-D disminuyó el área bajo la curva I/O (prueba de t no pareada,  $t = 2.654$ ,  $p < 0.05$ ;  $\text{área}_{\text{Ctrl}} = 4667.600 \pm 571.447$  U. A.;  $\text{área}_{\text{Epo}} = 2979.000 \pm$

281.217 U. A.; Fig. 17B<sub>2</sub>) y de la curva STP (prueba de t no pareada,  $t = 3.111$ ,  $p < 0.01$ ;  $\text{área}_{\text{ctrl}} = 1.731 \pm 0.334$  U. A.;  $\text{área}_{\text{Epo}} = 0.5212 \pm 0.199$  U. A.; Fig. 17C,D). Estos efectos son consistentes con los encontrados en animales WT inyectados con el estabilizante de los microtúbulos (Fig. 13).

Estos resultados indican que la Epo-D incrementa la excitabilidad, altera la forma del PA y disminuye la transmisión sináptica y su plasticidad a corto plazo al ser administrada agudamente *in vitro*. Además, estos efectos son similares a los observados crónicamente *in vivo*.



**Figura 17. La epotilona-D reduce la transmisión sináptica y su plasticidad.** **A**, EPSCs evocadas por estimulación de la vía TA a distintas intensidades (50, 100 y 150  $\mu\text{A}$ ) en condiciones control (Ctrl, negro) y después de 15 min en presencia de la epotilona-D (Epo, verde). Escalas: 100 ms, 100 pA. **B<sub>1</sub>**, relación entrada-salida (curva I/O) de la vía TA antes y después de 15 min en presencia de la Epo. **B<sub>2</sub>**, Área bajo la curva I/O en condiciones control y en presencia de la Epo. **C**, EPSC evocadas por trenes de estimulación de 25 Hz para medir la plasticidad a corto plazo (STP) de una neurona antes y después de la administración de la Epo. Los trazos fueron escalados para que la amplitud de la primera respuesta fuera el mismo en ambos registros. Escala: 100 ms. **D<sub>1</sub>**, curva STP, en donde se aprecia la proporción de cambio de las cinco respuestas en proporción a la amplitud de la primera (fijada como 1). **D<sub>2</sub>**, área bajo la curva STP control y en presencia de la Epo. U. A. = unidades arbitrarias. Significancias: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

## 6 – DISCUSIÓN

En este trabajo se analizaron los efectos del  $\beta$ A, la proteína P-tau y su combinación, sobre el aprendizaje espacial, la flexibilidad cognitiva y las propiedades electrofisiológicas de las neuronas principales de CA1 y de su entrada sináptica proveniente de la vía TA. Asimismo, se evaluaron los efectos de un estabilizante de microtúbulos, la Epo-D, en estas condiciones fisiológicas y patológicas. Se encontró que el  $\beta$ A y la proteína P-tau generan efectos opuestos o sinérgicos sobre la excitabilidad neuronal, mientras que ambos disminuyen la memoria espacial. Además, la Epo-D revierte los efectos del  $\beta$ A y de la proteína P-tau sobre la memoria espacial, sin embargo, el estabilizador redujo la flexibilidad cognitiva y disminuyó la transmisión sináptica y su plasticidad, y tuvo efectos excitadores en los sujetos sanos y con la proteína P-tau. Estos resultados implican una interacción compleja entre el  $\beta$ A y la proteína P-tau, así como un condicionamiento de la Epo-D al estado del sujeto, debido a que sus efectos negativos son producidos en sujetos sanos o con la patología por la proteína P-tau, mientras que sus efectos favorables fueron más evidentes en animales con el insulto con el  $\beta$ A (Fig. 18). Lo anterior remarca la importancia de abordar la complejidad de la EA mediante modelos que separen los efectos individuales del  $\beta$ A y la proteína P-tau, y de esta manera identificar los tratamientos más efectivos frente a ambas patologías (sin menospreciar sus efectos secundarios) [Ranasinghe et al., 2022].

### 6.1 – DEL $\beta$ A Y P-TAU SOBRE LA INTEGRIDAD HISTOLÓGICA Y LA MEMORIA

Para modelar la enfermedad de Alzheimer y analizar la interacción entre la proteína P-tau y el  $\beta$ A, se utilizaron ratones transgénicos rTg4510 [SantaCruz et al., 2005] y ratones con una inyección intracerebroventricular del  $\beta$ A [Peña-Ortega, 2013; 2019], respectivamente. Ambos modelos presentan el deterioro cognitivo, las alteraciones electrofisiológicas y la neurodegeneración similares a la de la EA [Eslamizade et al., 2015; Torres-Flores y Peña-Ortega, 2022; Ramsden et al., 2005; Haghani et al., 2012 Xolalpa-Cueva et al., 2022]. Cabe aquí destacar que este modelo transgénico rTg4510 ha sido usado recientemente para estudiar la interacción del  $\beta$ A y P-tau [Busche et al., 2019].

Aunque en esta tesis no se realizaron evaluaciones histopatológicas exhaustivas, no se hallaron cambios en la integridad de CA1 en presencia del  $\beta$ A, la proteína P-tau o la Epo-D, lo que indica que en estas condiciones no existe un daño tisular evidente con la tinción de violeta

de cresilo. Esto es consistente con un reporte previo en donde se utilizó la misma preparación del  $\beta$ A (500 pmoles) [Salgado-Puga et al., 2015], y no se observaron cambios en la integridad del tejido al caracterizarlo con la tinción con violeta de cresilo (Fig. 15). Además, en otro trabajo donde se utilizó una dosis menor del  $\beta$ A a la utilizada en esta tesis (6.67 pmoles) no se detectaron daños en la integridad de CA1 [Eslamizade et al., 2015]. El único reporte de un daño tisular en animales inyectados con la misma dosis del  $\beta$ A utilizada en esta tesis se limitó a la región de CA3 [Raj et al., 2019]. Las lesiones visibles en CA1 con la tinción de Nissl se han reportado para una dosis del  $\beta$ A hasta 5 veces más grande (2500 pmoles) que la dosis empleada en esta tesis [Zussy et al., 2013]. Esto indica que la dosis del  $\beta$ A necesaria para producir daños a la integridad de CA1 es de alrededor de 2500 pmoles. Asimismo, el daño tisular podría ser más notorio en la cantidad de neuronas que la hiperchromía por el violeta de cresilo [Spires et al., 2006].

Por el otro lado, la pérdida de memoria espacial fue un efecto consistente producido por el  $\beta$ A, la proteína P-tau y su combinación. Las contribuciones de CA3, el GD o de CA1 a cada fase de la prueba de HW han sido bien establecidas [Lee y Kesner, 2004; Jerman et al., 2006]. Las lesiones del GD perjudican la codificación de la información necesaria para aprender este laberinto en el primer día, ya que los animales exhiben una codificación baja [Lee y Kesner, 2004], y esta alteración se reproduce al lesionar CA3 [Lee y Kesner, 2004; Jerman et al., 2006]. Por el contrario, las lesiones CA1 reducen el desempeño al comienzo del segundo día, y los animales muestran una recuperación espuria [Vago et al., 2007; Churchwell et al., 2010]. Además, las lesiones de la vía TA afectan específicamente la recuperación de la memoria espacial en el laberinto de HW [Lee y Kesner, 2004]. En este estudio, observamos que todos los animales aprendieron a resolver el laberinto de HW después de 3 días de entrenamiento repetitivo (Fig. 8A), y solo los ratones Tg mostraron un rendimiento significativamente pobre durante el segundo día (Figura 3A). Sin embargo, algunas condiciones patológicas probadas produjeron alteraciones en la recuperación de la memoria (Fig. 8C<sub>2</sub>), excepto por la combinación de patología A $\beta$  y P-tau, que condujo a una codificación deficiente el primer día de exposición al laberinto de HW (Fig. 8C<sub>1</sub>). Por lo tanto, es posible que los sustratos celulares de las alteraciones en la recuperación producidas por el  $\beta$ A o la proteína P-tau sean las neuronas principales CA1 y la vía TA [Vago et al., 2007]. Por el contrario, la base celular para las alteraciones de la codificación en ratones Tg con el  $\beta$ A global podría ser CA3 y el GD [Lee y Kesner, 2004; Jerman et al., 2006]. Se necesitarán más estudios para demostrar la existencia

de cambios en la excitabilidad de las neuronas principales de CA3 y del GD en presencia de la proteína P-tau y el  $\beta$ A.

## 6.2 – EFECTOS INDIVIDUALES DEL $\beta$ A

En este trabajo se encontró que el  $\beta$ A y la proteína P-tau inducen efectos diferenciales e incluso antagónicos sobre las propiedades intrínsecas y sinápticas de las neuronas principales de CA1 y la vía TA. En primer lugar, el  $\beta$ A aumenta la excitabilidad intrínseca de las neuronas CA1 y reduce sus entradas sinápticas por la vía TA. Por el contrario, la patología P-tau induce hipoexcitabilidad de las neuronas CA1 y aumenta sus entradas sinápticas por la vía TA. En segundo lugar, los efectos excitadores del  $\beta$ A fueron dominantes y potenciados en presencia de la proteína P-tau (Fig. 10). Además, el  $\beta$ A antagonizó los efectos potenciadores de la proteína P-tau sobre la magnitud del sag (Fig. 12) y la transmisión sináptica (Fig. 14A).

El insulto con el  $\beta$ A produjo efectos excitadores en las neuronas piramidales de CA1 similares a los reportados previamente en animales inyectados con este péptido [Eslamizade et al., 2015; Torres-Flores y Peña-Ortega, 2022], cuyas neuronas principales de CA1 también exhibieron una mayor  $R_m$  [Eslamizade et al., 2015], y mayor cantidad de PAs evocados [Eslamizade et al., 2015; Torres-Flores y Peña-Ortega, 2022], cuya amplitud fue reducida [Eslamizade et al., 2015]. En cuanto a los cambios en la  $R_m$  observados en esta tesis, éstos pueden ser explicados con base a una menor función de los canales de potasio rectificadores entrantes ( $K_{IR}$ ) [Trimmer, 2015], cuya función en las neuronas es regular el potencial de reposo y la  $R_m$  [Fujimura et al., 1997]. Salgado-Puga et al. (2017) describieron que la inyección intracerebroventricular del  $\beta$ A reduce la actividad poblacional de las neuronas piramidales de CA1, y que este efecto se previene por la activación de los canales de potasio dependientes del trifosfato de adenosina ( $K_{ATP}$ ), que son un miembro de la familia de los canales  $K_{IR}$  [Trimmer, 2016]. Este reporte indica que los canales  $K_{ATP}$  son parte del mecanismo de acción del  $\beta$ A intracerebral sobre la excitabilidad neuronal [Salgado-Puga et al., 2017]. No obstante, en esta tesis no se observaron cambios en el potencial de reposo, lo que indica que las neuronas principales de CA1 no están siendo excitadas por el  $\beta$ A a través de sus canales  $K_{ATP}$ . Es posible que los canales  $K_{ATP}$  que son expresados por las interneuronas inhibitorias de CA1 [Zawar et al., 1999] estén siendo los efectores del  $\beta$ A, el cual incrementaría la actividad de las interneuronas y produciría así una reducción neta de la actividad poblacional [Murata et al.,



2020] como ocurre en los roedores inyectados con el  $\beta$ A [Salgado-Puga et al., 2017]. Por consiguiente, es más probable que el  $\beta$ A incremente la  $R_m$  de las neuronas principales de CA1 a través de la reducción de su diámetro [Eslamizade et al., 2015]. Esto es consistente con la reducción del diámetro del eje dendrítico de neuronas principales del hipocampo por la sobreexpresión de la APP [Tsai et al., 2004]. El diámetro de una neurona determina inversamente la magnitud de su  $R_m$  [Hammond et al., 2016b], la cual es un predictor de la tasa de disparo [Dougherty et al., 2013]. Asimismo, el menor tamaño del soma de las neuronas se ha relacionado a un estado patológico en la EA [Terry et al., 1981]. Este “encogimiento neuronal” se ha atribuido a una disrupción y degradación del citoesqueleto neuronal [Kiernan y Hudson, 1991], el cual es un sistema de soporte mecánico para mantener la morfología de las neuronas [Golovyashkina et al., 2015; Baas et al., 2016]. Por lo tanto, es probable que la reducción del diámetro neuronal, y el subsecuente incremento en la  $R_m$  [Eslamizade et al., 2015], sean una consecuencia deletérea del  $\beta$ A sobre la integridad del citoesqueleto [Kiernan y Hudson, 1991]. Esta explicación se respalda con el hecho de que el  $\beta$ A reduce la densidad de microtúbulos [Zempel et al., 2017] y el transporte axonal rápido [Guo et al., 2020]. Los efectos del  $\beta$ A sobre el citoesqueleto neuronal y su importancia para los resultados de esta tesis se discuten más adelante. La inyección intracerebral del  $\beta$ A también incrementa el potencial sag de neuronas principales de la corteza [Torres-Flores et al., 2022] y de CA1 [Eslamizade et al., 2015]. El potencial sag es mediado por los canales catiónicos dependientes de la hiperpolarización y de nucleótidos cíclicos (HCN, por sus siglas en inglés) [Hu et al., 2002]. Una mayor expresión de estos canales incrementa el sag y también despolariza el potencial de reposo de las neuronas [Dougherty et al., 2013]. Sin embargo, en esta tesis no se observaron cambios en el sag ni en el potencial de reposo de las neuronas principales de CA1 ante el tratamiento con  $\beta$ A (Fig. 11). Los cambios en el sag observados en neuronas principales de CA1 por la inyección intracerebral del  $\beta$ A [Eslamizade et al. 2015] fueron medidos 10 días después de la inyección del  $\beta$ A, mientras que en esta tesis las evaluaciones se hicieron hasta 23 días después de la inyección (Fig. 6A). Por lo tanto, esta discrepancia en cuanto a los cambios del sag por el  $\beta$ A intracerebral puede deberse al tiempo de exposición a los oligómeros de este péptido, en donde el  $\beta$ A incrementaría el sag a los 10 días después de su inyección [Eslamizade et al., 2015], pero no mantiene este efecto hasta 3 semanas después en las neuronas piramidales de CA1 (esta tesis). Experimentos futuros podrán analizar la temporalidad los cambio sobre el sag causado por el  $\beta$ A.

Además de incrementar la  $R_m$  (Fig. 9), el  $\beta A$  disminuyó la amplitud y la velocidad del PA de las neuronas principales de CA1. Este efecto del  $\beta A$  sobre los PAs también se ha descrito en neuronas principales del septum medial expuestas a los oligómeros de este péptido en cultivo [George et al., 2021]. Tanto la amplitud como la velocidad del PA están mediados principalmente por la activación de los canales de sodio dependientes de voltaje ( $Nav$ ) distribuidos en el SIA y en el soma de las neuronas [Naundorf y Wolf, 2006], en donde una menor expresión de canales  $Nav$  en estos compartimentos neuronales conduce a la reducción tanto en la velocidad como en la amplitud del PA [Spratt et al., 2021]. La inyección del  $\beta A$  reduce la expresión de canales  $Nav1.1$  en el hipocampo [Fekete et al., 2019], los cuales están expresados en las neuronas principales de CA1 [Guo et al., 2008] y distribuidos en sus SIAs [Duflocq et al., 2008]. Por lo tanto, la reducción en la velocidad y amplitud del PA inducidos por la inyección del  $\beta A$  en esta tesis puede ser explicada por una disminución en la expresión de canales de sodio [Fekete et al., 2019] del SIA de las neuronas principales de CA1 [Guo et al., 2008]. El mecanismo a través del cual el  $\beta A$  reduce la expresión de canales de sodio en el SIA será discutido más adelante. En resumen, la mayor excitabilidad de las neuronas piramidales de CA1 expuestas a oligómeros del  $\beta A$  inyectados directamente al cerebro en esta tesis es consistente con los reportes previos [Eslamizade et al., 2015; Fekete et al., 2019; Torres-Flores y Peña-Ortega, 2022] que indican que el  $\beta A$  incrementa la  $R_m$  [Eslamizade et al., 2015], la frecuencia de disparo [Eslamizade et al., 2015; Torres-Flores y Peña-Ortega, 2022] y disminuye la velocidad y amplitud del PA [Fekete et al., 2019].

El  $\beta A$  también redujo la transmisión sináptica de la vía TA (Fig. 14). Este efecto inhibitorio del  $\beta A$  intracerebral se ha reproducido en nuestro laboratorio [Peña et al., 2010; Alcantara-Gonzalez et al., 2019], y en otros equipos para la sinapsis de las colaterales de Schaffer [Cullen et al., 1996] y en la vía perforante de la corteza entorrinal hacia el GD [Stephan et al., 2001]. Cabe aquí mencionar que en las colaterales de Schaffer la reducción de la transmisión sináptica por el  $\beta A$  es prevenida por un antagonista de receptores NMDA [Cullen et al., 1996]. Sin embargo, Angulo et al. (2017) describieron un aumento en la transmisión sináptica de la vía TA en rebanadas de hipocampo expuestas a oligómeros del  $\beta A$  durante 20 min, mientras que en ratones transgénicos que sobreexpresan la APP, a los 2 meses de edad, se encontró una reducción en la transmisión sináptica en esta misma sinapsis. Esto indica que el  $\beta A$  tiene un efecto excitador inmediatamente después de estar en contacto con el hipocampo [Angulo et al., 2017], mientras que 3 semanas después de su inyección (Fig. 14) o a los 2 meses de

una continua producción endógena de este péptido, se induce un efecto supresor sobre la vía TA [Angulo et al., 2017]. Es probable que el  $\beta$ A active directamente a los receptores NMDA postsinápticos en las dendritas de las neuronas principales de CA1 [Ittner et al., 2010; Texidó et al., 2011], y reduzca la recaptura de glutamato [Li et al., 2009; Cheng et al., 2009]. Lo anterior, a corto plazo, incrementaría la transmisión sináptica en la vía TA [Angulo et al., 2017] y, a largo plazo, reduciría la transmisión sináptica [esta tesis, Angulo et al., 2017]. Este efecto a largo plazo del  $\beta$ A estaría ocurriendo mediante la activación de las cadenas de señalización que requieren de la activación de receptores NMDA postsinápticos e inducen depresión a largo plazo (LTD) en la vía TA [McGregor et al., 2017], como también ocurre en la sinapsis de las colaterales de Schaffer [Li et al., 2009; Cheng et al., 2009]. Asimismo, no se descarta la posibilidad de que la exposición prolongada al  $\beta$ A también esté reduciendo el número y el tamaño de las espinas dendríticas de la vía TA, como se ha reportado en animales que sobreexpresan la APP [Neuman et al., 2015] y en cultivos de neuronas principales del hipocampo expuestas al  $\beta$ A por 7 días [Shrestha et al., 2006]. Además de que el  $\beta$ A redujo la transmisión sináptica en la vía TA, esta tesis reporta por primera vez que los oligómeros del  $\beta$ A también incrementan la STP de esta sinapsis (Fig.14D). La STP es un tipo de plasticidad sináptica que depende inversamente de la probabilidad de liberación [Debanne et al., 1996; Jackman et al., 2016]. Es decir, a menor probabilidad de liberación, mayor plasticidad a corto plazo [Jackman et al., 2016; Kim et al., 2022]. La menor STP inducida por el  $\beta$ A reportada en esta tesis es consistente con reportes previos [He et al., 2019; Alcántara-Gonzalez et al., 2019; Peña et al., 2010], que mostraron en la sinapsis de las colaterales de Schaffer (CA3→CA1) un aumento en la facilitación por pulsos pareados (FPP) que, como la STP, también es un tipo de plasticidad sináptica que depende de mecanismos presinápticos [Debanne et al., 1996]. Debido a que los incrementos en la STP y la FPP son causados por la disminución en la probabilidad de liberación del neurotransmisor desde las terminales sinápticas [Debanne et al., 1996; Jackman et al., 2016], el  $\beta$ A estaría inhibiendo la transmisión sináptica a nivel de la presinapsis, lo que se combinaría con sus efectos conocidos sobre la postsinapsis (disminución de la cantidad de receptores NMDA y de espinas dendríticas) [Li et al., 2009; Cheng et al., 2009; Neuman et al., 2015]. La APP y las enzimas que la degradan para la producción del  $\beta$ A se encuentran en la cercanía de los sitios de liberación del neurotransmisor de las terminales sinápticas [Kandalepas et al., 2013; Laβek et al., 2013; Weingarten et al., 2017]. El  $\beta$ A *per se* reduce la probabilidad de liberación de glutamato e incrementa su

facilitación en la sinapsis de las colaterales de Schaffer en CA1 [He et al., 2019] en una manera que depende de la activación de los receptores a glutamato mGluR5 presinápticos [He et al., 2019], de cambios en el acople de las vesículas sinápticas [He et al., 2019], y de una menor liberación del calcio del retículo endoplasmático durante la activación de las terminales presinápticas [Zhang et al., 2009]. Este último fenómeno limita la liberación del neurotransmisor [Emptage y Reid, 2001], por ser un proceso dependiente del calcio [Zucker et al., 1993]. Notablemente, la reducción de la probabilidad de liberación del glutamato por el  $\beta$ A en las colaterales de Schaffer por la activación de los receptores mGluR5 [He et al., 2019], coincide con los efectos producidos por la activación farmacológica de estos mismos receptores presinápticos en la vía TA [Kim et al., 2022]. El  $\beta$ A también puede reducir la liberación del neurotransmisor mediante la interrupción del transporte axonal [Guo et al., 2020], debido a que las vesículas que contienen las enzimas para la síntesis del neurotransmisor [Zheng et al., 2004], así como las mitocondrias que abastecen de los precursores químicos y del ATP para la síntesis y la liberación del neurotransmisor [Cai y Sheng, 2009], no serían transportados eficientemente hacia las terminales sinápticas [Guo et al., 2020], conduciendo así a un decaimiento en la probabilidad de liberación [Guo et al., 2005]; como se ha visto en las terminales sinápticas deficientes de mitocondrias [Sun et al., 2019]. Trabajos futuros podrán determinar si el  $\beta$ A reduce la probabilidad de liberación a través de la activación de los receptores mGluR5 y/o si se producen interrupciones en el transporte axonal. En resumen, el  $\beta$ A intracerebral disminuye la memoria espacial, incrementa la excitabilidad intrínseca de las neuronas principales de CA1 mediante un aumento en su  $R_m$  y disminuye la amplitud y velocidad de sus PA. También, el  $\beta$ A disminuye la transmisión sináptica de la vía TA e incrementa su plasticidad a corto plazo.

### **6.3 – EFECTOS INDIVIDUALES DE LA PROTEÍNA P-TAU**

Los cambios en las propiedades intrínsecas de las neuronas de los ratones Tg son idénticas a las reportadas previamente [Booth et al., 2016b; Hatch et al., 2017]. Un umbral de disparo más despolarizado determina una menor tasa de disparo en los primeros PAs de un tren de disparos [Bender y Trussell, 2008]. Los cambios en el umbral de disparo en las neuronas principales de CA1 de los ratones Tg se han relacionado causalmente con un alejamiento del SIA [Hatch et al., 2017]. Un SIA más distal recibe despolarizaciones más débiles provenientes del soma

[Grubb y Burrone, 2010] y esto limita la activación de sus canales Nav y la misma generación del PA [Hacth et al., 2017; 2023]. De hecho, el alejamiento del SIA es un fenómeno plástico que ocurre en condiciones normales para ajustar la excitabilidad de las neuronas [Grubb y Burrone, 2010; Jahan et al., 2023]. En condiciones patológicas, el alejamiento del SIA se ha atribuido directamente a la mayor presencia de P-tau en la porción del SIA más cercana al soma [Xia et al., 2016], que desestabilizaría los microtúbulos de esta región [Li et al., 2011; Spillantini & Goedert, 2013]. Debido a que los microtúbulos son un componente esencial del SIA [Jahan et al., 2023], la desestabilización de sus microtúbulos inducida por la acumulación de P-tau en la región más cercana del SIA produciría su alejamiento [Li et al., 2011; Hacth et al., 2017]. Paralelamente, la menor excitabilidad de las neuronas principales de los ratones Tg también es consistente con la actividad poblacional diezmada en CA1 [Booth et al., 2016b] y en la corteza cerebral [Menkes-Caspi et al. 2015; Booth et al., 2016a; Busche et al., 2019; Ranasinghe et al., 2022]. Por consiguiente, la expresión de la proteína P-tau induce la lejanía del SIA, lo que despolariza el umbral de disparo y resta efectividad a las despolarizaciones provenientes del soma para evocar PAs [Yoshimura y Rasband, 2014; Grubb y Burrone, 2010; Hatch et al., 2017]. En cuanto al incremento en la transmisión sináptica en la vía TA de los ratones Tg reportada en esta tesis, mencionamos que este fenómeno ya se había reportado previamente con registros de potenciales postsinápticos excitatorios (EPSPs, por sus siglas en inglés) evocados de mayor tamaño en los animales Tg [Booth et al., 2016b]. La mayor amplitud de las EPSCs (Fig. 14A) y de los EPSPs [Booth et al., 2016b] de la vía TA puede explicarse con base a un incremento en el acople eléctrico entre las dendritas apicales que generan las EPSCs [Kohler, 1985; Kajiwara et al., 2007] y el soma en donde se registran las mismas corrientes [Noam et al., 2010]. El acople eléctrico de una neurona se refiere a la conductividad eléctrica entre el sitio de generación de una señal (en este caso, las dendritas apicales) y el soma [Carnevale y Johnston, 1982], y describe el decaimiento de las señales a lo largo del eje dendrítico [Carnevale y Johnston, 1982], de tal manera que un mayor acople eléctrico conlleva a una respuesta postsináptica (EPSPc o EPSP) de mayor amplitud en el soma de la neurona [Carnevale y Johnston, 1982; Kole et al., 2007]. El que las neuronas principales de CA1 de los ratones Tg exhiban un acople eléctrico mayor se justifica en el trabajo de Booth et al. (2016b), con base al mayor tamaño del sag que presentan estas neuronas (Fig. 11) [Kole et al., 2007; Booth et al., 2016b]. El sag, como se mencionó previamente, es mediado por los canales HCN expresados en la región somatodendrítica de las neuronas [Hu et al., 2002] y con mayor

abundancia en las dendritas más distales [Magee, 1998], que a su vez son las dendritas que reciben las entradas de la vía TA en el *stratum lacunosum moleculare* de CA1 [Kohler, 1985; Kajiwara et al., 2007]. Los canales HCN generan corrientes catiónicas entrantes que se activan ante la hiperpolarización de la membrana [Hu et al., 2002; Dougherty et al., 2013]. Por lo tanto, el que las neuronas de los ratones Tg tengan un sag de mayor tamaño [Crimins et al., 2012; Booth et al., 2016b] indica una mayor abundancia de canales HCN en el soma respecto a las dendritas apicales [Booth et al., 2016b], y esto sugiere que estos canales presentan una distribución anormal en condiciones patológicas [Kole et al., 2007; Booth et al., 2016b]. Esta explicación se basa en el hecho de que P-tau desestabiliza el citoesqueleto neuronal [Spillantini & Goedert, 2013], que sirve como sistema de andamiaje para el transporte de los canales HCN en el soma y las dendritas [Noam et al., 2010], y en el hecho de que la desestabilización del citoesqueleto inducida farmacológicamente frena el transporte de los canales HCN en las dendritas de neuronas en cultivo [Noam et al., 2010]. Cabe mencionar aquí que los cambios en la distribución de los canales HCN somatodendríticos es un fenómeno que ocurre normalmente en condiciones fisiológicas y que depende de la actividad neuronal [Bender et al., 2007]. Por consiguiente, el que los canales HCN ya no sean transportados hacia las dendritas [Noam et al., 2010], en condiciones de un citoesqueleto desestabilizado por la proteína P-tau [Spillantini & Goedert, 2013], reduciría la densidad de canales en las mismas, lo cual se ha demostrado que incrementa el acople eléctrico entre las dendritas y el soma, es decir, facilita la conducción de los EPSPs en el eje dendrítico [Magee, 1998; Kole et al., 2007]. En resumen, la transmisión sináptica incrementada en la vía TA de los ratones Tg se puede explicar con base a los posibles cambios del acople eléctrico de la región somatodendrítica de las neuronas principales de CA1 atribuidos a una distribución anormal de sus canales HCN, sugerentemente derivada de la desestabilización del citoesqueleto por la proteína P-tau. Trabajos futuros podrán determinar el nivel de expresión de este tipo de canales en las dendritas de las neuronas de los ratones Tg, así como los efectos del bloqueo específico de los canales HCN sobre la respuesta postsináptica en la vía TA. Debido a que en esta tesis se observaron cambios en la plasticidad sináptica de la vía TA, no se descartan los posibles efectos de la proteína P-tau sobre la probabilidad de liberación del elemento presináptico, que es un determinante para la magnitud de la plasticidad a corto plazo [Jackman et al., 2016]. De hecho, la inyección de la proteína de tau humana en las terminales sinápticas produce un incremento en los niveles de calcio basal [Moreno et al., 2016], mismos que incrementan la

probabilidad de liberación y la transmisión sináptica [Zucker et al., 1993]. Es probable que el incremento en la transmisión sináptica inducido por la proteína tau sea un mecanismo compensatorio presináptico frente a la menor excitabilidad intrínseca de las neuronas piramidales [Crimins et al., 2011; Alcantara-Gonzalez et al., 2021]. Esta compensación se ha sugerido en un modelo de la EA que sobreexpresa la APP, cuyas células granulares del GD son menos excitables, pero sus entradas excitatorias provenientes de la CE presentan una mayor frecuencia de las sEPSCs [Alcantara-Gonzalez et al., 2021], lo que indica un mecanismo presináptico que incrementa la transmisión sináptica [Arancio et al., 1994]. Trabajos futuros podrán elucidar si los mecanismos a través de los cuales la proteína P-tau incrementa la transmisión sináptica y su plasticidad involucran elementos postsinápticos, como los canales HCN y el acople eléctrico [Booth et al., 2016b; Noam et al., 2010], o presinápticos, como la probabilidad de liberación [Moreno et al., 2016].

#### **6.4 – EFECTOS CONJUNTOS DE LA PROTEÍNA P-TAU Y EL BA**

Podría parecer contradictorio que el  $\beta$ A y la proteína P-tau produzcan la misma consecuencia cognitiva, que es una menor memoria espacial, pero ejerzan efectos diferenciales y antagónicos sobre la excitabilidad de las neuronas principales de CA1. Si bien no es posible establecer una relación causa-efecto simple entre las alteraciones hipocampales y las alteraciones cognitivas descritas con los métodos utilizados en esta tesis, tampoco se puede omitir la relación estrecha que existe entre la memoria espacial y la actividad eléctrica hipocampal [Zarrindast et al., 2002]. Tanto la hiperexcitabilidad como la hipoexcitabilidad hipocampal inducidas farmacológicamente son condiciones deletéreas para la memoria espacial [Zarrindast et al., 2002].

Las neuronas principales de CA1 de los ratones Tg  $\beta$ A de esta tesis exhibieron una mayor excitabilidad reflejada en una Rm y frecuencia de disparo incrementadas en mayor medida que las neuronas de los ratones que sólo tenían al  $\beta$ A. La velocidad y la amplitud del PA también fueron mayormente reducidos por la suma del  $\beta$ A-P-tau respecto a los efectos del  $\beta$ A solo (Fig. 10). Contrastadamente, el  $\beta$ A antagoniza los efectos de la proteína P-tau sobre el sag (Fig. 11). Esto indica que los efectos excitadores del  $\beta$ A dominan y son potenciados sobre los efectos inhibidores de la proteína P-tau. Previamente se discutió que los efectos del  $\beta$ A y de la proteína P-tau se ejercen a través de la desorganización del citoesqueleto neuronal [Kiernan

y Hudson, 1991; Zempel et al., 2012; 2017; Guo et al., 2020; Spillantini y Goedert, 2013; Li et al., 2011; Xia et al., 2016; Hatch et al., 2017]. La suma del  $\beta A$  y la proteína P-tau estaría generando una desestabilización del citoesqueleto en magnitudes mayores (condición “hiperdinámica”) a las observadas en presencia del  $\beta A$  o P-tau solos [Zempel y Mandelkow, 2012]. Por consiguiente, para explicar la dominancia de los efectos del  $\beta A$  sobre P-tau, se argumenta aquí que la  $R_m$  es un mayor determinante para la excitabilidad neuronal que el alejamiento del SIA en las neuronas principales de CA1. Esto se basa en los hechos de que un incremento en la  $R_m$  conlleva a una mayor despolarización en el soma ante la entrada de una corriente y esta despolarización se propaga con menor decaimiento hacia el SIA [Omori et al., 2016]. Basándose en la ley de Ohm ( $V = RI$ , en donde  $V$  es el potencial de la membrana,  $R$  es la  $R_m$ , e  $I$  es la corriente) y en los valores de la  $R_m$  y del umbral de disparo (Tabla 1), la inyección de 150 pA de corriente desde un potencial de mantenimiento de -70 mV despolarizaría la membrana a -41.351 mV en las neuronas principales de CA1 de los ratones Tg veh, lo cual está por debajo de su umbral de disparo (-28.649 mV). En contraste, en las neuronas de los ratones Tg con el  $\beta A$ , 150 pA de corriente despolarizarían la membrana a -30.248 mV, un valor que ya está muy por encima de su umbral de disparo (-39.752):

$$V = RI$$

$$V_{Tg\ veh} = 191.275\ M\Omega \cdot 150\ pA = 28.649\ mV \rightarrow -70\ mV + 28.649\ mV = -41.351\ mV$$

$$V_{Tg\ \beta A} = 245.011\ M\Omega \cdot 150\ pA = 39.752\ mV \rightarrow -70\ mV + 39.752\ mV = -30.248\ mV$$

Además, al estimar el cambio en el potencial de la membrana del SIA en consecuencia de esta inyección de corriente en el soma mediante el modelo del cable para el axón [Hammond et al., 2016b; Fékété et al., 2021], asumiendo un diámetro constante del SIA de 0.5  $\mu m$  para las neuronas principales de CA1 [Benavides-Piccione et al., 2020], una constante de membrana ( $\lambda$ ) igual a 209.165  $\mu m$  [Omori et al., 2016; Bekkers, 2014], la cual determina el grado de decaimiento del voltaje con base a la resistencia de la membrana ( $R_m$ ) y la resistencia interna del axón [Bekkers, 2014], y un alejamiento del SIA de hasta 5  $\mu m$  en las neuronas de los ratones Tg [Hatch et al., 2017], las despolarizaciones limitadas al SIA de las neuronas Tg seguirían tomando valores más negativos que su umbral de disparo, mientras que las despolarizaciones en el SIA de las neuronas Tg con el  $\beta A$  persistirían con magnitudes más grandes de su umbral de disparo:



$$V_{SIA-Tg\ veh} = V_{soma} e^{\frac{l}{\lambda}} = -41.352\ mV \cdot e^{\frac{18\ \mu m}{209.165\ \mu m}} = 26.325\ mV$$

$$\rightarrow -70\ mV + 26.325\ mV = -43.675\ mV$$

$$V_{SIA-Tg\ \beta A} = V_{soma} e^{\frac{l}{\lambda}} = -30.248\ mV \cdot e^{\frac{18\ \mu m}{209.165\ \mu m}} = 33.721\ mV$$

$$\rightarrow -70\ mV + 33.721\ mV = -36.279\ mV$$

En donde  $V_{SIA}$  es el potencial de la membrana estimado en el SIA,  $V_{soma}$  es el potencial de la membrana en el soma y  $l$  es la distancia entre el soma y el centro del SIA [Hatch et al., 2017]. En resumen, el incremento de la  $R_m$  asociado al  $\beta A$  permitiría que las despolarizaciones derivadas de la inyección de corriente en el soma se propaguen al SIA con menor decaimiento por la distancia, sobreponiéndose así al alejamiento del SIA en las neuronas principales de CA1 de los ratones Tg e incrementando así la excitabilidad neuronal.

Sumado a esto, el  $\beta A$  redujo la amplitud del sag que ya se encontraba incrementado en las neuronas de los ratones Tg (Fig. 11). Esto es consistente, por un lado, con la menor expresión de canales HCN por la sobreproducción del  $\beta A$  *in vivo* en un modelo animal [Saito et al., 2012] y en el lóbulo temporal de pacientes con la EA [Saito et al., 2012], y por otro lado con la mayor expresión de los canales HCN en neuronas de los ratones que expresan la proteína htau [Goniotaki et al., 2021] y en el hipocampo de pacientes con la EA [Goniotaki et al., 2021], sugiriendo un antagonismo entre el  $\beta A$  y la proteína P-tau. Previamente, se explicó que el mayor tamaño del sag es mejor explicado por una mayor expresión de los canales HCN en el soma de las neuronas de los ratones Tg [Crimins et al., 2012; Booth et al., 2016b; Musial et al., 2018]. Este fenómeno se ha atribuido a los efectos desestabilizadores de la proteína P-tau sobre el citoesqueleto neuronal [Crimins et al., 2012; Booth et al., 2016b], ya que el citoesqueleto es necesario para el transporte de los canales HCN en el soma y las dendritas de las neuronas [Noam et al., 2010]. Sin embargo, el que la Epo-D, un estabilizante del citoesqueleto, no haya sido capaz de restaurar el sag en neuronas de los ratones Tg (Fig. 11) sugiere, primero, que la disrupción del citoesqueleto no es el mecanismo a través del cual la proteína P-tau está cambiando los niveles de expresión y transporte de los canales HCN [Spillantini y Goedert, 2013; Noam et al., 2010] y, segundo, que tampoco es el mecanismo de acción del  $\beta A$  para antagonizar a la proteína P-tau respecto al tamaño del sag. Por lo tanto, es probable que el transporte de los canales HCN en las neuronas de los ratones Tg esté siendo interrumpido por la interacción con otras proteínas y complejos celulares que no son parte del citoesqueleto neuronal y que participan en su tráfico [Piskorowski et al., 2011; Santoro et al.,

2011] como la subunidades auxiliar de los canales HCN, denominada TRIP8b, que determina la abundancia en la membrana [Santoro et al., 2011] y el transporte hacia las dendritas apicales de este canal iónico [Piskorowski et al., 2011]. Este escenario es probable en vista de que algunos modelos animales de la EA que presentan una patología inducida por la proteína P-tau exhiben un transporte de canales HCN reducido en las dendritas y su acumulación en la región perisomática [Musial et al., 2018], lo cual es rescatado por un incremento en la interacción de los canales HCN con el retículo endoplasmático y su subunidad auxiliar TRIP8b [Musial et al., 2018]. Otro mecanismo a través del cual el  $\beta$ A y la proteína P-tau puedan cambiar la expresión de los canales HCN y en consecuencia la amplitud del sag, es la regulación de su expresión génica desde el núcleo de las neuronas [Multhaup et al., 2015]. El  $\beta$ A y la proteína P-tau pueden localizarse en el núcleo [Cao et al., 2001; Lu et al., 2013], y su unión al ácido desoxirribonucleico (ADN) regula la expresión de algunos genes [Multhaup et al., 2015]. Sin embargo, la totalidad de los genes que son regulados por el  $\beta$ A o la proteína P-tau aún se desconoce [Multhaup et al., 2015], y si los genes de la familia de canales HCN (*HCN1-4*) [Postea y Biel, 2011] están siendo regulados, y en qué magnitud y dirección, son interrogantes que, para el conocimiento de esta tesis, no han sido respondidas aún [Saito et al., 2012; Multhaup et al., 2015; Kazmierska-Grebowska et al., 2023]. Futuros trabajos podrán responder si la expresión de los canales HCN está siendo regulada por la proteína P-tau y el  $\beta$ A desde su transcripción limitada al núcleo de las neuronas principales de CA1.

Finalmente, el  $\beta$ A no cambió la plasticidad sináptica de la vía TA en ratones Tg, la cual se encontraba sustancialmente reducida en estos animales (Fig. 14 B). Como se describió previamente, el  $\beta$ A reduce la liberación del neurotransmisor e incrementa su facilitación [He et al., 2019], presumiblemente a través de la interferencia del reclutamiento de las vesículas sinápticas [He et al., 2019], una menor liberación del calcio desde el retículo endoplasmático [Zhang et al., 2009] y la disrupción del transporte axonal [Guo et al., 2020]. Sin embargo, la disrupción de la STP por la proteína P-tau puede deberse a que esta proteína incrementa los niveles de calcio dentro de las terminales presinápticas [Moreno et al., 2016], lo que directamente incrementa la probabilidad de liberación y reduce su facilitación y su STP [Zucker et al., 1993; Jackman et al., 2017]. Estos efectos de P-tau sobre los niveles de calcio de las terminales sinápticas dependen de su fosforilación por parte de la cinasa de la sintasa del glucógeno 3- $\beta$  (GSK3- $\beta$ , por sus siglas en inglés) [Moreno et al., 2016] y de la cinasa dependiente de la ciclina 5 (Cdk5, por sus siglas en inglés) [Moreno et al., 2016]. Debido a que

la actividad de estas enzimas es elevada por el  $\beta$ A [Isla et al., 2016; Lapresa et al., 2019], y la fosforilación de tau es incrementada por el  $\beta$ A [Lewis et al., 2001; Jin et al., 2011], es probable que la presencia de este péptido incremente los niveles de la proteína P-tau en las terminales sinápticas y, por consiguiente, favorezca sus efectos potenciadores sobre la liberación de calcio desde el retículo endoplasmático en las terminales sinápticas [Moreno et al., 2016]. En resumen, los resultados presentados aquí apuntan a la disfunción del circuito de CA1 por la acción independiente y conjunta del  $\beta$ A y la proteína P-tau (Fig. 18):

- La excitabilidad intrínseca de las neuronas principales es incrementada por el  $\beta$ A y reducida por la proteína P-tau a través de una mayor  $R_m$  y de un umbral de disparo más despolarizado, respectivamente.
- La transmisión sináptica en la vía TA es reducida por el  $\beta$ A y aumentada por la proteína P-tau.
- La facilitación de la vía TA es aumentada por el  $\beta$ A, mientras que la proteína P-tau la reduce.
- Los efectos excitadores del  $\beta$ A sobre las neuronas principales de CA1 se exacerban en presencia de la proteína P-tau.
- El  $\beta$ A antagoniza los efectos de la proteína P-tau sobre el sag.
- Los efectos supresores de la proteína P-tau sobre la facilitación en la vía TA son exacerbados en presencia del  $\beta$ A.

## **6.5 – ESTABILIZACIÓN DE LOS MICROTÚBULOS EN CONDICIONES NORMALES Y PATOLÓGICAS**

Un hallazgo relevante en este trabajo es la reversión de los efectos patológicos de la proteína P-tau y el  $\beta$ A por un estabilizador de microtúbulos: la Epo-D (Fig. 18). Este resultado indica que estas alteraciones asociadas al  $\beta$ A y a la proteína P-tau tienen un mecanismo de acción en común que desestabiliza los microtúbulos [Zempel et al., 2017; Spillantini y Goedert, 2013]. Si bien la Epo-D tuvo mayoritariamente efectos protectores en un contexto patológico, también generó efectos deletéreos en la flexibilidad cognitiva (Fig. 8), en la excitabilidad de las neuronas principales de CA1 (Fig. 9 y 10) y en la transmisión sináptica y su plasticidad en la vía TA (Fig. 14) en los ratones WT. Además, en los animales Tg, la Epo-D redujo el movimiento durante la prueba de campo abierto (Fig. 7), y disminuyó la transmisión sináptica y su

plasticidad en la vía TA (Fig. 14). Estos datos indican que, aparte de los efectos protectores de la Epo-D en condiciones patológicas, este estabilizante también produce efectos secundarios en condiciones normales y en presencia de la proteína P-tau. Este es el primer trabajo en describir efectos mixtos (protectores y deletéreos) de un estabilizante de microtúbulos en condiciones fisiológicas y patológicas, dentro de las cuales se hizo una distinción entre la presencia del  $\beta$ A, la proteína P-tau y su combinación.

El efecto protector de la Epo-D sobre la memoria en esta tesis es contradictorio a un reporte de los efectos negativos del paclitaxel, otro estabilizador de los microtúbulos [Atarod et al., 2015], en donde se midió la memoria espacial los días 3 y 4 en laberinto acuático de Morris [Atarod et al., 2015]. Sin embargo, el paclitaxel se inyectó 90 min antes de cada entrenamiento [Atarod et al., 2015]. Se ha demostrado que la inyección de paclitaxel en esta ventana de tiempo muy cercana a la fase de adquisición, y hasta 4 horas después de la misma, reduce la memoria [Uchida et al., 2014]. Sin embargo, la inyección de este mismo estabilizador hasta 8 horas después de la adquisición produce una potenciación de la memoria [Uchida et al., 2014]. Esto se debe a que durante la adquisición y alrededor de 4 horas después, hay un aumento en la densidad de microtúbulos neuronales dinámicos [Uchida et al., 2014], mientras que después de 8 h de la adquisición, los microtúbulos estables son más abundantes en el cerebro [Uchida et al., 2014]. En esta tesis se utilizó la Epo-D, debido a que este estabilizante permanece en el tejido cerebral por más de una semana [Brunden et al., 2010], a diferencia del paclitaxel, que se limita a una exposición aguda a concentraciones significativas 8 h después de su inyección [Kemper et al., 2003; Atarod et al., 2015]. Por lo tanto, los ratones usados en esta tesis presentaron una estabilización de sus microtúbulos neuronales en los períodos que requieren una mayor cantidad de microtúbulos para la consolidación de la memoria, mientras que Atarod et al. (2015) posiblemente estabilizaron los microtúbulos cerebrales en período de tiempo cuando se necesitan microtúbulos dinámicos. Esto explica por qué en esta tesis la Epo-D demostró tener efectos protectores en la memoria, mientras que en el trabajo previo se observó lo inverso [Atarod et al., 2015]. El efecto potenciador los AEC sobre la retención de la memoria también puede explicar que la Epo-D disminuyó la flexibilidad cognitiva de los ratones WT en esta tesis (Fig. 8) y en un reporte previo [Yousefzadeh et al., 2021], debido a que la flexibilidad cognitiva es un proceso que requiere de un aprendizaje de una conducta nueva y de la extinción (menor retención) de la conducta anterior [Dunsmoor et al., 2015; Alcalá et al., 2020; Torres-Flores y Peña-Ortega, 2022], mientras que la Epo-D

retarda la extinción (mayor retención) de la memoria espacial [Guo et al., 2020]. El que la retención de una conducta previa se oponga al aprendizaje de una conducta nueva [Alcalá et al., 2020], se ha atribuido a que los procesos sinápticos que favorecen la extinción de una memoria, como la depresión a largo plazo (LTD) [Rodríguez-Duran et al., 2017], se oponen a los procesos sinápticos que subyacen a su retención, como la LTP [Rodríguez-Duran et al., 2017]. Asimismo, durante la adquisición, se requiere de una mayor cantidad de microtúbulos dinámicos, lo cual se previene por la inyección de un AEC [Uchida et al., 2014]. Por lo tanto, es lógico esperar que un AEC que incrementa la cantidad de microtúbulos estables [Uchida et al., 2014; Yousefzadeh et al., 2021] sea disruptivo para la adquisición de una tarea nueva [Yousefzadeh et al., 2021]. Un trabajo reciente valida este efecto deletéreo de un AEC sobre la flexibilidad cognitiva, en donde se describe que el paclitaxel potencia la retención de una tarea que ya había sido consolidada, pero previene el aprendizaje de una nueva regla para la misma tarea [Yousefzadeh et al., 2021]. Interesantemente, el nocodazol, un desestabilizante de los microtúbulos [Merriam et al., 2011], produce el efecto inverso: acelera el aprendizaje de la nueva regla, pero extingue la memoria que había sido aprendida antes de la nueva regla [Yousefzadeh et al., 2021]. Por consiguiente, los efectos protectores de la Epo-D sobre la recuperación de la memoria espacial en esta tesis son consistentes con los reportes previos que han utilizado este mismo estabilizador [Guo et al., 2020] o el paclitaxel [Uchida et al., 2014; Yousefzadeh et al., 2021] para potenciar la consolidación y la recuperación de la memoria, y respaldan los efectos negativos de los AEC en el aprendizaje de nuevas tareas que subyacen a la flexibilidad cognitiva [Yousefzadeh et al., 2021].

Otro efecto deletéreo de la Epo-D sobre la conducta que sólo fue visto en los ratones Tg fue la reducción del movimiento exploratorio en la prueba de campo abierto (Fig. 7). Sin embargo, esta condición no afectó al desempeño de los animales en el laberinto de HW (Fig. 8), debido a que cumplieron el criterio del entrenamiento y cometieron menos errores que los animales Tg que sólo recibieron el vehículo. En ratones inyectados con paclitaxel [Sullivan et al., 2021] también se ha descrito una menor locomoción en la prueba de campo abierto [Sullivan et al., 2021]. La disminución del movimiento inducida por los AEC se ha interpretado como una parte del “comportamiento de enfermedad” (en inglés “*sickness behavior*”) asociado a la neuropatía periférica que producen los AEC [Sullivan et al., 2021], que es definida por la presencia de alodinia [Adamek et al., 2019; Smith et al., 2004] y la fatiga motriz [Berger et al., 2012]. Este síntoma es atribuido a la inflamación sistémica que presentan los pacientes con quimioterapia

de AEC [Pusztai et al., 2004; Rich et al., 2005]. Notablemente, en la EA [Holmes et al., 2009], en la demencia frontotemporal [Bright et al., 2019] y en el modelo murino rTg4510 [Lee et al., 2010], también se presenta la inflamación sistémica. Además, las inflamaciones inducidas por la inyección sistémica del lipopolisacárido bacteriano en los ratones rTg4510 son más graves que las de los animales WT [Lee et al., 2010], lo que sugiere que la inflamación producida por un AEC sería mayor en estos animales y que produciría un comportamiento de enfermedad similar a los reportados en la quimioterapia [Sullivan et al., 2021]. Trabajos futuros podrán elucidar si los ratones Tg son más susceptibles a la inflamación por los AEC y si este comportamiento es prevenido por agentes antiinflamatorios.

Otro hallazgo novedoso en este trabajo es que la Epo-D *per se* produce incrementos en la tasa de disparo (Fig. 9), reduce la velocidad del PA (Fig. 10) y la transmisión sináptica y su plasticidad (Fig. 14), varios días después de haber sido inyectada sistémicamente en animales sanos y en condiciones *in vitro* después de sólo 15 min de exposición en rebanadas de hipocampo de los ratones WT (Figs. 16 y 17). Estos resultados indican que la Epo-D es capaz de cambiar la excitabilidad y la función sináptica inmediatamente después de estar en contacto con el tejido nervioso y también puede mantener estos efectos varios días después de haber sido inyectada sistémicamente. En general, los efectos de los AEC sobre la excitabilidad neuronal se deben a las interacciones físicas del citoesqueleto con los canales iónicos anclados en la membrana plasmática [Steinmetz y Prota, 2018; Peña-Ortega et al., 2022], y a su influencia en el transporte de estos canales hacia los compartimentos neuronales que les corresponde [Noam et al., 2010; Steinmetz y Prota, 2018]. En el caso de la Epo-D, este estabilizante puede estar incrementando la excitabilidad de las neuronas principales de CA1 mediante el aumento de las corrientes de calcio mediadas por los canales de calcio dependientes de voltaje ( $Cav$ ) [Johnson y Byerly, 1993; 1994], cuya activación aumenta la tasa de disparo de las neuronas principales de CA1 [Lacinova et al., 2008]. Asimismo, la menor velocidad del PA es consistente con los efectos supresores del paclitaxel sobre las corrientes de sodio y el nivel de expresión de los canales  $Nav$  [Casini et al., 2010], debido a que estos canales determinan la magnitud de la velocidad de subida del PA [Jahan et al., 2023]. Paralelamente, la Epo-D puede estar interfiriendo con la formación y el crecimiento de microtúbulos dinámicos en los axones y los botones presinápticos [Guedes-Dias et al., 2019; Qu et al., 2019], debido a que son procesos que dependen de los microtúbulos dinámicos [Qu et al., 2019] y su interrupción limitaría la función sináptica [He et al., 2019; Sun et al., 2019], lo

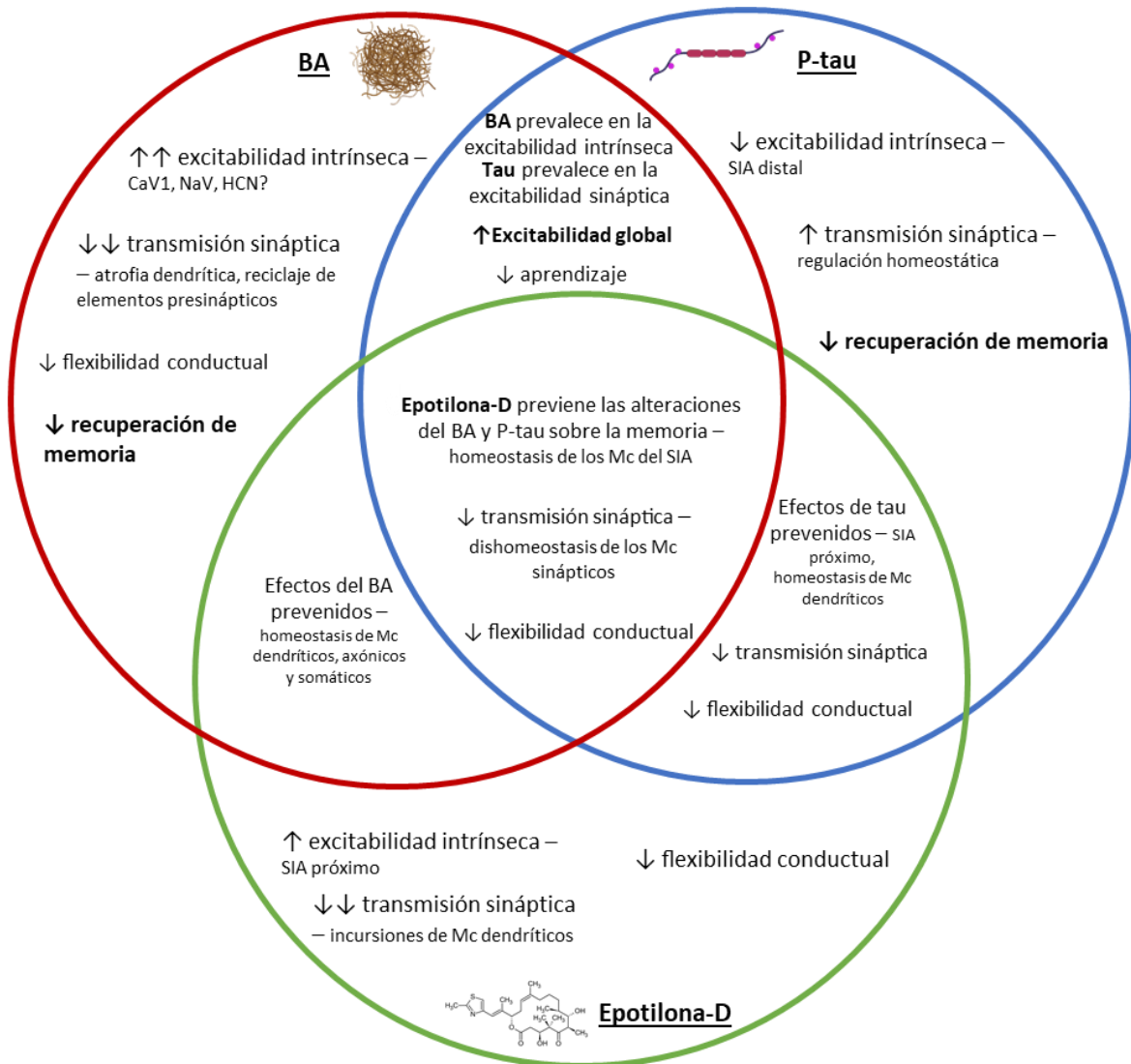
cual es consistente con la menor transmisión y la plasticidad producidos por la Epo-D (Fig. 14). Debido a que la mayoría de las alteraciones sobre la excitabilidad y la función sináptica inducidas por el  $\beta$ A y la proteína P-tau fueron restauradas por la Epo-D, es factible que la inestabilidad de los microtúbulos neuronales sea el mecanismo de acción común del  $\beta$ A y la proteína P-tau. Por consiguiente, tanto la estabilización como la desestabilización de los microtúbulos neuronales son fenómenos que, si no son regulados dentro de un rango fisiológico normal [Uchida et al., 2014], conllevan efectos negativos sobre la conducta y la fisiología cerebral [Peña-Ortega et al., 2022]. Como se describió previamente, el incremento en la excitabilidad inducida por el  $\beta$ A se ha atribuido a la reducción del tamaño del soma de las neuronas [Eslamizade et al., 2015], el cual está regulado positivamente por la estabilidad del citoesqueleto neuronal [Kiernan y Hudson, 1991; Golovyashkina et al., 2015; Baas et al., 2016]. Asimismo, la menor velocidad y amplitud del PA provocados por el  $\beta$ A son muy similares a los cambios observados en la forma del PA después del acortamiento del SIA que conduce a la menor expresión de canales Nav en esta región [Jahan et al., 2023], y este proceso está regulado por la dinámica de los microtúbulos que conforman el SIA [Jahan et al., 2023]. La menor transmisión sináptica y el incremento en su STP provocados por el  $\beta$ A indican una menor probabilidad de liberación del glutamato desde las terminales sinápticas de la vía TA [Jackman et al., 2017], y puede deberse a la una interrupción del transporte axonal [Sun et al., 2019; Guo et al., 2020], particularmente el de las mitocondrias y las vesículas sinápticas [Zheng et al., 2004; Cai y Sheng, 2009], que son necesarias para la liberación del neurotransmisor [Guo et al., 2005], la disrupción del anclaje de las vesículas sinápticas [He et al., 2019] y la menor liberación del calcio del retículo endoplasmático [Zhang et al., 2009]. El transporte axonal y el tráfico, así como el reciclaje y el reclutamiento de las vesículas sinápticas en el sitio activo, son procesos que dependen de los microtúbulos del axón y de las terminales sinápticas [Qu et al., 2019], y son frenados por una mayor inestabilidad de los microtúbulos [Lepicard et al., 2014; Shimojo et al., 2019]. Paralelamente, la menor excitabilidad de las neuronas de los ratones Tg está asociada al alejamiento del SIA [Hatch et al., 2017], que es un proceso que depende directamente de la mayor inestabilidad de los microtúbulos del SIA más proximal [Santake et al., 2017], sugerentemente mediado por la mayor concentración de la proteína P-tau en esta región del SIA [Spillantini y Goedert, 2013; Hatch et al., 2017]. En todos estos procesos descritos, que se encuentran alterados por el  $\beta$ A o la proteína P-tau, se produjo un rescate por parte de la Epo-D (Tabla 2), lo que permite argumentar que la inestabilidad de los

microtúbulos es un mecanismo de acción necesario para la manifestación de los efectos deletéreos del  $\beta$ A y la proteína P-tau sobre la excitabilidad y la función sináptica en CA1. La inestabilidad de los microtúbulos neuronales se ha descrito en el tejido de pacientes con la EA [Iqbal et al., 1986; Hempen y Brion, 1996] y en los modelos animales de taupatías que cursan con deterioro en la memoria y con histopatología asociada a la proteína tau [Brunden et al., 2010; Zhang et al., 2012; Penazzi et al., 2016; Hatch et al., 2017; Zempel y Mendelkow, 2012, 2017; Guo et al., 2020]. En estos modelos animales, la mayoría de sus alteraciones cognitivas y funcionales también fueron rescatadas por un AEC [Brunden et al., 2010; Zhang et al., 2012; Penazzi et al., 2016; Hatch et al., 2017; Zempel y Mendelkow, 2012, 2017; Guo et al., 2020]. Sin embargo, la efectividad de los AEC no ha sido evaluada a largo plazo y tampoco se ha evaluado los efectos de estos fármacos en la salud de los sujetos experimentales con la EA [Bristol-Myers Squibb, 2013; Anand y Sabbagh, 2015]. Análogamente, los efectos adversos de estos fármacos se han reportado repetidamente para individuos sanos [Mercado-Gómez et al., 2004; Atarod et al., 2015; Ferris et al., 2019] y, con menor frecuencia, para individuos con neurodegeneración [Clark et al., 2018], lo que indica que la ocurrencia de los efectos negativos de los AEC depende del estado fisiopatológico previo de los individuos [Peña-Ortega et al., 2022]. En vista de los efectos negativos reportados en esta tesis, se argumenta que el uso de los AEC para el tratamiento de la EA y otras taupatías aun requiere mayor investigación sobre sus mecanismos de acción, sus efectos secundarios y las consecuencias sobre la calidad de vida de los pacientes. Al parecer, se requiere que la población de microtúbulos neuronales sea regulada homeostáticamente según las demandas cognitivas y funcionales [Uchida et al., 2014]. Como se describió, los microtúbulos participan en los mecanismos de plasticidad cerebral que se subyacen al aprendizaje [Peña-Ortega et al., 2022; Uchida et al., 2014]. En las fases tempranas del aprendizaje, se incrementa la cantidad de microtúbulos dinámicos, mientras que en las fases más avanzadas del aprendizaje ocurre lo opuesto: aumenta la estabilidad de los microtúbulos [Uchida et al., 2014]. Esta regulación de la dinámica de los microtúbulos se estaría sesgando hacia la desestabilización en condiciones patológicas por la EA [Iqbal et al., 1986; Hempen y Brion, 1996]. Sin embargo, la manipulación farmacológica actual está lejos de restaurarla a su rango dinámico normal. Sería deseable contar con tratamientos que puedan modular a los microtúbulos de manera específica en la escala espacial y temporal para permitir la transición de sus estados estables e inestables como ocurre en condiciones fisiológicas [Uchida et al., 2014] y no “fijar” homogéneamente a toda la



población de microtúbulos neuronales en un solo estado estable con la administración sistémica de un AEC [Müller-Deku et al., 2020].

Se puede concluir entonces que la epotilona-D ofrece un potencial prometedor como tratamiento para las taupatías y la EA, debido a que tiene efectos favorables en condiciones patológicas sobre la memoria y la fisiología cerebral. Además, debido a la complejidad de sus efectos secundarios en la conducta y la fisiología cerebral, se recomienda investigar más sobre sus mecanismos de acción [Mitchinson, 2012] y hacer un monitoreo de los sujetos experimentales en tratamiento a largo plazo para detectar la aparición, la magnitud y la temporalidad de los efectos protectores y negativos [Bristol-Myers Squibb, 2013]. Con base a la efectividad de los efectos protectores (mejoramiento de la memoria) y a la severidad de los efectos secundarios (menor flexibilidad cognitiva, alodinia, inflamación), se podrá determinar la viabilidad de los AEC para su uso clínico.



**Figura 18. Modelo de interacción entre el  $\beta$ A, la proteína P-tau y la estabilización de los microtúbulos.** Las condiciones experimentales que se manejaron en el presente trabajo repercutieron sobre la conducta y la fisiología de CA1. El  $\beta$ A incrementa la excitabilidad intrínseca, disminuye la transmisión sináptica y la recuperación de la memoria. Estas alteraciones se ven prevenidas en presencia de la Epo-D. Por otra parte, la patología inducida por la proteína tau genera efectos inversos a los del  $\beta$ A sobre la actividad neuronal y sináptica, pero coincide en generar a una menor recuperación de la memoria. Análogamente, los efectos de la proteína P-tau también pueden ser revertidos por la Epo-D. Por el otro lado, la suma del  $\beta$ A con la patología inducida por P-tau conlleva a una excitabilidad general incrementada. Esto viene acompañado de un menor aprendizaje. No obstante, la Epo-D también previene los efectos cooperativos del  $\beta$ A y de P-tau. Cabe destacar que la Epo-D tiene efectos *per se* sobre la excitabilidad neuronal y sobre la flexibilidad conductual (cambio de regla). La menor flexibilidad conductual también se observa en presencia de  $\beta$ A+P-tau.

## **7 – CONCLUSIONES**

### **7.1 – CONCLUSIÓN GENERAL**

La epotilona-D revierte las alteraciones cognitivas y fisiológicas de un modelo de la EA que presenta la patología de la proteína P-tau y el  $\beta$ A.

### **7.2 – CONCLUSIONES PARTICULARES**

1. El  $\beta$ A deteriora la recuperación de la memoria espacial e incrementa la excitabilidad intrínseca de las neuronas piramidales de CA1, además de que disminuye la transmisión sináptica y aumenta su facilitación en la vía temporoamónica.
2. La patología inducida por la proteína tau deteriora la recuperación de la memoria espacial, reduce la excitabilidad intrínseca de las neuronas piramidales de CA1, e incrementa la transmisión sináptica y reduce su facilitación en la vía temporoamónica.
3. El  $\beta$ A y la proteína P-tau producen efectos patológicos sinérgicos sobre la memoria espacial
4. Los efectos excitadores del  $\beta$ A sobre las neuronas principales de CA1 son potenciados en un contexto de la patología inducida por la proteína p-tau
5. El  $\beta$ A tiene efectos antagónicos a los de la proteína P-tau sobre la magnitud del sag y la transmisión sináptica.
6. La epotilona-D reduce la flexibilidad cognitiva, incrementa sutilmente la excitabilidad intrínseca neuronal y reduce la transmisión sináptica en condiciones fisiológicas normales.
7. La epotilona-D previene las alteraciones cognitivas y algunas alteraciones electrofisiológicas causadas por el  $\beta$ A y la patología inducida por la proteína P-tau.
8. La epotilona-D reduce el movimiento, incrementa la excitabilidad de las neuronas principales de CA1 y reduce la transmisión sináptica en la vía TA de los ratones con la patología por la proteína P-tau.

## 8 – REFERENCIAS

- Ahles TA, Saykin AJ, Furstenberg CT, Cole B, Mott LA, Skalla K, Whedon MB, Bivens S, Mitchell T, Greenberg ER, Silberfarb PM. 2002. Neuropsychologic impact of standard-dose systemic chemotherapy in long-term survivors of breast cancer and lymphoma. *J Clin Oncol* 20(2): 485-93.
- Albright AF, Barten DM, Lee FY. 2009. Use of epothilone d in treating tau-associated diseases including alzheimer's disease. *European Patent Office*.
- Alcalá JA, Callejas-Aguilera JE, Nelson JB, Rosas JM. 2020. Reversal training facilitates acquisition of new learning in a Morris water maze. *Learn Behav* 48: 208-20.
- Alcantara-Gonzalez D, Chartampila E, Criscuolo C, Scharfman HE. 2021. Early Changes in Synaptic and Intrinsic Properties of Dentate Gyrus Granule Cells in a Mouse Model of Alzheimer's Disease Neuropathology and Atypical Effects of the Cholinergic Antagonist Atropine. *Neurobiol of Disease* 152. DOI: 10.1016/j.nbd.2021.105274.
- Alcantara-González 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: 1150-1164. DOI: <https://doi.org/10.1002/hipo.23129>
- Alzheimer's Disease International (ADI). 2015. World Alzheimer Report 2018 The state of the art of dementia research: New frontiers. Londres.
- Alzheimer's Disease International (ADI). 2018. World Alzheimer Report 2015 The Global Impact of Dementia An Analysis of Prevalence, Incidence, Cost and Trends. Londres.
- Amaral DG. 1993. Emerging principles of intrinsic hippocampal organization. *Curr Op Neurobiol* 3(2): 225-9.
- Amaral DG, Dolorfo C, Varez-Royo P. 1991. Organization of CA1 projections to the subiculum: a PHA-L analysis in the rat. *Hippocampus* 1: 415–435. DOI: 10.1002/hipo.450010410
- Anand K, Sabbagh M. 2015. Early investigational drugs targeting tau protein for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Investig Drugs* 24(10): 1355-60.
- Angulo SL, Orman R, Neymotin SA, Liu L, Buitrago L, Cepeda-Prado E, Stefanov D, Lytton WW, Stewart M, Small SA, Duff KE, Moreno H. 2017. Tau and amyloid-related pathologies in the entorhinal cortex have divergent effects in the hippocampal circuit. *Neurobiol Dis* 108: 261-276. DOI: 10.1016/j.nbd.2017.08.015
- Arancio O, Korn H, Gulyas A, Freund T, Miles R. 1994. Excitatory synaptic connections onto rat hippocampal inhibitory cells may involve a single transmitter release site. *J Physiol* 481(2): 395-405.
- Arrigoni E, Greene RW. 2004. Schaffer collateral and perforant path inputs activate different subtypes of NMDA receptors on the same CA1 pyramidal cell. *Br J Pharmacol* 142(2): 317-22. DOI: 10.1038/sj.bjp.0705744
- Atarod D, Eskandari-Sedighi G, Pazhoohi F, Karimian SM, Khajeloo M, Riazi GH. 2015. Microtubule dynamicity is more important than stability in memory formation: an in vivo study. *J Mol Neurosci* 56: 313–319. DOI: 10.1007/s12031-015-0535-4
- Avila J, Lucas JJ, Pérez M, Hernández F. 2004. Role of Tau Protein in Both Physiological and Pathological Conditions. *Physiol Rev* 84: 361-384. DOI: 10.1152/physrev.00024.2003
- Azouz R, Jensen MS, Yaari Y. 1996. Ionic basis of spike after-depolarization and burst generation in adult rat hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Physiol* 492: 211–223. DOI: 10.1113/jphysiol.1996.sp021302

- Baas PW, Deitch JS, Black MM, Banker GA. 1988. Polarity orientation of microtubules in hippocampal neurons: uniformity in the axon and nonuniformity in the dendrite. *Proc Natl Acad Sci* 85: 8335–8339. DOI: 10.1073/pnas.85.21.8335
- Baas PW, Rao AN, Matamoros AJ, Leo L. 2016. Stability properties of neuronal microtubules. *Cytoskeleton* 73(9): 442-60. DOI: 10.1002/cm.21286
- Ballatore C, Brunden KR, Huryn DM, Trojanowski JQ, Lee VM-Y, Smith AB III. 2012. Microtubule Stabilizing Agents as Potential Treatment for Alzheimer's Disease and Related Neurodegenerative Tauopathies. *J Med Chem* 55(21): 8979-8996. DOI: 10.1021/jm301079z
- Balestrino M, Aitken PG, Somjen GG. 1986. The effects of moderate changes of extracellular  $K^+$  and  $Ca^{2+}$  on synaptic and neural function in the CA1 region of the hippocampal slice. *Brain Res* 377(2): 229-39.
- Balleza-Tapia H, Huanosta-Gutierrez A, Marquez-Ramos A, Arias N, Peña F. 2010. Amyloid  $\beta$  oligomers decrease hippocampal spontaneous network activity in an age-dependent manner. *Curr Alzheimer Res* 7(5): 453-62. DOI: 10.2174/156720510791383859
- Barendrecht S, Schreurs A, Geissler S, Sabanov V, Ilse V, Rieckmann V, Eichentopf R, Künemund A, Hietel B, Wussow S, Hoffmann K. 2023. A novel human tau knock-in mouse model reveals interaction of Abeta and human tau under progressing cerebral amyloidosis in 5xFAD mice. *Alzheimer's Res Ther* 15(1): 1-23.
- Barthélemy NR, Li Y, Joseph-Mathurin N, Gordon BA, Hassenstab J, Benzinger TL, Buckles V, Fagan AM, Perrin RJ, Goate AM, Morris JC. 2020. A soluble phosphorylated tau signature links tau, amyloid and the evolution of stages of dominantly inherited Alzheimer's disease. *Nat Med* 26(3): 398-407. DOI: 10.1038/s41591-020-0781-z
- Bekkers, J. (2014). Resistivity, Axial. En: Jaeger, D., Jung, R. (eds). *Encyclopedia of Computational Neuroscience*. Springer, New York.
- Benavides-Piccione R, Regalado-Reyes M, Fernaud-Espinosa I, Kastanauskaite A, Tapia-González S, León-Espinosa G, Rojo C, Insausti R, Segev I, DeFelipe J. 2020. Differential structure of hippocampal CA1 pyramidal neurons in the human and mouse. *Cereb Cort* 30(2): 730-52.
- Bender RA, Kirschstein T, Kretz O, Brewster AL, Richichi C, Rüschemschmidt C, Shigemoto R, Beck H, Frotscher M, Baram TZ. 2007. Localization of HCN1 channels to presynaptic compartments: novel plasticity that may contribute to hippocampal maturation. *J Neurosci* 27(17): 4697-706.
- Berger AM, Gerber LH, Mayer DK. 2012. Cancer-related fatigue: implications for breast cancer survivors. *Cancer* 118(S8): 2261-9.
- Berron D, Cardenas-Blanco A, Bittner D, Metzger CD, Spottke A, Heneka MT, Fließbach K, Schneider A, Teipel SJ, Wagner M, Speck O, Jessen F, Düzel E. 2019. Higher CSF Tau Levels Are Related to Hippocampal Hyperactivity and Object Mnemonic Discrimination in Older Adults. *J Neurosci* 39 8788–8797. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1279-19.2019
- Billups B, Forsythe ID. 2002. Presynaptic mitochondrial calcium sequestration influences transmission at mammalian central synapses. *J Neurosci* 22(14): 5840-7.
- 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. DOI: 10.1038/nprot.2006.312
- Blackmore T, Meftah S, Murray TK, Craig PJ, Blockeel A, Phillips K, Eastwood B, O'Neill MJ, Marston H, Ahmed Z, Gilmour G. 2017. Tracking progressive pathological and functional decline in the rTg4510 mouse model of tauopathy. *Alzheimer's Res Ther* 9(1): 1-5.

- Blasco-Ibanez JM, Freund TF. 1995. Synaptic input of horizontal interneurons in stratum oriens of the hippocampal CA1 subfield: structural basis of feed-back activation. *Eur J Neurosci* 7(10): 2170-80.
- Bollag DM, McQueney PA, Jian Zhu, Otto Hensens, Lawrence Koupal, Jerrold Liesch, Michael Goetz, Elias Lazarides,1 and Catherine M. Woods. 1995. Epothilones, a New Class of Microtubule-stabilizing Agents with a Taxol-like Mechanism of Action. *Cancer Res* 55: 2325-2333.
- Booth CA, Ridler T, Murray TK, Ward MA, de Groot E, Goodfellow M, Phillips KG, Randall AD, Brown JT. 2016a. Electrical and Network Neuronal Properties Are Preferentially Disrupted in Dorsal, But Not Ventral, Medial Entorhinal Cortex in a Mouse Model of Tauopathy. *Neurobiol Dis* 36(2): 312-324. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2845-14.2016
- Booth CA, Witton J, Nowacki J, Tsaneva-Atanasova K, Jones MW, Randall AD, Brown JT. 2016b. Altered intrinsic pyramidal neuron properties and pathway-specific synaptic dysfunction underlie aberrant hippocampal network function in a mouse model of tauopathy. *J Neurosci* 36: 350-363. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2151-15.2016
- Borel M, Guadagna S, Jang HJ, Kwag J, Paulsen O. 2013. Frequency dependence of CA3 spike phase response arising from h-current properties. *Front Cell Neurosci* 7: 263. DOI: 10.3389/fncel.2013.00263
- Braak H, Braak E. 1991a. Demonstration of amyloid deposits and neurofibrillary changes in whole brain sections. *Brain Pathol* 1: 213–216. DOI: 10.1111/j.1750-3639.1991.tb00661.x
- Braak H, Braak E. 1991b. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82(4): 239-59. DOI: 10.1007/BF00308809.
- Bright F, Werry EL, Dobson-Stone C, Piguet O, Ittner LM, Halliday GM, Hodges JR, Kiernan MC, Loy CT, Kassiou M, Kril JJ. 2019. Neuroinflammation in frontotemporal dementia. *Nat Rev Neurol* 15(9): 540-55.
- Bristol-Myers Squibb. 2013. Study to Evaluate the Safety, Tolerability and the Effect of BMS-241027 on Cerebrospinal Fluid Biomarkers in Subjects With Mild Alzheimer's Disease. En: ClinicalTrials.gov. Internet National Library of Medicine (US), Bethesda, MD.
- Brizuela M, Blizzard CA, Chuckowree JA, Dawkins E, Gasperini RJ, M. Young KM, Dickson TC. 2015. The microtubule-stabilizing drug Epothilone D increases axonal sprouting following transection injury in vitro. *Mol Cell Neurosci* 66:129-140. DOI: 10.1016/j.mcn.2015.02.006
- Broadbent NJ, Gaskin S, Squire LR, Clark RE. 2010. Object recognition memory and the rodent hippocampus. *Learn Mem* 17(1): 5-11.
- Brockett AT, LaMarca EA, Gould E. 2015. Physical exercise enhances cognitive flexibility as well as astrocytic and synaptic markers in the medial prefrontal cortex. *PLoS One* 10. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124859>
- Brown JT, Chin J, Leiser SC, Pangalos MN, Randall AD. 2011. Altered Intrinsic Neuronal Excitability and Reduced Na<sup>+</sup> Currents in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Neurobiol Aging* 32 (11): 2109.e1-2109.e14. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2011.05.025.
- Brun, V. H. et al. 2008. Impaired spatial representation in CA1 after lesion of direct input from entorhinal cortex. *Neuron* 57: 290–302. DOI: 10.1016/j.neuron.2007.11.034
- Brunden KR, Lee VM, Smith AB 3rd, Trojanowski JQ, Ballatore C. 2017. Altered microtubule dynamics in neurodegenerative disease: Therapeutic potential of microtubule-stabilizing drugs. *Neurobiol Dis* 105: 328-335. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.12.021.

- Brunden KR, Zhang B, Carroll J, Yao Y, Potuzak JS, Hogan AL, Iba M, James MJ, Xie SX, Ballatore C, Smith III AB, Lee VM, Trojanowski JQ. 2010. Epothilone D Improves Microtubule Density, Axonal Integrity, and Cognition in a Transgenic Mouse Model of Tauopathy. *J of Neurosci* 30(41): 13861–13866. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3059-10.2010
- Bryskier A, Bergogne-Berezin E. Macrolides. 2005. [18] Macrolides. En: Bryskier (ed.). *Antimicrobial Agents: Antibacterials and Antifungals*, pp. 475-526. ASM express. Washington, D.C.
- Burghardt NS, Park EH, Hen R, Fenton AA. 2012. Adult-born hippocampal neurons promote cognitive flexibility in mice. *Hippocampus* 22: 1795 -1808. DOI: <https://doi.org/10.1002/hipo.22013>
- Busche MA, Eichhoff G, Adelsberger H, Abramowski D, Wiederhold KH, Haass C, Staufenbiel M, Konnerth A, Garaschuk O. 2008. Clusters of hyperactive neurons near amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Science* 321: 1686–1689. DOI: 10.1126/science.1162844
- Busche, MA, Kekus M, Adelsberger H, Noda T, Förstl H, Nelken I, Konnerth A. 2015. Rescue of long-range circuit dysfunction in Alzheimer's disease models. *Nat Neurosci* 18: 1623–1630. DOI: 10.1038/nn.4137
- Busche MA, Konnerth A. 2016. Impairments of neural circuit function in Alzheimer's disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 371: 20150429. DOI: 10.1098/rstb.2015.0429
- Busche MA, Wegmann S, Dujardin S, Commins C, Schiantarelli J, Klickstein N, Kamath TV, Carlson GA, Nelken I, Hyman BT. 2019. Tau impairs neural circuits, dominating amyloid- $\beta$  effects, in Alzheimer models in vivo. *Nat Neurosci* 22: 57–64. DOI: 10.1038/s41593-018-0289-8
- Buzsáki G. 2002. Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* 33(3): 325-40. DOI: 10.1016/s0896-6273(02)00586-x. PMID: 11832222.
- Caillé I, Allinquant B, Dupont E, Bouillot C, Langer A, Müller U, Prochiantz A. 2004. Soluble form of amyloid precursor protein regulates proliferation of progenitors in the adult subventricular zone. *Development* 131 (9): 2173–2181. DOI: <https://doi.org/10.1242/dev.01103>
- Canteras NS, Simerly RB, Swanson LW. 1992. Connections of the posterior nucleus of the amygdala. *J Comp Neurol* 324(2): 143-79. DOI: 10.1002/cne.903240203
- Cao X, Sudhof TC. 2001. A transcriptionally active complex of APP with Fe65 and histone acetyltransferase Tip60. *Science* 293(5527): 115-20.
- Cai Q, Sheng ZH. 2009. Mitochondrial transport and docking in axons. *Expo Neurol* 218(2): 257-67.
- Capilla-López MD, Deprada A, Andrade-Talavera Y, Martínez-Gallego I, Coatl-Cuaya H, Rodríguez-Alvarez J, Rodríguez-Moreno A, Parra-Damas A, Saura CA. 2023. Differential neural circuit vulnerability to  $\beta$ -amyloid and tau pathologies in novel Alzheimer disease mice. *bioRxiv* 2023-04.
- Capogna N. 2004. Distinct properties of presynaptic group II and III metabotropic glutamate receptor-mediated inhibition of perforant pathway-CA1 EPSCs. *Eur J Pharmacol* 19: 2847-2848. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2004.03378.x
- Carnevale NT, Johnston DA. 1982. Electrophysiological characterization of remote chemical synapses. *J Neurophysiol* 47(4): 606-21.

- Cartelli D. 2021. Neuronal structure in aging: cytoskeleton in health and disease. *In Assessments, Treatments and Modeling in Aging and Neurological Disease* (pp. 53-64). Academic Press.
- Casini S, Tan HL, Demirayak I, Remme CA, Amin AS, Scicluna BP, Chatyan H, Ruijter JM, Bezzina CR, van Ginneken AC, Veldkamp MW. 2010. Tubulin polymerization modifies cardiac sodium channel expression and gating. *Cardiovascular Res* 85(4): 691-700.
- Cavaletti, G., Marmioli, P. 2010. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity. *Nat Rev Neurol* 6(12): 657-66. DOI: 10.1038/nrneuro.2010.160
- Cenquizca, L. A. & Swanson, L. W. 2007. Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Res Rev* 56: 1–26. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2007.05.002
- Chapin SJ, Bulinski JC. 1992. Microtubule stabilization by assembly-promoting microtubule-associated proteins: a repeat performance. *Cell Motil Cytoskeleton* 23: 236–243. DOI: 10.1002/cm.970230403
- Chávez-Gutierrez L, Bammens L, Benilova I, Vandersteen A, Benurwar M, Borgers M, Lismont S, Zhou L, Van Cleynenbreugel S, Esselmann H, Wiltfang J, Serneels L, Karran E, Gijzen H, Schymkowitz J, Rousseau F, Broersen K, De Strooper B. 2012. The mechanism of gamma-Secretase dysfunction in familial Alzheimer disease. *EMBO J* 31: 2261 – 2274. DOI: 10.1038/emboj.2012.79
- Chen B, Heal W. 2008. [4.06] Thiazoles. En: Katritzky AR, Scriven EFV, Ramsden CA, Taylor RJK (eds.). *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*. Elsevier.
- Cheng J, Ji D. 2013. Rigid firing sequences undermine spatial memory codes in a neurodegenerative mouse model. *Elife* 2: e00647. DOI: 10.7554/eLife.00647
- Cheng L, Yin WJ, Zhang JF, Qi JS. 2009. Amyloid  $\beta$ -protein fragments 25–35 and 31–35 potentiate long-term depression in hippocampal CA1 region of rats in vivo. *Synapse* 63(3): 206-14.
- Churchwell JC, Morris AM, Musso ND, Kesner RP. 2010. Prefrontal and hippocampal contributions to encoding and retrieval of spatial memory. *Neurobiol Learn Mem* 93(3): 415-21. DOI: 10.1016/j.nlm.2009.12.008
- Ciccone R, Franco C, Piccialli I, Boscia F, Casamassa A, de Rosa V, Cepparulo P, Cataldi M, Annunziato L, Pannaccione A. 2019. Amyloid  $\beta$ -induced upregulation of nav1. 6 underlies neuronal hyperactivity in Tg2576 Alzheimer's disease mouse model. *Sci Rep* 9(1): 1-8.
- Cirrito, JR, Yamada KA, Finn MB, Sloviter RS, Bales KR, May PC, Schoepp DD, Paul SM, Mennerick S, Holtzman DM. 2005. Synaptic activity regulates interstitial fluid amyloid-beta levels in vivo. *Neuron* 48: 913–922. DOI: 10.1016/j.neuron.2005.10.028
- Clark JA, Blizzard CA, Breslin MC, Yeaman EJ, Lee KM, Chuckowree JA, Dickson TC. 2018. Epothilone D accelerates disease progression in the SOD1G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 44(6): 590-605.
- Colbert CM, Magee JC, Hoffman DA, Johnston D. 1997. Slow recovery from inactivation of Na<sup>+</sup> channels underlies the activity-dependent attenuation of dendritic action potentials in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 17(17): 6512-21.
- Cook C, Dunmore JH, Murray ME, Scheffel K, Shukoor N, Tong J, Castanedes-Casey M, Phillips V, Rousseau L, Penuliar MS, Kurti A. 2014. Severe amygdala dysfunction in a MAPT transgenic mouse model of frontotemporal dementia. *Neurobiol Aging* 35(7): 1769-77.



- Crimins JL, Rocher CAB, Peters A, Shultz P, Lewis J, Luebke JI. 2011. Homeostatic responses by surviving cortical pyramidal cells in neurodegenerative tauopathy. *Acta Neuropathol* 122: 551-564. DOI: 10.1007/s00401-011-0877-0
- Crimins JL, Rocher AB, Luebke JI. 2012. Electrophysiological changes precede morphological changes to frontal cortical pyramidal neurons in the rTg4510 mouse model of progressive tauopathy. *Acta Neuropathol* 124: 777-795. DOI: 10.1007/s00401-012-1038-9
- Cullen WK, Wu J, Anwyl R, Rowan MJ. 1996. Beta-amyloid produces a delayed NMDA receptor-dependent reduction in synaptic transmission in rat hippocampus. *Neuro Report* 8:87-92.
- Dalby NO, Volbracht C, Helboe L, Larsen PH, Jensen HS, Egebjerg J, Elvang AB. 2014. Altered Function of Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons in the rTg4510 Mouse Model of Tauopathy. *J Alzheimers Dis* 40: 429-442. DOI: 10.3233/JAD-131358
- Dawson HN, Ferreira A, Eyster MV, Ghoshal N, Binder LI, Vitek MP. 2001. Inhibition of neuronal maturation in primary hippocampal neurons from tau deficient mice. *J Cell Sci* 114: 1179-1187. DOI: 10.1242/jcs.114.6.1179
- Debanne D, Guerineau 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): 163-76.
- Dent EW, Baas PW. 2014. Microtubules in neurons as information carriers. *J Neurochem* 129: 235-239. DOI : 10.1111/jnc.12621
- Desai A, Mithison TJ. 1997. Microtubule polymerization dynamics. *Annu Rev Cell Dev Biol* 13: 83-117. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.13.1.83
- Desmond NL, Scott CA, Jane Jr JA, Levy WB. 1994. Ultrastructural identification of entorhinal cortical synapses in CA1 stratum lacunosum-moleculare of the rat. *Hippocampus* 4(5): 594-600. DOI: 10.1002/hipo.450040509
- Despres C, Byrne C, Qi H, Cantrelle F, Huvent I, Chambraud B, Baulieu E, Jacquot Y, Landrieu I, Lippens G, Smet-Nocca C. 2017. Identification of the Tau phosphorylation pattern that drives its aggregation. *Proc Nat Acad Sci* 114 (34): 9080-9085. DOI: 10.1073/pnas.1708448114
- Dodart JC, Mathis C, Ungerer A. 2000. The  $\beta$ -amyloid precursor protein and its derivatives: from biology to learning and memory processes. *Rev Neurosci* 11(2-3):75-94.
- Dougherty KA, Nicholson DA, Diaz L, Buss EW, Neuman KM, Chetkovich DM, Johnston D. 2013. Differential expression of HCN subunits alters voltage-dependent gating of h-channels in CA1 pyramidal neurons from dorsal and ventral hippocampus. *J Neurophysiol* 109(7): 1940-53.
- Drubin DG, Kirschner MW. 1986. Tau protein function in living cells. *J Cell Biol* 103(6): 2739-46. DOI: 10.1083/jcb.103.6.2739
- Dubey J, Ratnakaran N, Koushika SP. 2015. Neurodegeneration and microtubule dynamics: death by a thousand cuts. *Front Cell Neurosci* 9: 343. DOI: 10.3389/fncel.2015.00343
- Duflocq A, Le Bras B, Bullier E, Couraud F, Davenne M. Nav1. 2008. 1 is predominantly expressed in nodes of Ranvier and axon initial segments. *Mol Cell Neurosci* 39(2): 180-92.
- Dunsmoor JE, Niv Y, Daw N, Phelps EA. 2015. Rethinking extinction. *Neuron* 88(1): 47-63.
- Durand J. 1989. Intracellular study of oculomotor neurons in the rat. *Neuroscience* 30(3): 639-49.

- Empson R, Heinmann U. 1995. The perforant path projection to hippocampal area CA1 in the rat hippocampal-entorhinal cortex combined slice. *J Physiol* 484(3): 707-720. DOI: 10.1113/jphysiol.1995.sp020697
- Emptage NJ, Reid CA, Fine A. 2001. Calcium stores in hippocampal synaptic boutons mediate short-term plasticity, store-operated Ca<sup>2+</sup> entry, and spontaneous transmitter release. *Neuron* 29(1): 197-208.
- Eslamizade MJ, Saffarzadeh F, Mousavi SM, 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: 279-92. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.07.087
- Fagan, A. M. 2007. Cerebrospinal fluid tau/ $\beta$ -amyloid42 ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. *Arch Neurol* 64 343–349. DOI: 10.1001/archneur.64.3.noc60123
- Fan Y, Fricker D, Brager DH, Chen X, Lu HC, Chitwood RA, Johnston D. 2005. Activity-dependent decrease of excitability in rat hippocampal neurons through increases in I<sub>h</sub>. *Nature Neurosci* 8(11): 1542-51.
- Fékété A, Ankri N, Brette R, Debanne D. 2021. Neural excitability increases with axonal resistance between soma and axon initial segment. *Proc Nat Acad Sci* 118(33): e2102217118.
- Fekete C, Vastagh C, Dénes Á, Hrabovszky E, Nyiri G, Kalló I, Liposits Z, Sárvári M. 2019. Chronic amyloid  $\beta$  oligomer infusion evokes sustained inflammation and microglial changes in the rat hippocampus via NLRP3. *Neuroscience* 405: 35-46.
- Fernández-Ruiz A, Oliva A, Nagy GA, Maurer AP, Berényi A, Buzsáki G. 2017. Entorhinal-CA3 dual-input control of spike timing in the hippocampus by theta-gamma coupling. *Neuron* 93(5): 1213-26. DOI: 10.1016/j.neuron.2017.02.017
- Ferris CF, Nodine S, Pottala T, Cai X, Knox TM, Fofana FH, Kim S, Kulkarni P, Crystal JD, Hohmann AG. 2019. Alterations in Brain Neurocircuitry Following Treatment with the Chemotherapeutic Agent Paclitaxel in Rats. *Neurobiol Pain* 6. DOI: 10.1016/j.ynpai.2019.100034
- Field JJ, Kanakkanthara A, Miller JH. 2014. Microtubule-targeting agents are clinically successful due to both mitotic and interphase impairment of microtubule function. *Bioorg & Medl Chem* 22(18): 5050-5059. DOI: 10.1016/j.bmc.2014.02.035.
- Flores-Martínez E, Peña-Ortega F. 2017. Amyloid  $\beta$  peptide-induced changes in prefrontal cortex activity and its response to hippocampal input. *International journal of peptides* 2017. DOI: 10.1155/2017/7386809
- Friedhoff P, von Bergen M, Mandelkow EM, Mandelkow E. 2000. Structure of tau protein and assembly into paired helical filaments. *Biochim Biophys Acta* 1502(1): 122-32. DOI: 10.1016/S0925-4439(00)00038-7
- Garcia-Marin V, Blazquez-Llorca L, Rodriguez JR, Boluda S, Muntane G, Ferrer I, Defelipe J. 2009. Diminished perisomatic GABAergic terminals on cortical neurons adjacent to amyloid plaques. *Front Neuroanat* 3: 28. DOI: 10.3389/neuro.05.028.2009
- Gelman S, Palma J, Tombaugh G, Ghavami A. 2018. Differences in Synaptic Dysfunction Between rTg4510 and APP/PS1 Mouse Models of Alzheimer's Disease. *J of Alzheimer Dis* 61: 195–208. DOI 10.3233/JAD-170457
- George AA, Vieira JM, Xavier-Jackson C, Gee MT, Cirrito JR, Bimonte-Nelson HA, Picciotto MR, Lukas RJ, Whiteaker P. 2021. Implications of oligomeric amyloid-beta ( $\alpha$ A $\beta$ 42)

- signaling through  $\alpha 7\beta 2$ -nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) on basal forebrain cholinergic neuronal intrinsic excitability and cognitive decline. *J Neurosci* 41(3): 555-75.
- Gerth K, Bedorf N, Höfle G, Irschik H, Reichenbach H. 1996. Epothilons A and B: antifungal and cytotoxic compounds from *Sorangium cellulosum* (Myxobacteria) production, physico-chemical and biological properties. *J Antibiot* 49(6): 560-3.
- Ghosal K, Vogt DL, Liang M, Shen Y, Lamb BT, Pimplikar SW. 2009. Alzheimer's disease-like pathological features in transgenic mice expressing the APP intracellular domain. *Proc Nat Acad Sci* 106(43): 18367-72.
- Glabe CG. 2008. Structural Classification of Toxic Amyloid Oligomers. *J Biol Chem* 283(44): 29639 –29643.
- Goedert, M. 2005. Tau gene mutations and their effects. *Mov Disord* 20(12): 45-52. DOI: 10.1002/mds.20539
- Goedert MG, Spillantini MG, Jakes R, Rutherford D, Crowther RA. 1989. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron* 3(4): 519-26.
- Golding NL, Jung H, Mickus T, Spruston N. 1999. Dendritic calcium spike initiation and repolarization are controlled by distinct potassium channel subtypes in CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 19: 8789 – 8798. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.19-20-08789.1999
- Golding NL, Mickus TJ, Katz Y, Kath WL, Spruston N. 2005. Factors mediating powerful voltage attenuation along CA1 pyramidal neuron dendrites. *J Physiol* 568: 69-82. DOI: 10.1113/jphysiol.2005.086793.
- Golding NL, Spruston N. 1998. Dendritic sodium spikes are variable triggers of axonal action potentials in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Neuron* 21: 1189 –1200. DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80635-2
- Gomez CD, Read J, Acharjee S, Pittman QJ. 2019. Early life inflammation increases CA1 pyramidal neuron excitability in a sex and age dependent manner through a chloride homeostasis disruption. *J Neurosci* 39(37): 7244-59.
- Goniotaki D, Tamagnini F, Biasetti L, Rumpf SL, Fennell K, Pollack SJ, Ukwesa S, Sun H, Serpell LC, Noble W, Staras K. 2020. Synaptic dysfunction caused by truncated tau is associated with hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channelopathy. *bioRxiv* 8:2020-11.
- Goode TD, Tanaka KZ, Sahay A, McHugh TJ. 2020. An integrated index: engrams, place cells, and hippocampal memory. *Neuron* 107(5): 805-20. DOI: 10.1016/j.neuron.2020.07.011
- Gordon-Weeks PR, Fournier AE. 2013. Neuronal cytoskeleton in synaptic plasticity and regeneration. *J Neurochem* 129(2): 206-12. DOI: 10.1111/jnc.12502
- Götz J, Bodea LG, Goedert M. 2018. Rodent models for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci* (10): 583-98. DOI: 10.1038/s41583-018-0054-8
- Gould TD, Dao DT, Kovacsics CE. 2009. The Open Field Test. En: Gould T (eds): *Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice*. *Neuromethods* 42. *Humana Press*, Totowa, NJ. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-1-60761-303-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-303-9_1)
- Grubb MS, Burrone J. 2010. Activity-dependent relocation of the axon initial segment fine-tunes neuronal excitability. *Nature* 465(7301): 1070-1074. DOI: 10.1038/nature09160
- Guedes-Dias P, Nirschl JJ, Abreu N, Tokito MK, Janke C, Magiera MM, Holzbaur EL. 2019. Kinesin-3 responds to local microtubule dynamics to target synaptic cargo delivery to the presynapse. *Curr Biol* 29(2): 268-82.
- Gulisano W, Melone M, Puma DD, Tropea MR, Palmeri A, Arancio O, Grassi C, Conti F, Puzzo D. 2018. The effect of amyloid- $\beta$  peptide on synaptic plasticity and memory is influenced

- by different isoforms, concentrations, and aggregation status. *Neurobiol Aging* 71: 51-60.
- Guo F, Yu N, Cai JQ, Quinn T, Zong ZH, Zeng YJ, Hao LY. 2008. Voltage-gated sodium channel Nav1. 1, Nav1. 3 and  $\beta$ 1 subunit were up-regulated in the hippocampus of spontaneously epileptic rat. *Brain Res Bull* 75(1): 179-87.
- Guo B, Huang Y, Gao Q, Zhou Q. 2020. Stabilization of microtubules improves cognitive functions and axonal transport of mitochondria in Alzheimer's disease model mice. *Neurobiol Aging* 96, 223-32. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2020.09.011
- Guo T, Noble W, Hanger DP. 2017. Roles of tau protein in health and disease. *Acta Neuropathol* 133: 665-704. DOI: 10.1007/s00401-017-1707-9
- Guo X, Macleod GT, Wellington A, Hu F, Panchumarthi S, Schoenfield M, Marin L, Charlton MP, Atwood HL, Zinsmaier KE. 2005. The GTPase dMiro is required for axonal transport of mitochondria to *Drosophila* synapses. *Neuron* 47(3): 379-93.
- Gutiérrez-Lerma AI, Ordaz B, Peña-Ortega F. 2013. Amyloid beta peptides differentially affect hippocampal theta rhythms in vitro. *Internat J Pep*. DOI: 10.1155/2013/328140
- Guzman SJ, Schlögl A, Frotscher M, Jonas P. 2016. Synaptic mechanisms of pattern completion in the hippocampal CA3 network. *Science* 353: 1117-1125. DOI: 10.1126/science.aaf183
- Haghani M, Shabani M, Javan M, Motamedi F, Janahmadi M. 2012. CB1 cannabinoid receptor activation rescues amyloid  $\beta$ -induced alterations in behaviour and intrinsic electrophysiological properties of rat hippocampal CA1 pyramidal neurones. *Cell Physiol Biochem* 29(3-4): 391-406. DOI: 10.1159/000338494
- Hall AM, Throesch BT, Buckingham SC, Markwardt SJ, Peng Y, Wang Q, Hoffman DA, Roberson ED. 2015. Tau-Dependent Kv4.2 Depletion and Dendritic Hyperexcitability in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J of Neurosci* 35(15): 6221– 6230. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2552-14.2015
- Hammond, C. (2016a). [19] The adult hippocampal network. En: Hammond, C. *Cellular and Molecular Neurophysiology*. Elsevier.
- Hammond, C. (2016b). [13] Somato-dendritic processing of postsynaptic potentials I: Passive properties of dendrites. En: Hammond, C. *Cellular and Molecular Neurophysiology*. Elsevier.
- Hardt IH, Steinmetz H, Gerth K, Sasse F, Reichenbach H, Höfle G. 2001. New natural epothilones from *Sorangium cellulosum*, strains so ce90/B2 and So ce90/D13: isolation, structure elucidation, and SAR studies. *J Natural Products* 64(7): 847-56.
- Harris SS, Wolf F, De Strooper B, Busche MA. 2020. Tipping the Scales: Peptide-Dependent Dysregulation of Neural Circuit Dynamics in Alzheimer's Disease. *Neuron* 107(3): 417-435. DOI: 10.1016/j.neuron.2020.06.005.
- Harvey RE, Robinson HL, Liu C, Oliva A, Fernandez-Ruiz A. 2022. Hippocampo-cortical circuits for selective memory encoding, routing, and replay. *bioRxiv* 2022.09.25.509420. DOI: <https://doi.org/10.1101/2022.09.25.509420>
- Hatch RJ, Wei Y, Xia D, Götz J. 2017. Hyperphosphorylated tau causes reduced hippocampal CA1 excitability by relocating the axon initial segment. *Acta Neuropathol* 133: 717-30.
- He Y, Wei M, Wu Y, Qin H, Li W, Ma X, Cheng J, Ren J, Shen Y, Chen Z, Sun B. 2019. Amyloid  $\beta$  oligomers suppress excitatory transmitter release via presynaptic depletion of phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate. *Nature Commun* 10(1): 1193.
- Hebb DO, Williams K. 1946. A method of rating animal intelligence. *J Gen Psychol* 34(1): 59-65.

- Hempen B, Brion JP. 1996. Reduction of acetylated  $\alpha$ -tubulin immunoreactivity in neurofibrillary tangle-bearing neurons in Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 55(9): 964-72.
- Hill E, Karikari TK, Moffat KG, Richardson MJ, Wall MJ. 2019. Introduction of tau oligomers into cortical neurons alters action potential dynamics and disrupts synaptic transmission and plasticity. *eneuro* 6(5).
- Höfle G, Bedorf N, Steinmetz H, Schomburg D, Gerth K, Reichenbach H. 1996. Epothilone A and B—Novel 16-Membered Macrolides with Cytotoxic Activity: Isolation, Crystal Structure, and Conformation in Solution. *Angew Chem Int Ed* 35(13-14): 1567-9.
- Holmes C, Cunningham C, Zotova E, Woolford J, Dean C, Kerr SU, Culliford D, Perry VH. 2009. Systemic inflammation and disease progression in Alzheimer disease. *Neurology* 73(10): 768-74.
- Hoover BR, Reed MN, Su J, Penrod RD, Kotilinek LA, Grant MK, Pitstick R, Carlson GA, Lanier LM, Yuan LL, Ashe KH, Liao D. 2010. Tau mislocalization to dendritic spines mediates synaptic dysfunction independently of neurodegeneration. *Neuron* 68: 1067-1081.
- Hori T, Eguchi K, Wang HY, Miyasaka T, Guillaud L, Taoufiq Z, Mahapatra S, Yamada H, Takei K, Takahashi T. 2022. Microtubule assembly by tau impairs endocytosis and neurotransmission via dynamin sequestration in Alzheimer's disease synapse model. *Elife* 11: e73542.
- Hsieh H, Boehm J, Sato C, Iwatsubo T, Tomita T, Sisodia S, Malinow R. 2006. AMPAR removal underlies A $\beta$ -induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron* 52: 831–843.
- Hu H, Vervaeke K, Storm JF. 2002. Two forms of electrical resonance at theta frequencies generated by M-current h-current and persistent Na<sup>1</sup> current in rat hippocampal pyramidal cells. *J Physiol* 545:783–805.
- Huijbers W, Schultz AP, Papp KV, LaPoint MR, Hanseeuw B, Chhatwal JP, Hedden T, Johnson KA, Sperling RA. 2019. Tau Accumulation in Clinically Normal Older Adults Is Associated with Hippocampal Hyperactivity. *J Neurosci* 39 548–556.
- Hyman BT. 2011. Amyloid-dependent and amyloid-independent stages of Alzheimer disease. *Arch Neurol* 68: 1062–1064.
- Iqbal K, Zaidi T, Wen G, Grundke-Iqbal I, Merz P, Shaikh S, Wisniewski H, Alafuzoff I, Winblad B. 1986. Defective brain microtubule assembly in Alzheimer's disease. *Lancet* 328(8504): 421-6.
- Ishida A, Furukawa K, Keller JN, Mattson MP. 1997. Secreted form of  $\beta$ -amyloid precursor protein shifts the frequency dependency for induction of LTD, and enhances LTP in hippocampal slices. *Neuroreport* 8(9):2133-7.
- Isla AG, Vázquez-Cuevas FG, Peña-Ortega F. 2016. Exercise prevents amyloid- $\beta$ -induced hippocampal network disruption by inhibiting GSK3 $\beta$  activation. *J Alzheimer's Dis* 52(1): 333-43.
- Ittner A, Chua SW, Bertz J, Volkerling A, van der Hoven J, Gladbach A, Przybyla M, Bi M, van Hummel A, Stevens CH, Ippati S, Suh LS, Macmillan A, Sutherland G, Kril JJ, Silva APG, Mackay JP, Poljak A, Delerue F, Ke YD, Ittner LM. 2016. Site-specific phosphorylation of tau inhibits amyloid- $\beta$  toxicity in Alzheimer's mice. *Science* 354: 904–908.
- Ittner LM, Götz J. 2011. Amyloid- $\beta$  and tau—a toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience* 12(2): 67-72.
- Ittner LM, Ke YD, Delerue F, Mian Bi M, Gladbach A, van Eersel J, Wölfing H, Chieng BC, Christie MJ, Napier IA, Eckert A, Staufenbiel M, Hardeman E, Götz J. 2010. Dendritic

- Function of Tau Mediates Amyloid- $\beta$  Toxicity in Alzheimer's Disease Mouse Models. *Cell* 142:387–397. DOI 10.1016/j.cell.2010.06.036
- Jackman SL, Turecek J, Belinsky JE, Regehr WG. 2016. The calcium sensor synaptotagmin 7 is required for synaptic facilitation. *Nature* 529(7584): 88-91.
- Jackson RJ, Rudinskiy N, Herrmann AG, Croft S, Kim JM, Petrova V, Ramos-Rodriguez JJ, Pitstick R, Wegmann S, Garcia-Alloza M, Carlson GA, Hyman BT, Spires-Jones TL. 2016. Human tau increases amyloid b plaque size but not amyloid b-mediated synapse loss in a novel mouse model of Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci* 44 3056–3066.
- Jerman, T., Kesner, R.P., Hunsaker, M.R. 2006. Disconnection analysis of CA3 and DG in mediating encoding but not retrieval in a spatial maze learning task. *Learn. Mem.* 13(4): 458-64.
- Jin M, Shepardson N, Yang T, Chen G, Walsh D, Selkoe DJ. 2011. Soluble amyloid beta-protein dimers isolated from Alzheimer cortex directly induce Tau hyperphosphorylation and neuritic degeneration. *Proc Natl Acad Sci* 108: 5819 – 5824.
- Johnson BD, Byerly L. 1993. A cytoskeletal mechanism for Ca<sup>2+</sup> channel metabolic dependence and inactivation by intracellular Ca<sup>2+</sup>. *Neuron* 10(5): 797-804.
- Johnson BD, Byerly L. 1994. Ca<sup>2+</sup> channel Ca<sup>2+</sup>-dependent inactivation in a mammalian central neuron involves the cytoskeleton. *Pfluegers Archiv* 429: 14-21.
- Josephs KA. 2017. Current Understanding of Neurodegenerative Diseases Associated With the Protein Tau. *Mayo Clin Proc* 92(8): 1291-1303.
- Kajiwara, R. et al. 2007. Convergence of entorhinal and CA3 inputs onto pyramidal neurons and interneurons in hippocampal area CA1 - An anatomical study in the rat. *Hippocampus* 18: 266–280.
- Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H, Seabrook G, Borchelt D, Iwatsubo T, Sisodia S, Malinow R. 2003. APP processing and synaptic function. *Neuron* 37: 925–937.
- Kandalepas PC, Sadleir KR, Eimer WA, Zhao J, Nicholson DA, Vassar R. 2013. The Alzheimer's  $\beta$ -secretase BACE1 localizes to normal presynaptic terminals and to dystrophic presynaptic terminals surrounding amyloid plaques. *Acta Neuropathol* 126: 329-52.
- Kayed R, Lasagna-Reeves CA. 2013. Molecular Mechanisms of Amyloid Oligomers Toxicity. *J Alzheimer Dis* 33: S67-S78.
- Kazim SF, Seo JH, Bianchi R, Larson CS, Sharma A, Wong RKS, Gorbachev KY, Pereira AC. 2021. Neuronal Network Excitability in Alzheimer's Disease: The Puzzle of Similar versus Divergent Roles of Amyloid  $\beta$  and Tau. *eNeuro* 8(2): ENEURO.0418-20.2020. DOI: 10.1523/ENEURO.0418-20.2020. PMID: 33741601; PMCID: PMC8174042.
- Kazmierska-Grebowska P, Jankowski MM, MacIver MB. 2023. Missing Puzzle Pieces in Dementia Research: HCN Channels and Theta Oscillations. *Aging Dis* 15(1): 2.
- Kellogg EH, Hejab NM, Howes S, Northcote P, Miller JH, Díaz JF, Downing KH, Nogales E. 2017. Insights into the distinct mechanisms of action of taxane and non-taxane microtubule stabilizers from cryo-EM structures. *J Mol Biol* 429(5): 633-46.
- Kemper EM, van Zandbergen AE, Cleypool C, Mos HA, Boogerd W, Beijnen JH, van Tellingen O. 2003. Increased penetration of paclitaxel into the brain by inhibition of P-Glycoprotein. *Clin Cancer Res* 9(7): 2849-55.
- Kesner RP. 2013. A process analysis of the CA3 subregion of the hippocampus. *Front Cell Neurosci* 7: 78. DOI: 10.3389/fncel.2013.00078
- Kesner RP, Rolls ET. 2015. A computational theory of hippocampal function, and tests of the theory: new developments. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 1;48: 92-147.

- Kiernan JA, Hudson AJ. 1991. Changes in sizes of cortical and lower motor neurons in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* 114(2): 843-53.
- Kim HH, Lee SH, Ho WK, Eom K. 2022. Dopamine Receptor Supports the Potentiation of Intrinsic Excitability and Synaptic LTD in Temporoammonic-CA1 Synapse. *Exp Neurol* 31(6): 361-75.
- Kimura T, Sharma G, Ishiguro K, Hisanaga S. 2018. Phospho-Tau Bar Code: Analysis of Phosphoisotypes of Tau and Its Application to Tauopathy. *Front Neurosci* 44(12). DOI: 10.3389/fnins.2018.00044
- Klausberger T, Somogyi P. 2008. Neuronal diversity and temporal dynamics: the unity of hippocampal circuit operations. *Science* 321(5885): 53-7.
- Knauer B, Yoshida M. 2019. Switching between persistent firing and depolarization block in individual rat CA1 pyramidal neurons. *Hippocampus* 29: 817–835.
- Kohler, C. 1985. A projection from the deep layers of the entorhinal area to the hippocampal formation in the rat brain. *Neurosci Lett* 56: 13–19.
- Kole MH, Bräuer AU, Stuart GJ. 2007. Inherited cortical HCN1 channel loss amplifies dendritic calcium electrogenesis and burst firing in a rat absence epilepsy model. *J Physiol* 578(2): 507-25.
- Koo EH, Sisodia SS, Archer DR, Martin LJ, Weidemann A, Beyreuther K, Fischer P, Masters L, Price DL. 1990. Precursor of amyloid protein in Alzheimer disease undergoes fast anterograde axonal transport. *Proc Natl Acad Sci* 87: 1561-1565.
- Kuchibhotla KV, Wegmann S, Kopeikina KJ, Hawkes J, Rudinskiy N, Andermann ML, Spiess-Jones TL, Bacskai BJ, Hyman BT. 2014. Neurofibrillary tangle-bearing neurons are functionally integrated in cortical circuits in vivo. *PNAS* 1(111): 510–514.
- Kumar P, Mina U. 2017. Life Sciences: Fundamentals and Practice, 4th Ed. *Pathfinder Publication*. New Delhi, India.
- Laßek M, Weingarten J, Einsfelder U, Brendel P, Müller U, Volkandt W. 2013. Amyloid precursor proteins are constituents of the presynaptic active zone. *J Neurochem* 127(1): 48-56.
- Lacaille JC, Schwartzkroin PA. 1988. Stratum lacunosum-moleculare interneurons of hippocampal CA1 region. II. Intracellular and intradendritic recordings of local circuit synaptic interactions. *J Neurosci* 8(4): 1411-24.
- Lacinova L, Moosmang S, Langwieser N, Hofmann F, Kleppisch T. 2008. Cav1. 2 calcium channels modulate the spiking pattern of hippocampal pyramidal cells. *Life Sci* 82(1-2): 41-9.
- LaFerla FM, Oddo S. 2005. Alzheimer's disease: A $\beta$ , tau and synaptic dysfunction. *Trends Mol Med* 11(4): 170-176.
- Lapresa R, Agulla J, Sánchez-Morán I, Zamarreño R, Prieto E, Bolaños JP, Almeida A. 2019. Amyloid- $\beta$  promotes neurotoxicity by Cdk5-induced p53 stabilization. *Neuropharmacology* 146: 19-27.
- Lee C, Lee I. 2020. Impairment of pattern separation of ambiguous scenes by single units in the CA3 in the absence of the dentate gyrus. *J Neurosci* 2020. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2596-19.2020
- Lee DC, Rizer J, Selenica ML, Reid P, Kraft C, Johnson A, Blair L, Gordon MN, Dickey CA, Morgan D. 2010. LPS-induced inflammation exacerbates phospho-tau pathology in rTg4510 mice. *J Neuroinflammation* 7(1): 1-6.

- Lee I, Kesner RP. 2004. Encoding versus retrieval of spatial memory: Double dissociation between the dentate gyrus and the perforant path inputs into CA3 in the dorsal hippocampus. *Hippocampus* 14: 66–76.
- Lee JJ, Swain SM. 2006. Peripheral neuropathy induced by microtubule-stabilizing agents. *J Clin Oncol* 24: 1633–1642
- Lee VM, Goedert M, Trojanowski JQ. 2001. Neurodegenerative tauopathies. *Annu Rev Neurosci* 24: 1121-59. DOI: 10.1146/annurev.neuro.24.1.1121
- Lei P, Ayton S, Finkelstein DI, Spoerri L, Ciccotosto GD, Wright DK, Wong BX, Adlard PA, Cherny RA, Lam LQ, Roberts BR, Bolitakis I, Egan GF, McLean CA, Cappai R, Duce JA, Bush AI. 2012 Tau deficiency induces parkinsonism with dementia by impairing app-mediated iron export. *Nat Med* 18: 291–295.
- Lepicard S, Franco B, de Bock F, Parmentier ML. 2014. A presynaptic role of microtubule-associated protein 1/Futsch in *Drosophila*: regulation of active zone number and neurotransmitter release. *J Neurosci* 34(20): 6759-71.
- Lewis J, Dickson DW, Lin WL, Chisholm L, Corral A, Jones G, Yen SH, Sahara N, Skipper L, Yager D, Eckman C, Hardy J, Hutton M, McGowan E. 2001. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science* 293: 1487 – 1491.
- Li S, Hong S, Shepardson NE, Walsh DM, Shankar GM, Selkoe D. 2009. Soluble oligomers of amyloid  $\beta$  protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake. *Neuron* 62(6): 788-801.
- Li X, Uemura K, Hashimoto T, Nasser-Ghodsi N, Arimon M, Lill CM, Palazzolo I, Krainc D, Hyman BT, Berezovska O. 2013. Neuronal activity and secreted amyloid b lead to altered amyloid b precursor protein and presenilin 1 interactions. *Neurobiol Dis* 50: 127–134.
- Li X, Kumar Y, Zempel H, Mandelkow EM, Biernat J, Mandelkow E. 2011. Novel diffusion barrier for axonal retention of Tau in neurons and its failure in neurodegeneration. *EMBO J* 30(23): 4825-37.
- Li Z, Zhao S, Zhang HL, Liu P, Liu FF, Guo YX, Wang XL. 2018. Proinflammatory factors mediate paclitaxel-induced impairment of learning and memory. *Mediators Inflamm* 2018: 1-9. DOI: 10.1155/2018/3941840
- Lorenzini CA, Baldi E, Bucherelli C, Sacchetti B, Tassoni G. 1996. Role of dorsal hippocampus in acquisition, consolidation and retrieval of rat's passive avoidance response: a tetrodotoxin functional inactivation study. *Brain Res* 730(1-2): 32-9.
- Lue LF, Kuo YM, Roher AE, Brachova L, Shen Y, Sue L, Beach T, Kurth JH, Rydel RE, Rogers J. 1999. Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 155: 853-862.
- Lu Y, He HJ, Zhou J, Miao JY, Lu J, He YG, Pan R, Wei Y, Liu Y, He RQ. 2013. Hyperphosphorylation results in tau dysfunction in DNA folding and protection. *J Alzheimer's Dis* 37(3): 551-63.
- Lyckman AW, Confaloni AM, Thinakaran G, Sisodia SS, Moya KL. 1998. Post-translational processing and turnover kinetics of presynaptically targeted amyloid precursor superfamily proteins in the central nervous system. *J Biol Chem* 273:11100-11106.
- MacLeod, L.S., Kogan, C.S., Collin, C.A., Berry-Kravis, E., Messier, C., Gandhi, R. 2010. A comparative study of the performance of individuals with fragile X syndrome and FMR1 knockout mice on hebb-williams mazes. *Genes, Brain Behav.* 9(1): 53-64.
- Magee JC. 1998. Dendritic hyperpolarization-activated currents modify the integrative properties of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 18(19): 7613-24.



- Makani V, Zhang B, Han H, Yao Y, Lassalas P, Lou K, Paterson I, Lee VMY, Trojanowski JQ, Ballatore C, Smith III AB, Brunden KR. 2016. Evaluation of the brain-penetrant microtubule-stabilizing agent, dictyostatin, in the PS19 tau transgenic mouse model of tauopathy. *Acta Neuropathol Commun* 4: 106. DOI: 10.1186/s40478-016-0378-4
- Marinkovic P, Blumenstock S, Goltstein PM, Korzhova V, Peters F, Knebl A, Herms J. 2019. In vivo imaging reveals reduced activity of neuronal circuits in a mouse tauopathy model. *Brain* 142: 868–85.
- Massarotti A, Coluccia A, Silvestri R, Sorba G, Brancale A. 2011. The Tubulin Colchicine Domain: a Molecular Modeling Perspective. *Chem Med Chem* 7: 33-42. DOI: <https://doi.org/10.1002/cmdc.201100361>
- Matsuyama SS, Jarvik LF. 1989. Hypothesis: microtubules, a key to Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci* 86: 8152–8156. DOI: 10.1073/pnas.86.20.8152
- Matus, A. 1988. Microtubule-associated proteins: Their potential role in determining neuronal morphology. *Annu Rev Neurosci* 11: 29–44.
- Mayford M, Bach ME, Huang YY, Wang L, Hawkins RD, Kandel ER. 1996. Control of memory formation through regulated expression of a CaMKII transgene. *Science* 274(5293): 1678-83.
- McGregor G, Irving AJ, Harvey J. 2017. Canonical JAK-STAT signaling is pivotal for long-term depression at adult hippocampal temporoammonic-CA1 synapses. *FASEB J* 31(8): 3449-66.
- McDade E, Wang G, Gordon BA, Hassenstab J, Benzinger TLS, Buckles V, Fagan AM, Holtzman DM, Cairns NJ, Goate AM, Marcus DS, Morris JC, Paumier K, Xiong C, Allegri R, Berman SB, Klunk W, Noble J, Ringman J, Ghetti B, Farlow M, Sperling RA, Chhatwal J, Salloway S, Graff-Radford NR, Schofield PR, Masters C, Rossor MN, Fox NC, Levin J, Jucker M, Bateman RJ. 2018. Longitudinal cognitive and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer disease. *Neurology* 91 e1295–e1306.
- McLean CA, Cherny RA, Fraser FW, Fuller SJ, Smith MJ, Beyreuther K, Bush AI, Masters CL. 1999. Soluble pool of Abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 46: 860-866.
- Medina M, Hernández F, Avila J. 2016. New Features about Tau Function and Dysfunction. *Biomolecules* 6(2): 21. DOI: 10.3390/biom6020021
- Megías M, Emri ZS, Freund TF, Gulyas AI. 2001. Total number and distribution of inhibitory and excitatory synapses on hippocampal CA1 pyramidal cells. *Neuroscience* 102(3): 527-40.
- Méndez-Salcido, F.A., Torres-Flores, M.I., Ordaz, B., Peña-Ortega, F. 2022. Abnormal innate and learned behavior induced by neuron–microglia miscommunication is related to CA3 reconfiguration. *Glia* 70(9), 1630-51.
- Menkes-Caspi N, Yamin HG, Kellner V, Spires-Jones TL, Cohen D, Stern EA. 2015. Pathological tau disrupts ongoing network activity. *Neuron* 85(5): 959-66.
- Mercado-Gómez O, Ferrera P, Arias C. 2004. Histopathologic changes induced by the microtubule-stabilizing agent Taxol in the rat hippocampus in vivo. *J Neurosci Res* 78(4): 553-62.
- Merriam EB, Lumbard DC, Viessmann C, Ballweg J, Stevenson M, Pietila L, Hu X, Dent EW. 2011. Dynamic microtubules promote synaptic NMDA receptor-dependent spine enlargement. *PLoS One* 6(11): e27688.

- Meziane H, Dodart JC, Mathis C, Little S, Clemens J, Paul SM, Ungerer A. 1998. Memory-enhancing effects of secreted forms of the  $\beta$ -amyloid precursor protein in normal and amnesic mice. *Proc Nat Acad Sci* 95(21): 12683-8.
- Michaelis ML. 2006. Ongoing In Vivo Studies with Cytoskeletal Drugs in Tau Transgenic Mice. *Curr Alzheimer Res* 3(3): 215-9. DOI: 10.2174/156720506777632880
- Michaelis ML, Ranciat N, Chen Y, Bechtel M, Ragan R, Hepperle M, Liu Y, Georg G. 1998. Protection against beta-amyloid toxicity in primary neurons by paclitaxel (Taxol). *J Neurochem* 70: 1623–1627.
- Mitchison TJ. 2012. The proliferation rate paradox in antimitotic chemotherapy. *Mol Biol Cell* 23(1):1-6.
- Mohojerani MH, Sivakumaran S, Zacchi P, Aguilera P, Cherubini E. 2017. Correlated network activity enhances synaptic efficacy via BDNF and the ERK pathway at immature CA3–CA1 connections in the hippocampus. *PNAS* 104(32): 13176 –13181. [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0704533104](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0704533104)
- Mondragón-Rodríguez S, Gu N, Manseau F, Williams S. 2018a. Alzheimer's Transgenic Model Is Characterized by Very Early Brain Network Alterations and  $\beta$ -CTF Fragment Accumulation: Reversal by  $\beta$ -Secretase Inhibition. *Front Cell Neurosci* 12: 121. DOI: 10.3389/fncel.2018.00121
- Mondragón-Rodríguez S, Salas-Gallardo A, Gonzalez-Pereyra P, Macías M, Ordaz B, Peña-Ortega F, Aguilar-Vazquez A, Orta-Salazar E, Díaz-Cintra S, Perry G, Williams S. 2018b. 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.
- Mondragón-Rodríguez S, Salgado-Burgos H, Peña-Ortega F. 2020. Circuitry and Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease: A New Tau Hypothesis. *Neural Plast.* DOI: 10.1155/2020/2960343
- Morice E, Billard JM, Denis C, Mathieu F, Betancur C, Epelbaum J, Giros B, Nosten-Bertrand M. 2007. Parallel loss of hippocampal LTD and cognitive flexibility in a genetic model of hyperdopaminergia. *Neuropsychopharmacol* 32: 2108–2116. DOI: 10.1038/sj.npp.1301354
- Morris RG, Hagan JJ, Rawlins JNP. 1986. Allocentric spatial learning by hippocampectomized rats: a further test of the “spatial mapping” and “working memory” theories of hippocampal function. *Q J Exp Psychol [B]* 38: 365–395.
- Mortal S. 2021. Microtubule dynamics in cytoskeleton, neurodegenerative and psychiatric disease. *STEMedicine* 2(6): 1-10. DOI: 10.37175/stemedicine.v2i6.81
- Moya KL, Benowitz LI, Schneider GE, Allinquant B. 1994. The Amyloid Precursor Protein Is Developmentally Regulated and Correlated with Synaptogenesis. *Dev Biol* 161(2): 597-603. DOI: 10.1006/dbio.1994.1055
- Multhaup G, Huber O, Buée L, Galas MC. 2015. Amyloid precursor protein (APP) metabolites APP intracellular fragment (AICD), A $\beta$ 42, and tau in nuclear roles. *J Biol Chem* 290(39): 23515-22.
- Murata Y, Colonnese MT. 2020. GABAergic interneurons excite neonatal hippocampus in vivo. *Sci Adv* 6(24): eaba1430.
- Musial TF, Molina-Campos E, Bean LA, Ybarra N, Borenstein R, Russo ML, Buss EW, Justus D, Neuman KM, Ayala GD, Mullen SA. 2018. Store depletion-induced h-channel plasticity rescues a channelopathy linked to Alzheimer's disease. *Neurobiol Learn Mem* 154: 141-57.

- Mylonas E, Hascher A, Bernado P, Blackledge M, Mandelkow E, Svergun DI. 2008. Domain conformation of tau protein studied by solution small-angle X-ray scattering. *Biochemistry* 47(39): 10345-53.
- Naber, P A, Lopes da Silva FH, Witter MP. 2001. Reciprocal connections between the entorhinal cortex and hippocampal fields CA1 and the subiculum are in register with the projections from CA1 to the subiculum. *Hippocampus* 11: 99–104.
- Naundorf B, Wolf F, Volgushev M. 2006. Unique features of action potential initiation in cortical neurons. *Nature* 440(7087): 1060-3.
- Nettles JH, Li H, Cornett B, Krahn JM, Snyder JP, Downing KH. 2004. The binding mode of epothilone A on  $\alpha$ ,  $\beta$ -tubulin by electron crystallography. *Science* 305(5685): 866-9.
- Neuman KM, Molina-Campos E, Musial TF, Price AL, Oh KJ, Wolke ML, Buss EW, Scheff SW, Mufson EJ, Nicholson DA. 2015. Evidence for Alzheimer's disease-linked synapse loss and compensation in mouse and human hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Brain Struct Funct* 220(6): 3143-65. DOI: 10.1007/s00429-014-0848-z.
- Noam Y, Zha Q, Phan L, Wu RL, Chetkovich DM, Wadman WJ, Baram TZ. 2010. Trafficking and surface expression of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels in hippocampal neurons. *J Biol Chem* 285(19): 14724-36.
- Nogales E, Wolf SG, Downing KH. 1998. Structure of the  $\alpha\beta$  tubulin dimer by electron crystallography. *Nature* 391:199–203. DOI: <https://doi.org/10.1038/34465>
- Okabe S, Hirokawa N. 1988. Microtubule dynamics in nerve cells: analysis using microinjection of biotinylated tubulin into PC12 cells. *J Cell Biol* 107: 651–664. DOI: 10.1083/jcb.107.2.651
- O'Keefe J. 1990. A computational theory of the hippocampal cognitive map. *Progress in brain research* 83: 301-12.
- O'Keefe J, Dostrovsky J. 1971. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* 34, 171–175.
- O'Keefe J, Nadel L. 1978. *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Oxford University Press.
- Oliveira AM, Hawk JD, Abel T, Havekes R. 2010. Post-training reversible inactivation of the hippocampus enhances novel object recognition memory. *Learn Mem* 17(3): 155-60.
- Omori T, Aonishi T, Miyakawa H, Inoue M, Okada M. 2006. Estimated distribution of specific membrane resistance in hippocampal CA1 pyramidal neuron. *Brain Res* 1125(1):199-208.
- Palop JJ, Chin J, Roberson ED, Wang J, Thwin MT, Bien-Ly N, Yoo J, Ho KO, Yu G-Q, Kreitzer A, Finkbeiner S, Noebels JL, Mucke L. 2007. Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease. *Neuron* 55: 697–711.
- Phillips RG, LeDoux JE. 1992. Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behav Neurosci* 106(2): 274.
- Palop JJ, Mucke L. 2010. Synaptic depression and aberrant excitatory network activity in Alzheimer's disease: two faces of the same coin? *Neuromolecular Med* 12: 48–55.
- Spratt PW, Alexander RP, Ben-Shalom R, Sahagun A, Kyoung H, Keeshen CM, Sanders SJ, Bender KJ. 2021. Paradoxical hyperexcitability from NaV1.2 sodium channel loss in neocortical pyramidal cells. *Cell Rep* 36(5).
- Park J, Moghaddam B. 2017. Impact of anxiety on prefrontal cortex encoding of cognitive flexibility. *Neuroscience* 345: 193-02 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.06.013>

- Penazzi L, Tackenberg C, Ghori A, Golovyashkina N, Niewidok B, Selle K, Ballatore C, Smith AB 3rd, Bakota L, Brandt R. 2016. A $\beta$ -mediated spine changes in the hippocampus are microtubule-dependent and can be reversed by a subnanomolar concentration of the microtubule-stabilizing agent epothilone D. *Neuropharmacology* 105: 84-95. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2016.01.002.
- Peña 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. Peña-Ortega F. 2013. Amyloid beta-protein and neural network dysfunction. *J. Neurodegener. Dis.* doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/657470>
- Peña F, Tapia R. 1999. Relationships among seizures, extracellular amino acid changes, and neurodegeneration induced by 4-aminopyridine in rat hippocampus: A microdialysis and electroencephalographic study. *J Neurochem* 72(5): 2006-14.
- Pena F, Tapia R. 2000. Seizures and neurodegeneration induced by 4-aminopyridine in rat hippocampus in vivo: role of glutamate-and GABA-mediated neurotransmission and of ion channels. *Neuroscience* 101(3): 547-61.
- Peña-Ortega F. 2019. Brain arrhythmias induced by amyloid beta and inflammation: involvement in Alzheimer's disease and other inflammation-related pathologies. *Curr. Alzheimer Res.*16(12): 1108-31. *Hippocampus* 20: 78-96. DOI: 10.1002/hipo.20592
- Peña-Ortega, F., Robles-Gómez, Á.A., Xolalpa-Cueva, L. 2022. Microtubules as Regulators of Neural Network Shape and Function: Focus on Excitability, Plasticity and Memory. *Cells.* 11(6), 923.
- Pickett EK, Herrmann AG, McQueen J, Abt K, Dando O, Tulloch J, Jain P, Dunnett S, Sohrabi S, Fjeldstad MP, Calkin W, Murison L, Jackson RJ, Tzioras M, Stevenson A, d'Orange M, Hooley M, Davies C, Colom-Cadena M, Anton-Fernandez A, King D, Oren I, Rose J, McKenzie C, Allison E, Smith C, Hardt O, Henstridge CM, Hardingham GE, Spires-Jones TL. 2019. Amyloid Beta and Tau Cooperate to Cause Reversible Behavioral and Transcriptional Deficits in a Model of Alzheimer's Disease. *Cell Rep* 29 3592–3604.
- Piskorowski R, Santoro B, Siegelbaum SA. 2011. TRIP8b splice forms act in concert to regulate the localization and expression of HCN1 channels in CA1 pyramidal neurons. *Neuron* 70(3): 495-509.
- Price JL, Davis PB, Morris JC, White DL. 1991. The distribution of tangles, plaques and related immunohistochemical markers in healthy aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 12 295–312.
- Priel A, Ramos AJ, Tuszynski JA, Cantiello HF. 2006. A Biopolymer Transistor: Electrical Amplification by Microtubules. *Biophys J* 90: 4639–4643. DOI: 10.1529/biophysj.105.078915
- Prota AE, Bargsten K, Zurwerra D, Field JJ, Díaz JF, Altmann KH, Steinmetz MO. 2013. Molecular Mechanism of Action of Microtubule-Stabilizing Anticancer Agents. *Science* 339: 587-590. DOI: 10.1126/science.1230582
- Prut L, Balzung C. 2003. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* 463: 3 – 33.
- Purves D. Memory. En: Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, LaMantia A, McNamara JO, Williams SM (eds.), *Neuroscience* 3rd ed. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, EUA.
- Pusztai L, Mendoza TR, Reuben JM, Martinez MM, Willey JS, Lara J, Syed A, Fritsche HA, Bruera E, Booser D, Valero V. 2004. Changes in plasma levels of inflammatory cytokines in response to paclitaxel chemotherapy. *Cytokine* 25(3): 94-102.

- Puzzo D, Privitera L, Leznik E, Fa M, Staniszewski A, Palmeri A, Arancio O. 2008. Picomolar amyloid- $\beta$  positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus. *J Neurosci* 28(53): 14537-45.
- Qian J, Hyman BT, Betensky RA. 2017. Neurofibrillary tangle stage and the rate of progression of Alzheimer symptoms: modeling using an autopsy cohort and application to clinical trial design. *JAMA Neurol* 74 540–548.
- Qiang L, Sun X, Austin TO, Muralidharan H, Jean DC, Liu M, Yu W, Baas PW. 2018. Tau Does Not Stabilize Axonal Microtubules but Rather Enables Them to Have Long Labile Domains. *Curr Biol* 28: 2181–2189. DOI: 10.1016/j.cub.2018.05.045
- Quiroga RQ, Reddy L, Kreiman G, Koch C, Fried I. 2005. Invariant visual representation by single neurons in the human brain. *Nature* 435(7045): 1102-7.
- Qu X, Kumar A, Blockus H, Waites C, Bartolini F. 2019. Activity-dependent nucleation of dynamic microtubules at presynaptic boutons controls neurotransmission. *Curr Biol* 29(24): 4231-40.
- Raj A, Dey S, Maheshwari DU, Manjula SN, Madhunapantula SV, Ali M. 2019. Evaluating the olfactory dysfunction and cognitive deficits induced by intracerebroventricular injection of Amyloid beta (1–42) in female C57BL/6 mice. *J of Appl Pharm Sci* 9(10) 24-34. DOI: 10.7324/JAPS.2019.91004
- Ramsden M, Kotilinek L, Forster C, Paulson J, McGowan E, SantaCruz K, Guimaraes A, Yue M, Lewis J, Carlson G, Hutton M, Ashe KH. 2005. Age-dependent neurofibrillary tangle formation, neuron loss, and memory impairment in a mouse model of human tauopathy (P301L). *J Neurosci* 25: 10637–10647.
- Ranaivoson FM, Gigant B, Berritt S, Joullié M and Knossow M. 2012. Structural plasticity of tubulin assembly probed by vinca-domain ligands. *Acta Cyst* 68: 927-934. DOI: <https://doi.org/10.1107/S0907444912017143>
- Ranasinghe KG, Verma P, Cai C, Xie X, Kudo K, Gao X, Lerner H, Mizuri D, Strom A, Iaccarino L, La Joie R. 2022. Altered excitatory and inhibitory neuronal subpopulation parameters are distinctly associated with tau and amyloid in Alzheimer’s disease. *Elife* 11: e77850. DOI: 10.7554/eLife.77850
- Rapoport M, Dawson HN, Binder LI, Vitek MP, Ferreira A. 2002. Tau is essential to  $\beta$ -amyloid-induced neurotoxicity. *Proc. Natl Acad. Sci.* 6364–6369. DOI: 10.1073/pnas.09213619
- Ravelli RBG, Gigant B, Curmi PA, Jourdain I, Lachkar S, Sobel A, Knossow M. 2004. Insight into tubulin regulation from a complex with colchicine and a stathmin-like domain. *Nature* 428: 198-202. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature02393>
- Ray, M.A., Trammell, R.A., Verhulst, S., Ran, S., Toth, L.A. 2011. Development of a mouse model for assessing fatigue during chemotherapy. *Comp. Med.* 61(2), 119-30.
- Regan P, Piers T, Yi JH, Kim DH, Huh S, Park SJ, Ryu JH, Whitcomb DJ, Cho K. 2015. Tau phosphorylation at serine 396 residue is required for hippocampal LTD. *J Neurosci* 35: 4804–4812.
- Reinhard C, Hebert SS, De Strooper B. 2005. The amyloid-beta precursor protein: integrating structure with biological function. *Embo J* 24: 3996-4006.
- Remondes M, Schuman EM. 2004. Role for a cortical input to hippocampal area CA1 in the consolidation of a long-term memory. *Nature* 431(7009): 699-703.
- Rhein, V., Song, X., Wiesner, A., Ittner, L.M., Baysang, G., Meier, F., Ozmen, L., Bluethmann, H., Dröse, S., Brandt, U., Savaskan, E. 2009. Amyloid- $\beta$  and tau synergistically impair

- the oxidative phosphorylation system in triple transgenic Alzheimer's disease mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106(47), 20057-62.
- Riazi K, Galic MA, Kentner AC, Reid AY, Sharkey KA, Pittman QJ. 2015. Microglia-dependent alteration of glutamatergic synaptic transmission and plasticity in the hippocampus during peripheral inflammation. *J Neurosci* 35(12): 4942-52.
- Rich T, Innominato PF, Boerner J, Mormont MC, Iacobelli S, Baron B, Jasmin C, Lévi F. 2005. Elevated serum cytokines correlated with altered behavior, serum cortisol rhythm, and dampened 24-hour rest-activity patterns in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 11(5): 1757-64.
- Ridler T, Witton J, Phillips KG, Randall AD, Brown JT. 2020. Impaired speed encoding and grid cell periodicity in a mouse model of tauopathy. *Elife* 9: e59045. DOI: 10.7554/eLife.59045
- Rikhye RV, Gilra A, Halassa MM. 2018. Thalamic regulation of switching between cortical representations enables cognitive flexibility. *Nature Neurosci* 21: 1753-1763 DOI: <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0269-zuchida>
- Roberson ED, Scarce-Levie K, Palop JJ, Yan F, Cheng IH, Wu T, Gerstein H, Yu GQ, Mucke L. 2007. Reducing endogenous tau ameliorates amyloid beta-induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science* 316: 750-754. DOI: 10.1126/science.1141736
- Rodríguez-Durán LF, Martínez-Moreno A, Escobar ML. 2017. Bidirectional modulation of taste aversion extinction by insular cortex LTP and LTD. *Neurobiol Learn Mem* 142: 85-90.
- Rolls ET. (1989). Functions of neuronal networks in the hippocampus and neocortex in memory. En: JH Byrne, WO Berry (Eds.). *Neural models of plasticity*. Pp. 240-265. Academic Press.
- Rolls ET. 1996. A theory of hippocampal function in memory. *Hippocampus* 6: 601-620. DOI: 10.1002/(SICI)1098-1063(1996)6:6<601::AID-HIPO5>3.0.CO;2-J
- Rolls MM, Thyagarajan P, Feng C. 2020. Microtubule dynamics in healthy and injured neurons. *Dev Neurobiol* 81: 321-332. DOI: 10.1002/dneu.22746
- Rovira, C., Arbez, N., Mariani, J. 2002. A $\beta$  (25-35) and A $\beta$  (1-40) act on different calcium channels in CA1 hippocampal neurons. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 296(5), 1317-21.
- Salgado-Puga, K., Rodriguez-Colorado, J., Prado-Alcala, R.A., Pena-Ortega, F. 2017. Subclinical doses of ATP-sensitive potassium channel modulators prevent alterations in memory and synaptic plasticity induced by amyloid- $\beta$ . *J. Alzheimer's Dis.* 57(1): 205-26. DOI: 10.3233/JAD-160543
- Saito Y, Inoue T, Zhu G, Kimura N, Okada M, Nishimura M, Kimura N, Murayama S, Kaneko S, Shigemoto R, Imoto K. 2012. Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated channels: a potential molecular link between epileptic seizures and A $\beta$  generation in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 7:1-5.
- SantaCruz K, Lewis J, Spires T, Paulson J, Kotilinek L, Ingelsson M, Guimaraes A, DeTure M, Ramsden M, McGowan E, Forster C, Yue M, Orne J, Janus C, Mariash A, Kuskowski M, Hyman B, Hutton M, Ashe KH. 2005. Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science* 309: 476-481. DOI: 10.1126/science.1113694
- Santoro B, Hu L, Liu H, Saponaro A, Pian P, Piskorowski RA, Moroni A, Siegelbaum SA. 2011. TRIP8b regulates HCN1 channel trafficking and gating through two distinct C-terminal interaction sites. *J Neurosci* 31(11): 4074-86.

- Sasaguri H, Nilsson P, Hashimoto S, Nagata K, Saito T, De Strooper B, Hardy J, Vassar R, Winblad B, Saido TC. 2017. APP mouse models for Alzheimer's disease preclinical studies. *EMBO J* 36(17): 2473-87.
- Satake T, Yamashita K, Hayashi K, Miyatake S, Tamura-Nakano M, Doi H, Furuta Y, Shioi G, Miura E, Takeo YH, Yoshida K. 2017. MTCL1 plays an essential role in maintaining Purkinje neuron axon initial segment. *EMBO J* 36(9): 1227-42.
- Sato H, Kasuga K, Isoo N, Hayashi T, Ikeuchi T, Hori Y, Tomita T. 2023. Soluble form of the APP fragment, sAPP $\beta$ , positively regulates tau secretion. *Neurosci Res* 2023 Mar 24.
- Sayas CL, Tortosa E, Bollati F, Ramirez-Rios S, Arnal I, Avila J. 2015. Tau regulates the localization and function of end-binding proteins 1 and 3 (EB1/3) in developing neuronal cells. *J Neurochem* 133: 653–667.
- Scharfman HE, Myers CE. 2013. Hilar mossy cells of the dentate gyrus: a historical perspective. *Front Neural Circuits* 6: 106.
- Scheuner D, Eckman C, Jensen M, Song X, Citron M, Suzuki N, Bird TD, Hardy J, Hutton M, Kukull W, Larson W, Levy-Lahad E, Vitanen M, Peskind E, Poorkaj P, Schellenberg G, Tanzi R, Wasco W, Lannfelt L, Selkoe D, Younkin S . 1996. Secreted amyloid b-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nature Med* 2: 864 – 870.
- Selkoe DJ, Hardy J. 2016. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol. Med* 8(6): 595-608.
- Shabani M, Larizadeh MH, Parsania S, Asadi Shekaari M, Shahrokhi N. 2012. Profound destructive effects of adolescent exposure to vincristine accompanied with some sex differences in motor and memory performance. *Can J Physiol Pharmacol* 90(4): 379-86. DOI: 10.1139/Y11-132
- Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, Brett FM, Farrell MA, Rowan MJ, Lemere CA, Regan CM. Amyloid- $\beta$  protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nature medicine*. 2008 Aug;14(8):837-42.
- Shemesh OA, Spira ME. 2010. Paclitaxel induces axonal microtubules polar reconfiguration and impaired organelle transport: implications for the pathogenesis of paclitaxel-induced polyneuropathy. *Acta Neuropathol* 119: 235–248
- Sheng M, Pak DT. 2000. Ligand-gated ion channel interactions with cytoskeletal and signaling proteins. *Annu Rev Physiol* 62: 755-78. DOI: 10.1146/annurev.physiol.62.1.755
- Shimojo M, Madara J, Pankow S, Liu X, Yates J, Südhof TC, Maximov A. 2019. Synaptotagmin-11 mediates a vesicle trafficking pathway that is essential for development and synaptic plasticity. *Genes Dev* 33(5-6): 365-76.
- Shipton OA, Leitz JR, Dworzak J, Acton CEJ, Tunbridge EM, Denk F, Dawson HN, Vitek MP, Wade-Martins R, Paulsen O, Vargas-Caballero M. 2011. Tau Protein Is Required for Amyloid  $\beta$ -Induced Impairment of Hippocampal Long-Term Potentiation. *J Neurosci* 31(5): 1688-1692. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2610-10.2011
- Shrestha BR, Vitolo OV, Joshi P, Lordkipanidze T, Shelanski M, Dunaevsky A. 2006. Amyloid  $\beta$  peptide adversely affects spine number and motility in hippocampal neurons. *Mol Cell Neurosci* 33(3): 274-82.
- Smith SB, Crager SE, Mogil JS. 2004. Paclitaxel-induced neuropathic hypersensitivity in mice: responses in 10 inbred mouse strains. *Life Sci* 74(21): 2593-604.

- Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, Paul S, Moran T, Choi EY, Nairn AC, Salter MW, Lombroso PJ, Gouras GK, Greengard P. 2005. Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid- $\beta$ . *Nat Neurosci* 8: 1051–1058.
- Spillantini MG, Michel Goedert M. 2013. Tau pathology and neurodegeneration. *Lancet Neurol* 12: 609–22. DOI: 10.1016/S1474-4422(13)70090-5
- Spires-Jones TL, Hyman BT. 2014. The Intersection of Amyloid Beta and Tau at Synapses in Alzheimer's Disease. *Neuron* 82: 756-771.
- Spires TL, Orne JD, SantaCruz K, Pitstick R, Carlson GA, Ashe KH, Hyman BT. 2006. Region-specific dissociation of neuronal loss and neurofibrillary pathology in a mouse model of tauopathy. *Am J Pathol* 168(5): 1598-607.
- Squire LR. 2009. The legacy of patient HM for neuroscience. *Neuron* 61(1): 6-9. DOI: 10.1016/j.neuron.2008.12.023
- Staff NP, Jung H, Thiagarajan T, Yao M, Spruston N. 2000. Resting and Active Properties of Pyramidal Neurons in Subiculum and CA1 of Rat Hippocampus. *Am J Physiol* 2398-2408.
- Steele DF, Fedida D. 2014. Cytoskeletal roles in cardiac ion channel expression. *Biochim Biophys Acta* 1838(2): 665-73.
- Steinmetz MO, Prota AE. 2018. Microtubule-targeting agents: strategies to hijack the cytoskeleton. *Trends in cell biology* 28(10): 776-92.
- Stephan A, Laroche S, Davis S. 2001. Generation of aggregated beta-amyloid in the rat hippocampus impairs synaptic transmission and plasticity and causes memory deficits. *J Neurosci* 21:5703–5714.
- Stern EA, Bacskai BJ, Hickey GA, Attenello FJ, Lombardo JA, Hyman BT. 2004. Cortical synaptic integration in vivo is disrupted by amyloid-beta plaques. *J Neurosci* 24: 4535–4540.
- Styr B, Gonen N, Zarhin D, Ruggiero A, Atsmon R, Gazit N, Braun G, Frere S, Vertkin I, Shapira I, Harel M. 2019. Mitochondrial regulation of the hippocampal firing rate set point and seizure susceptibility. *Neuron* 102(5): 1009-24.
- Sugar J, Moser M. 2019. Episodic memory: Neuronal codes for what, where and when. *Hippocampus* 29: 1190-1205.
- Sullivan KA, Grant CV, Jordan KR, Vickery SS, Pyter LM. 2021. Voluntary wheel running ameliorates select paclitaxel chemotherapy-induced sickness behaviors and associated melanocortin signaling. *Beh Brain Res* 399: 113041.
- Sun MK, Alkon DL. 2002. Impairment of hippocampal CA1 heterosynaptic transformation and spatial memory by  $\beta$ -amyloid<sub>25–35</sub>. *Journal of Neurophysiology*. 1;87(5) :2441-9. DOI: 10.1152/jn.00230.2001
- Sun T, Qiao H, Pan PY, Chen Y, Sheng ZH. 2013. Motile axonal mitochondria contribute to the variability of presynaptic strength. *Cell Rep* 4(3): 413-9.
- Sun X, Meng X, Zhang J, Li Y, Wang L, Qin X, Sui N, Zhang Y. 2012. GABA attenuates amyloid toxicity by downregulating its endocytosis and improves cognitive impairment. *J Alzheimers Dis* 31: 635–649.
- Tamagnini F, Scullion S, Brown JT, Randall AD. 2015. Intrinsic excitability changes induced by acute treatment of hippocampal CA1 pyramidal neurons with exogenous amyloid  $\beta$  peptide. *Hippocampus* 25(7): 786-97. DOI: 10.1002/hipo.22403.
- Texidó L, Martín-Satué M, Alberdi E, Solsona C, Matute C. 2021. Amyloid  $\beta$  peptide oligomers directly activate NMDA receptors. *Cell Calcium* 49(3): 184-90.



- Thal DR, Rüb U, Orantes M, Braak H. 2002. Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58: 1791–1800. DOI: 10.1212/WNL.58.12.1791
- Terry RD, Peck A, DeTeresa R, Schechter R, Horoupian DS. 1981. Some morphometric aspects of the brain in senile dementia of the Alzheimer type. *Ann Neurol* 10(2): 184-92.
- Teyler, T.J., and Rudy, J.W. 2007. The hippocampal indexing theory and episodic memory: updating the index. *Hippocampus* 17, 1158–1169.
- Tomic JL, Pensalfini A, Head E, Glabe CG. 2009. Soluble fibrillar oligomer levels are elevated in Alzheimer’s disease brain and correlate with cognitive dysfunction. *Neurobiol Dis* 35: 352-358.
- Torres-Flores, M., Peña-Ortega, F. 2022. Amyloid Beta Alters Prefrontal-dependent Functions Along with its Excitability and Synaptic Plasticity in Male Rats. *Neuroscience* 498, 260-79.
- Trimmer SJ. 2015. Subcellular localization of K<sup>+</sup> channels in mammalian brain neurons: remarkable precision in the midst of extraordinary complexity. *Neuron* 85 : 238-256. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.042>
- Tsai J, Grutzendler J, Duff K, Gan WB. 2004. Fibrillar amyloid deposition leads to local synaptic abnormalities and breakage of neuronal branches. *Nat Neurosci* 7(11): 1181-3.
- Turi GF, Li WK, Chavlis S, Pandi I, O’Hare J, Priestley JB, Grosmark AD, Liao Z, Ladow M, Zhang JF, Zemelman BV. 2019. Vasoactive intestinal polypeptide-expressing interneurons in the hippocampus support goal-oriented spatial learning. *Neuron* 101(6): 1150-65.
- Uchida S, Martel G, Pavlowsky A, Takizawa S, Hevi C, Watanabe Y, Kandel ER, Alarcon JM, Shumyatsky GP. 2014. Learning-induced and stathmin-dependent changes in microtubule stability are critical for memory and disrupted in ageing. *Nat Commun* 5(1): 4389.
- Um JW, Nygaard HB, Heiss JK, Kostylev MA, Stagi M, Vortmeyer A, Wisniewski T, Gunther EC, Strittmatter SM. 2012. Alzheimer amyloid-b oligomer bound to postsynaptic prion protein activates Fyn to impair neurons. *Nat Neurosci* 15: 1227–1235. DOI: 10.1038/nn.3178
- Vago, D.R., Bevan, A., Kesner, R.P. 2007. The role of the direct perforant path input to the CA1 subregion of the dorsal hippocampus in memory retention and retrieval. *Hippocampus* 17(10), 977-87.
- van Strien ML, Cappaert NML, Witter MP. 2009. The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal–hippocampal network. *Nature* 10: 271-282. DOI: 10.1038/nrn2614
- Vargas-Caballero M, Denk F, Wobst HJ, Arch E, Pegasiou C, Oliver PL, Shipton OA, Paulsen O, Wade-Martins R. 2017. Wild-type, but not mutant N296H, human tau restores Aβ-mediated inhibition of LTP in tau<sup>-/-</sup> mice. *Front Neurosci* 11. DOI: 10.3389/fnins.2017.00201
- Vertes RP. 2015. [7] Major diencephalic inputs to the hippocampus: supramammillary nucleus and nucleus reuniens. Circuitry and function. En: O’Mara S, Tsanov M (eds). *The Connected Hippocampus*. Elsevier Academic Press, San Diego, CA.
- Vickers CA, Wyllie DJA. 2007. Late-phase, protein synthesis-dependent long-term potentiation in hippocampal CA1 pyramidal neurons with destabilized microtubule networks. *Br J of Pharmacol* 151: 1071–1077.

- Vida I. (2015). [2] Morphology of Hippocampal Neurons. En: Cutsuridis V, Graham B, Cobb S, Vida I (eds). *Hippocampal Microcircuits: A Computational Modeler's Resource Book*. Springer. New York.
- Walker RA, O'Brien ET, Pryer NK, Soboeiro MF, Voter WA, Erickson HP, Salmon ED. 1988. Dynamic instability of individual microtubules analyzed by video light microscopy: rate constants and transition frequencies. *J Cell Biol* 107: 1437–1448. DOI: 10.1083/jcb.107.4.1437
- Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Cullen WK, Anwyl R, Wolfe MS, Rowan MJ, Selkoe DJ. 2002. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature* 416: 535–539.
- Wang H, Wang Z, Wang S, Li M, Nan L, Rhie JK, Covey JM, Zhang R, Hill DL. 2005. Preclinical pharmacology of epothilone D, a novel tubulin-stabilizing antitumor agent. *Cancer Chemother Pharmacol* 56: 255-260.
- Wang Q, Walsh DM, Rowan MJ, Selkoe DJ, Anwyl R. 2004. Block of long-term potentiation by naturally secreted and synthetic amyloid  $\beta$ -peptide in hippocampal slices is mediated via activation of the kinases c-Jun N-terminal kinase, cyclin-dependent kinase 5, and p38 mitogen-activated protein kinase as well as metabotropic glutamate receptor type 5. *J Neurosci* 24(13): 3370-8.
- Wang Y, Mattson MP. 2014. L-Type  $Ca^{2+}$  Currents at CA1 Synapses, but Not CA3 or Dentate Granule Neuron Synapses, Are Increased in 3xTgAD Mice in an Age-Dependent Manner. *Neurobiol Aging* 35 (1): 88–95. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.07.007.
- Wefel JS, Schagen SB. 2012. Chemotherapy-related cognitive dysfunction. *Curr. Neurol. Neurosci. Reports* 12(3), 267-75.
- Weingarten J, Weingarten M, Wegner M, Volkandt W. 2017. APP—a novel player within the presynaptic active zone proteome. *Front Mol Neurosci* 10:43.
- Williams SR, Stuart GJ. 2003. Role of dendritic synapse location in the control of action potential output. *Trends Neurosci* 26(3): 147-54. DOI: 10.1016/S0166-2236(03)00035-3.
- Winocur G, Moscovitch M. 1990. Hippocampal and prefrontal cortex contributions to learning and memory: analysis of lesion and aging effects on maze learning in rats. *Behav Neurosci* 104(4): 544.
- Witter MP. 2000. Cortico-hippocampal communication by way of parallel parahippocampal-subicular pathways. *Hippocampus* 10: 398–410.
- Witter MP. (2015). [1] Connectivity of the Hippocampus. En: Cutsuridis V, Graham B, Cobb S, Vida I (eds). *Hippocampal Microcircuits: A Computational Modeler's Resource Book*. Springer. New York.
- Witter MP, Amaral DG. (2004). Hippocampal Formation. En: Paxinos G (ed), *The rat nervous system* 3rd edn. Elsevier Academic Press, San Diego, CA, pp 635-704.
- Xia D, Gutmann JM, Götz J. 2016. Mobility and subcellular localization of endogenous, gene-edited Tau differs from that of over-expressed human wild-type and P301L mutant Tau. *Sci Rep* 6(1): 29074.
- Xolalpa-Cueva L, García-Carlos CA, Villaseñor-Zepeda R, Orta-Salazar E, Díaz-Cintra S, Peña-Ortega F, Perry G, Mondragón-Rodríguez S. 2022. Hyperphosphorylated Tau Relates to Improved Cognitive Performance and Reduced Hippocampal Excitability in the Young rTg4510 Mouse Model of Tauopathy. *J Alzheimers Dis* 87(2): 529-543. DOI: 10.3233/JAD-215186
- Yetman MJ, Fowler SW, Jankowsky JL. 2016. Humanized tau mice with regionalized amyloid exhibit behavioral deficits but no pathological interaction. *PLoS One* 11(4): e0153724.

- Yoshimura T, Rasband MN. 2014. Axon initial segments: diverse and dynamic neuronal compartments. *Curr Opin Neurobiol* 27: 96-102.
- Yoshiyama Y, Higuchi M, Zhang B, Huang S, Iwata N, Saido T, Maeda J, Suhara T, Trojanowski J, Lee V. 2007. Synapse loss and microglial activation precede tangles in a P301S tauopathy mouse model. *Neuron* 53: 337–351.
- Zarrindast MR, Bakhsha A, Rostami P, Shafaghi B. 2002. Effects of intrahippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. *J Psychopharmacol* 16(4): 313-9.
- Zawar C, Plant TD, Schirra C, Konnerth A, Neumcke B. 1999. Cell-type specific expression of ATP-sensitive potassium channels in the rat hippocampus. *J Physiol* 514(Pt 2): 327.
- Zemla R, Basu J. 2017. Hippocampal function in rodents. *Curr Opin Neurobiol* 43:187–197.
- Zempel H, Dennissen FJ, Kumar Y, Luedtke J, Biernat J, Mandelkow EM, Mandelkow E. 2017. Axodendritic sorting and pathological missorting of Tau are isoform-specific and determined by axon initial segment architecture. *J Biol Chem* 292(29): 12192-207.
- Zempel H, EM Mandelkow. 2012. Linking Amyloid- $\beta$  and Tau: Amyloid- $\beta$  Induced Synaptic Dysfunction via Local Wreckage of the Neuronal Cytoskeleton. *Neurodegenerative Dis* 10: 64–72. DOI: 10.1159/000332816
- Zhang B, Maiti A, Shiveli S, Lakhani F, McDonald-Jones G, Bruce J, Lee EB, Xie SX, Joyce S, Li C, Toleikis PM, Lee VM, Trojanowski JQ. 2005. Microtubule-binding drugs offset tau sequestration by stabilizing microtubules and reversing fast axonal transport deficits in a tauopathy model. *Proc Natl Acad Sci* 102(1): 227-231.
- Zhang B, Carroll J, Trojanowski JQ, Yao Y, Iba M, Potuzak JS, Hogan AM, Xie SX, Ballatore C, Smith III AB, Lee VM, Brunden KR. 2012. The microtubule stabilizing agent, epothilone D, reduces axonal dysfunction, neurotoxicity, cognitive deficits, and Alzheimer-like pathology in an interventional study with aged tau transgenic mice. *J Neurosci* 2012 32: 3601–11. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4922-11.2012
- Zhang B, Yao Y, Cornec A, Oukoloff K, James MJ, Koivula P, Trojanowski JQ, Smith III AB, Lee VM, Ballatore C, Brunden KR. 2018. A brain-penetrant triazolopyrimidine enhances microtubule-stability, reduces axonal dysfunction and decreases tau pathology in a mouse tauopathy model. *Mol Neurodegeneration* 13: 59. DOI: 10.1186/s13024-018-0291-3
- Zhang C, Wu B, Beglopoulos V, Wines-Samuelson M, Zhang D, Dragatsis I, Südhof TC, Shen J. 2009. Presenilins are essential for regulating neurotransmitter release. *Nature* 460(7255): 632-6.
- Zheng H, Koo EH. 2006. The amyloid precursor protein: beyond amyloid. *Mol Neurodegen* 1:5.
- Zheng H, Xiao WH, Bennett GJ. 2011. Functional deficits in peripheral nerve mitochondria in rats with paclitaxel-and oxaliplatin-evoked painful peripheral neuropathy. *Exp Neurol* 232(2): 154-61.
- Zheng Y, Wildonger J, Ye B, Zhang Y, Kita A, Younger SH, Zimmerman S, Jan LY, Jan YN. 2008. Dynein is required for polarized dendritic transport and uniform microtubule orientation in axons. *Nat Cell Biol* 10: 1172–1180. DOI: 10.1038/ncb1777
- Zhu Z, Chuckowree JA, Musgrove R, Dickson TC, Blizzard CA. 2020. The pathologic outcomes and efficacy of epothilone treatment following traumatic brain injury is determined by age. *Neurobiol Aging* 93: 85-96.
- Zott B, Nästle L, Grienberger C, Knauer M, Unger F, Keskin A, Feuerbach A, Busche MA, Skerra A, Konnerth A. 2023.  $\beta$ -amyloid monomer scavenging by an anticalin protein prevents neuronal hyperactivity. *Nature Portfolio*.

- Zott B, Simon MM, Hong W, Unger F, Chen-Engerer HJ, Frosch MP, Sakmann B, Walsh DM, Konnerth A. 2019. A vicious cycle of  $\beta$  amyloid-dependent neuronal hyperactivation. *Science* 365: 559–565.
- Zucker RS. 1993. Calcium and transmitter release. *J Physiol* 87(1): 25-36.
- Zussy C, Brureau A, Keller E, Marchal S, Blayo C, Delair B, Ixart G, Maurice T, Givalois L. 2013. Alzheimer's disease related markers, cellular toxicity and behavioral deficits induced six weeks after oligomeric amyloid- $\beta$  peptide injection in rats. *PLoS One* 8(1): e53117.

## ARTÍCULO DE REQUISITO



## OPEN ACCESS

## EDITED BY

Uri Nimrod Ramírez-Jarquín,  
National Institute of Cardiology Ignacio  
Chavez, Mexico

## REVIEWED BY

Francesca Bartolini,  
Columbia University, United States  
Lidia Bakota,  
Osnabrück University, Germany

## \*CORRESPONDENCE

Fernando Peña-Ortega  
✉ jfpena@unam.mx

RECEIVED 01 April 2023

ACCEPTED 20 September 2023

PUBLISHED 12 October 2023

## CITATION

Robles-Gómez AA, Ordaz B, Lorea-Hernández  
J-J and Peña-Ortega F (2023) Deleterious and  
protective effects of epothilone-D alone and in  
the context of amyloid  $\beta$ - and tau-induced  
alterations.

*Front. Mol. Neurosci.* 16:1198299.

doi: 10.3389/fnmol.2023.1198299

## COPYRIGHT

© 2023 Robles-Gómez, Ordaz, Lorea-  
Hernández and Peña-Ortega. This is an open-  
access article distributed under the terms of  
the [Creative Commons Attribution License  
\(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or reproduction  
in other forums is permitted, provided the  
original author(s) and the copyright owner(s)  
are credited and that the original publication in  
this journal is cited, in accordance with  
accepted academic practice. No use,  
distribution or reproduction is permitted which  
does not comply with these terms.

# Deleterious and protective effects of epothilone-D alone and in the context of amyloid $\beta$ - and tau-induced alterations

Ángel Abdiel Robles-Gómez<sup>1,2</sup>, Benito Ordaz<sup>1</sup>,  
Jonathan-Julio Lorea-Hernández<sup>1</sup> and Fernando Peña-Ortega<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla, Querétaro, Mexico, <sup>2</sup>Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, Ciudad Universitaria, México City, Mexico

Amyloid- $\beta$  (A $\beta$ ) and hyperphosphorylated tau (P-tau) are Alzheimer's disease (AD) biomarkers that interact in a complex manner to induce most of the cognitive and brain alterations observed in this disease. Since the neuronal cytoskeleton is a common downstream pathological target of tau and A $\beta$ , which mostly lead to augmented microtubule instability, the administration of microtubule stabilizing agents (MSAs) can protect against their pathological actions. However, the effectiveness of MSAs is still uncertain due to their state-dependent negative effects; thus, evaluating their specific actions in different pathological or physiological conditions is required. We evaluated whether epothilone-D (Epo-D), a clinically used MSA, rescues from the functional and behavioral alterations produced by intracerebroventricular injection of A $\beta$ , the presence of P-tau, or their combination in rTg4510 mice. We also explored the side effects of Epo-D. To do so, we evaluated hippocampal-dependent spatial memory with the Hebb-Williams maze, hippocampal CA1 integrity and the intrinsic and synaptic properties of CA1 pyramidal neurons with the patch-clamp technique. A $\beta$  and P-tau mildly impaired memory retrieval, but produced contrasting effects on intrinsic excitability. When A $\beta$  and P-tau were combined, the alterations in excitability and spatial reversal learning (i.e., cognitive flexibility) were exacerbated. Interestingly, Epo-D prevented most of the impairments induced A $\beta$  and P-tau alone and combined. However, Epo-D also exhibited some side effects depending on the prevailing pathological or physiological condition, which should be considered in future preclinical and translational studies. Although we did not perform extensive histopathological evaluations or measured microtubule stability, our findings show that MSAs can rescue the consequences of AD-like conditions but otherwise be harmful if administered at a prodromal stage of the disease.

## KEYWORDS

Alzheimer's disease, tau and phospho-tau protein, amyloid -  $\beta$ , microtubule, therapeutic, epothilone-D, CA1 pyramidal neurons, temporoammonic pathway

## Introduction

Tauopathies are neurodegenerative diseases that involve the hyperphosphorylation, deposition, and seeding of the microtubule-associated protein tau (Mondragón-Rodríguez et al., 2020). Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent tauopathy that also involves the pathological actions of other peptides (Peña-Ortega, 2019; Mondragón-Rodríguez et al., 2020). For instance, aggregated amyloid- $\beta$  peptide (A $\beta$ ) species and hyperphosphorylated tau (P-tau)

are the most prominent AD biomarkers (Peña-Ortega, 2019; Mondragón-Rodríguez et al., 2020). A $\beta$  and P-tau complex interactions produce synergistic but also antagonistic effects that can better explain the complex pathophysiology of AD than their independent toxic properties (Ittner et al., 2010; Zempel et al., 2010; Zempel and Mandelkow, 2012). When evaluated in animal models both A $\beta$  (Busche et al., 2012, 2019; Lo et al., 2013; Peña-Ortega, 2013, 2019; Yetman et al., 2016; Angulo et al., 2017; Pickett et al., 2019; Ranasinghe et al., 2022; Barendrecht et al., 2023; Capilla-Lopez et al., 2023) and P-tau (Lo et al., 2013; Yetman et al., 2016; Booth et al., 2016a,b; Angulo et al., 2017; Hatch et al., 2017; Busche et al., 2019; Pickett et al., 2019; Ranasinghe et al., 2022; Barendrecht et al., 2023; Capilla-Lopez et al., 2023) produce diverse or even contrasting effects on neural networks (Lo et al., 2013; Yetman et al., 2016; Angulo et al., 2017; Busche et al., 2019; Pickett et al., 2019; Ranasinghe et al., 2022; Barendrecht et al., 2023; Capilla-Lopez et al., 2023). Thus, the specific effects of tau and A $\beta$ , their possible synergistic (Zempel and Mandelkow, 2012; Busche et al., 2019) and antagonistic actions (Yetman et al., 2016; Ranasinghe et al., 2022; Barendrecht et al., 2023; Capilla-Lopez et al., 2023), as well as their net consequences on brain function are far from being understood and should be evaluated under similar experimental conditions. We are aware that similar attempts have rendered complex results in different experimental (Lo et al., 2013; Yetman et al., 2016; Angulo et al., 2017; Busche et al., 2019; Pickett et al., 2019; Barendrecht et al., 2023; Capilla-Lopez et al., 2023) and clinical settings (Ranasinghe et al., 2022), but we are convinced that this type of experimental approach is required to fully understand the complexity of AD pathophysiology.

Neuronal microtubules are cytoskeletal protein complexes of  $\alpha$ - and  $\beta$ -tubulin dimers that influence neuronal morphology, polarity, axonal transport, intrinsic and synaptic properties, as well as several brain functions including learning and memory (Uchida et al., 2014; Hatch et al., 2017; Babu et al., 2020; Guo et al., 2020; Peña-Ortega et al., 2022). Microtubule alterations have been closely associated with AD, mainly due to tau dysfunction, which drives aberrant microtubule dynamics *in vivo* and *in vitro* (Qu et al., 2017; Peña-Ortega et al., 2022). Recently, Peris et al. (2022) demonstrated that premature microtubule longevity is an early stage of cellular AD that impairs synapse function. The presence of A $\beta$ <sub>42</sub> oligomers also disorganizes microtubule bundles in neurons through a tau-dependent mechanism (Zempel et al., 2010; Golovyashkina et al., 2015). However, A $\beta$  exposure causes microtubule stabilization in cultured hippocampal neurons (Qu et al., 2017). Despite these apparent discrepancies, the modulation of microtubule dynamics towards more stable states has been proposed as a potential treatment for AD (Brunden et al., 2010; Guo et al., 2020; Peña-Ortega et al., 2022). Microtubule stabilizing agents (MSAs) can be beneficial, but their use must be carefully considered because they can also induce tau hyperphosphorylation and spine loss in cultured hippocampal neurons (Qu et al., 2017), and have other side effects (Wefel and Schagen, 2012; Atarod et al., 2015; Golovyashkina et al., 2015; Clark et al., 2020). MSAs are commonly used in chemotherapy as cytotoxic drugs (Cavaletti and Marmioli, 2010) and, in recent years, their administration to AD animal models has yielded positive results (Brunden et al., 2010; Guo et al., 2020). However, tilting microtubule dynamics, by the administration of either MSAs or MDAs (microtubule destabilizing agents), has clear deleterious effects on neuronal survival (Chiorazzi et al., 2009) and morphology (Golovyashkina et al., 2015; Qu et al., 2017; Clark et al., 2020), axonal transport (Clark et al., 2020), brain anatomy and

cognition (Wefel and Schagen, 2012; Atarod et al., 2015), in otherwise healthy individuals. Thus, the neurophysiological consequences of MSAs depend on the state of the system (i.e., normal or pathological conditions) and require proper testing in each physiological and pathological condition. In this study we used behavioral and electrophysiological approaches to characterize the pathological consequences of A $\beta$ , P-tau, and their combination in rTg4510 mice, on hippocampal function. Furthermore, we characterized the effects of epothilone-D (Epo-D), an MSA that penetrates the blood-brain barrier (Brunden et al., 2010), in these pathological conditions as well as its effects in healthy individuals. The cognitive evaluation was done with the Hebb-Williams (HW) test, which has been extensively used in different experimental settings (Rogers and Kesner, 2003; Lee and Kesner, 2004; Jerman et al., 2006; Vago et al., 2007; Hunsaker et al., 2008; Churchwell et al., 2010; Vidal-Infer et al., 2012; Boutet et al., 2018; Méndez-Salcido et al., 2022) and seems to be more sensitive to neural alterations than other common water or radial mazes (Pereira et al., 2005). Furthermore, the performance during the different phases of this test has been closely related to specific microcircuits (Rogers and Kesner, 2003; Lee and Kesner, 2004; Jerman et al., 2006; Vago et al., 2007; Hunsaker et al., 2008; Churchwell et al., 2010). It can be performed under low-stress conditions (Pritchett and Mulder, 2004) and can measure cognitive flexibility by changing the maze configuration (Shore et al., 2001; Vidal-Infer et al., 2012; Boutet et al., 2018). Moreover, the preclinical results derived from this maze can be directly compared to human health and disease (Shore et al., 2001; MacLeod et al., 2010; Boutet et al., 2018). We demonstrated that Epo-D can rescue various cognitive and functional alterations induced by A $\beta$ , P-tau, and their combination, although we did not perform extensive histopathological evaluations. However, Epo-D also has detrimental effects, even in control conditions, which preclinical and clinical studies should consider when using MSAs to treat AD or similar pathologies.

## Materials and methods

### Animals

The experimental procedures were reviewed and approved by the Local Research Ethics Committee (INB-UNAM). We used C57BL/6 wild-type (WT) and rTg4510 transgenic (Tg) mice (SantaCruz et al., 2005; The Jackson Laboratory Strain 024854). Tg mice overexpress the human microtubule-associated protein tau (MAPT) gene bearing the mutation P301L, whose expression is controlled by the calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) promoter (SantaCruz et al., 2005). Genotyping was performed by a standard PCR assay (The Jackson Laboratory Strain 024854). Tg and WT mice (5–6 months old; Table 1) were housed in same-sex pairs. Animals were maintained in a 12 h light–dark cycle with food and water available *ad libitum*. At 5–6 months old Tg mice already exhibit clear cognitive impairment and tau pathology (Ramsden et al., 2005; SantaCruz et al., 2005; Yue et al., 2011). This age is also characterized by the onset of neurodegeneration and mild motor impairments (Ramsden et al., 2005; SantaCruz et al., 2005; Camargo et al., 2021). Male and female mice were used in all procedures (Table 1). There are contradictory reports regarding sexual dimorphisms in the Tg mice: whereas there is a report of Tg females exhibiting more tau pathology and cognitive impairment than males (Yue et al., 2011), there is a

contrasting report of Tg males exhibiting more tau pathology as well as increased olfactory and motor deficits than females (Camargo et al., 2021). In our sample, only two variables showed differences between males and females: the center index (quantified in the open field test) and the after hyperpolarization amplitude (data not shown). Animals were subjected to an experimental protocol described in Figure 1A

that sequentially included a microinjection of Aβ/vehicle, administration of Epo-D/vehicle, the open field test, the Hebb-Williams (HW) test, and patch-clamp recordings (Figure 1). All experimental conditions will be described next.

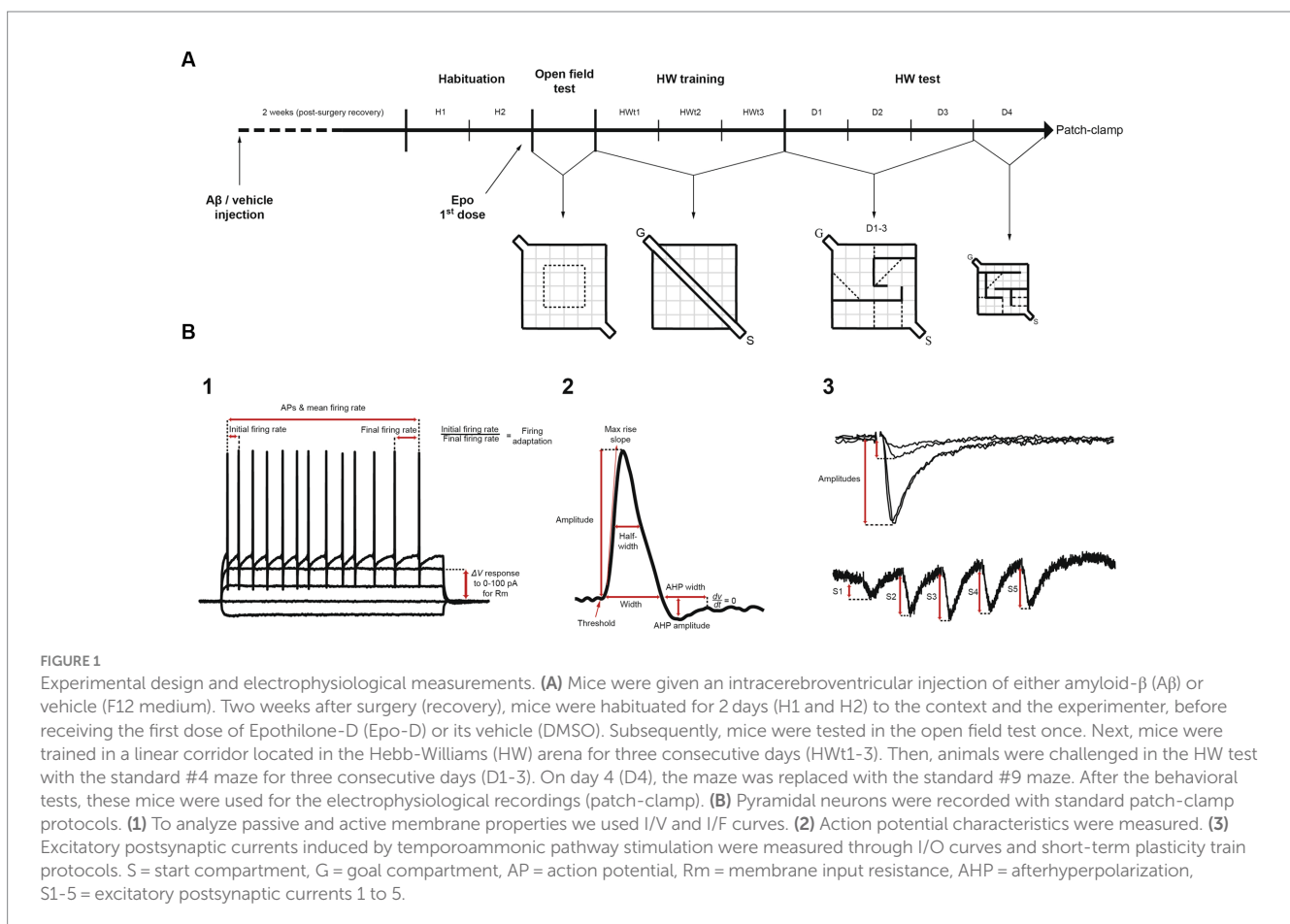
### Surgery and microinjection

For intracerebroventricular (ICV) injection of Aβ or its vehicle, mice were induced into anesthesia with ketamine and xylazine (90 and 10 mg/kg, respectively) and maintained with sevoflurane 0.4% during surgery. Anesthesia was verified by the absence of tail pinch responses. After the animals were anesthetized, they were gently mounted on a stereotaxic apparatus. Once the skull was exposed, a hole was drilled with the following coordinates (from Bregma): -1 mm medio-lateral, -0.25 antero-posterior. A microinjector was gently introduced into the lateral ventricle (2.8 mm from the skull) and a total of 5 μL of either the Aβ oligomers solution (500 pmoles; Martínez-García et al., 2021) or its vehicle (F12 medium; Balleza-Tapia et al., 2010; Hernández-Soto et al., 2019) was injected at 0.5 μL/min with a Hamilton syringe. Martínez-García et al. (2021) and Desbène et al. (2012) have shown that this ICV dose of Aβ is enough to induce cognitive and neurophysiological alterations in mice (Desbène et al., 2012; Martínez-García et al., 2021). Intracerebral Aβ leads to its long-lasting non-fibrillar accumulation in the tissue (Alvarado-Martínez et al., 2013; Zussy et al., 2011, 2013; Sharma et al., 2016; Torres-Flores and Peña-Ortega, 2022). After the microinjection, mice were sutured and

TABLE 1 Summary of the behavioral (as # of animals) and electrophysiological (as # of neurons) measurement divided by sex.

	Behavior			Electrophysiology		
	M	F	Total	M	F	Total
WT veh	4	3	7	5	5	10
WT Epo	4	4	8	4	4	8
WT Aβ	3	4	8/7	5	4	9
WT Aβ + Epo	3	4	7	5	6	11
Tg veh	4	5	10/9	3	5	8
Tg Epo	4	5	9	3	5	8
Tg Aβ	3	4	7	4	5	9
Tg Aβ + Epo	5	3	8	5	4	9
Total	30	32	64/62	34	38	72

Note that for both groups, a couple of mice are not included in all behavioral tests because they did not reach the inclusion criteria for the Hebb-Williams test.





given meloxicam (2 mg/kg) to reduce inflammation and pain. All animals were returned to their home cages and allowed to recover from surgery for 2 weeks before any further manipulation. Mice that received an ICV injection of A $\beta$  are also referred to as subjects with “global A $\beta$ ” (Torres-Flores and Peña-Ortega, 2022).

## Epo-D administration

Epo-D (MedChem Express) was dissolved in DMSO and aliquoted in stocks of 1 mg/mL (2.057 mM), which were stored at  $-70^{\circ}\text{C}$ . This solution was intraperitoneally injected to mice (2 mg/kg; Brunden et al., 2010). Upon this administration Epo-D reach a nanomolar concentration in the brain (Schering AG patent, WO 03/074053 A1, published 12/09/2003; Brunden et al., 2010) that lasts for several days after the administration (Brunden et al., 2010). The first dose was injected 24 h before the open field test (Figure 1A), and then applied weekly (Figure 1A).

## Open field test

Spontaneous exploration was assessed with the open field test (Salgado-Puga and Peña-Ortega, 2015). Animals were handled and

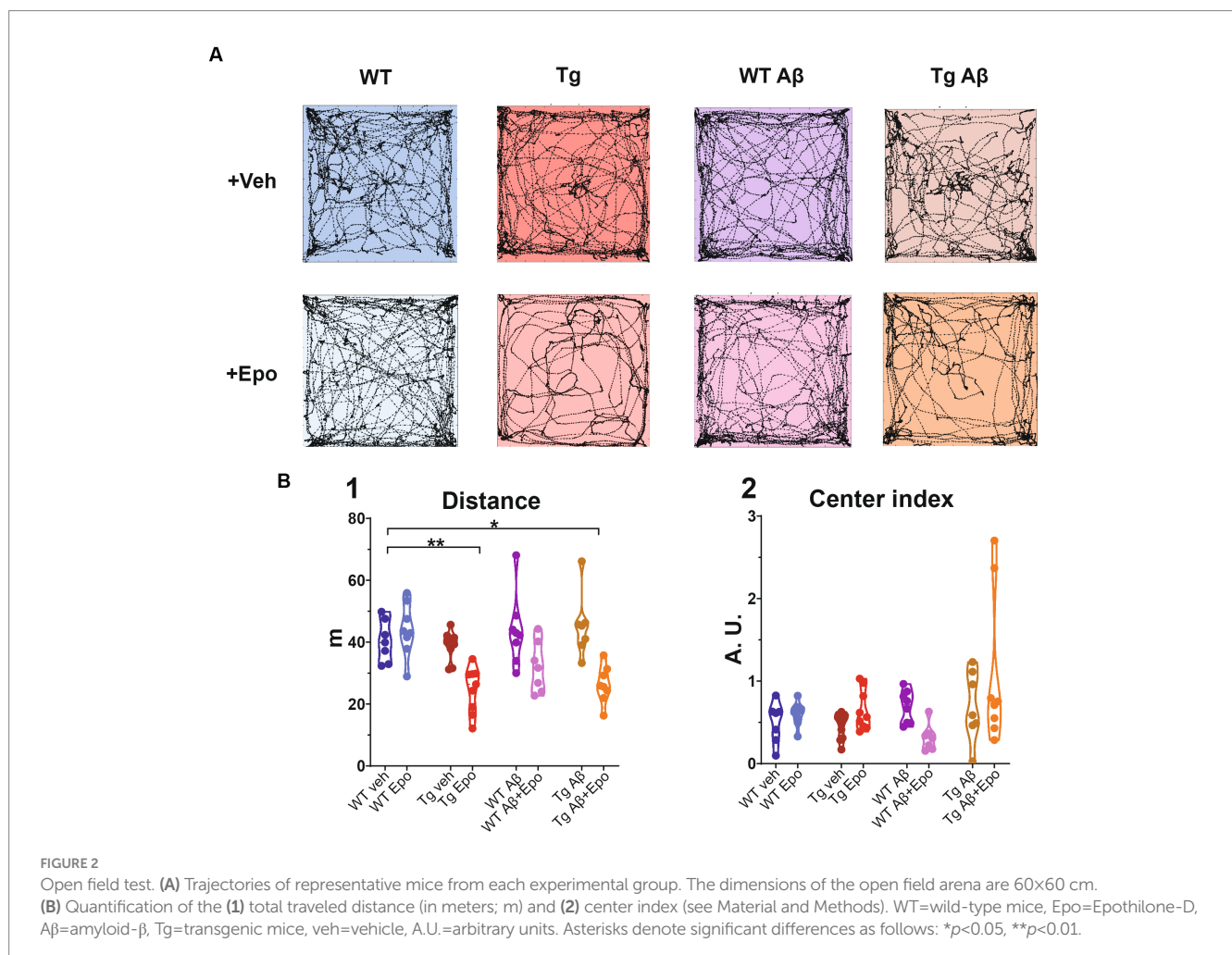
habituated to the context and the experimenter in 10 min sessions for 2 days, two sessions per day, prior to testing (H1 and H2; Figure 1A). On the third day (Figure 1A), animals were introduced into a novel  $60 \times 60 \times 30$  cm square field and their spontaneous behavior was video-recorded for 5 min (Logitech Webcam). Of the  $3,600 \text{ cm}^2$  comprising the arena, a square of  $900 \text{ cm}^2$  ( $30 \times 30$  cm) was considered its center (25% of the total area; Figures 1A, 2). Thus, we calculated the proportion of time spent in the center as follows:

$$CI = \frac{25\%}{\%time}$$

Where *CI* is the center index and *% time* is the proportional time spent in the central area with respect to the total exploration time (5 min). Values below 1 indicate that mice preferred to explore the periphery.

## Hebb–Williams test

The day after the open field test, animals were trained in a modified version of the HW test (Méndez-Salcido et al., 2022; Figures 1A, 3). First, mice were trained in a linear corridor for three consecutive days (HWt1-3; Figure 1A), with 10 assays per day (i.e.,



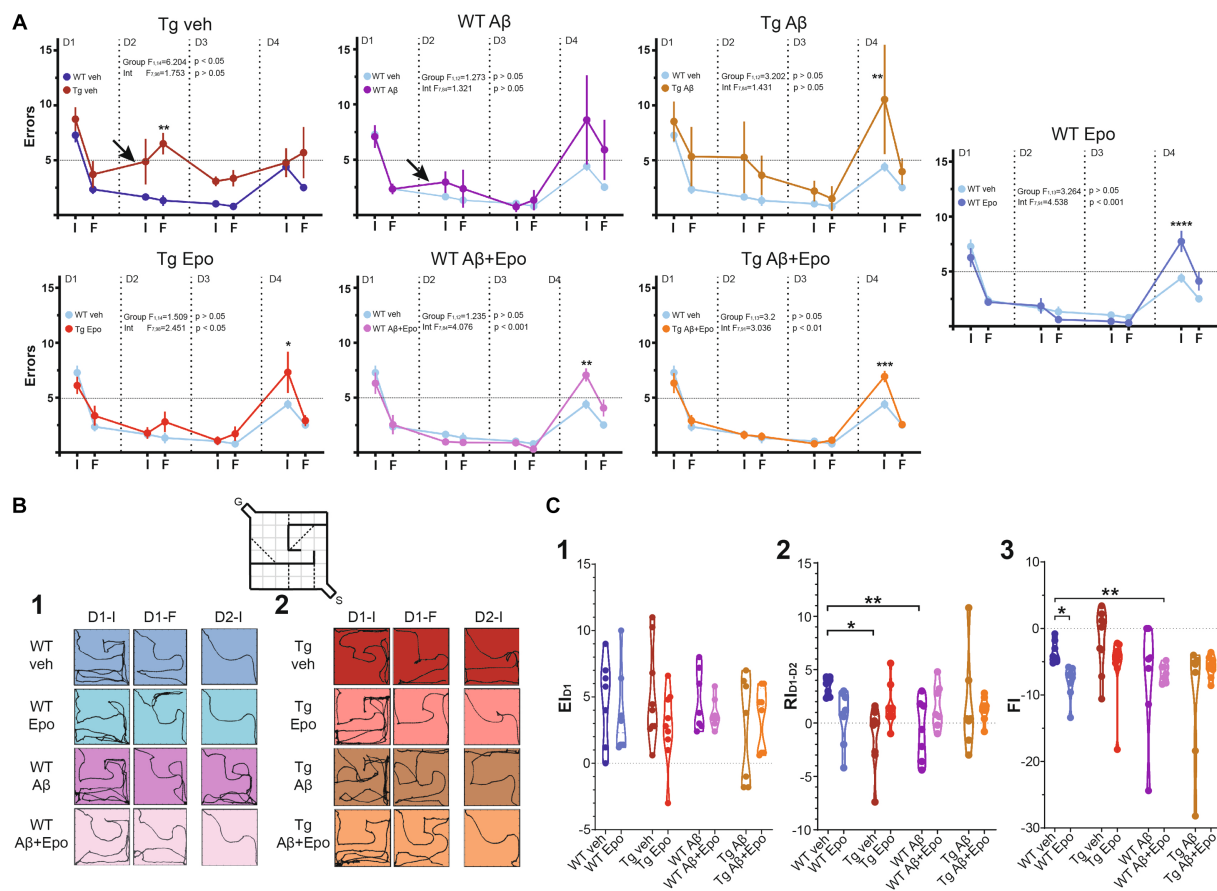


FIGURE 3

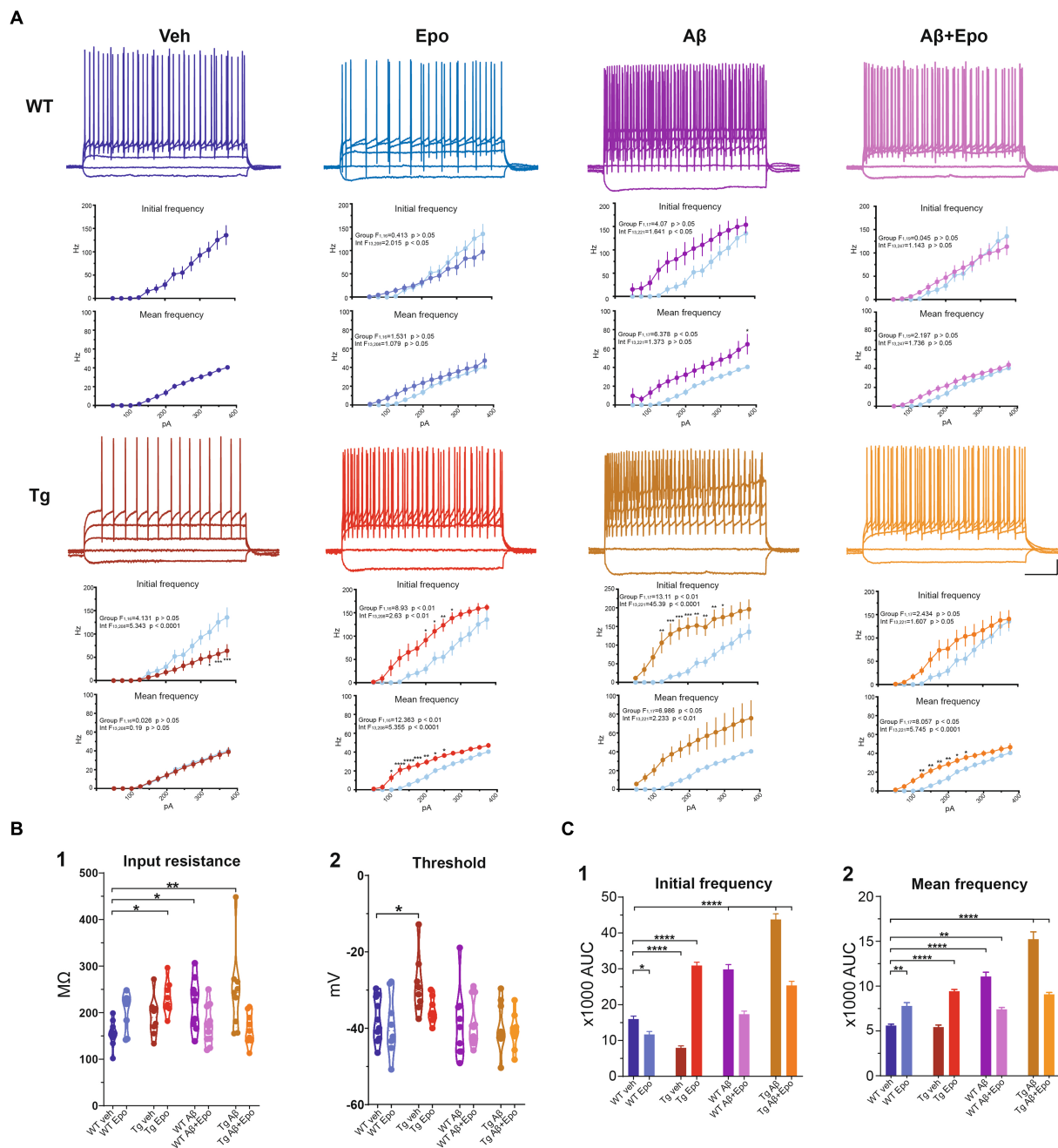
Hebb-Williams test. **(A)** Performance (as # of errors) of the WT mice and Tg mice during the 4 days testing. The performance was averaged for the errors in the initial (I) and final (F) five trials of each day. The control group (WT veh; dark blue) was included in the graph with the Tg animals for a direct comparison. It was also included in the other graphs (light blue) for the same reason. The arrows indicate the two cases in which retrieval was affected (note the positive slope produced by an increase in errors compared to the previous day). **(B)** Trajectories of representative trials of each group at the beginning and end of day one (**1**); D1-I and D1-F, respectively; i.e., encoding phase of the test) and at the beginning of day two (**2**); D2; i.e., retrieval phase of the test). The inset represents the configuration of the #4 HW maze. **(C)** Quantification of the encoding [**1**];  $El_{D1}$ ], retrieval [**2**];  $Rl_{D1-D2}$ ] and flexibility [**3**];  $Fl$ ,  $Fl$ ] indexes (see Material and Methods). WT = wild-type mice, Epo = Epothilone-D, Aβ = amyloid-β, Tg = transgenic mice, veh = vehicle. Asterisks denote significant differences as follows: \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ .

1 session). In each assay the animal was left in the starting compartment (S) to walk through the delimited corridor, reach the goal compartment (G), and get a reward (a small piece of corn flake; Figure 1A). After each session, mice were allowed to eat freely for 6 h and then maintained under an 18 h food deprivation regime before the next training day (18–6 h cycle). Animals that did not reach the goal compartment within 5 s in the last five assays of the third training day were discarded (only two out of 64 animals; Table 1).

The standard #4 HW maze (MacLeod et al., 2010; Figures 1A, 3B), previously tested in our laboratory (Méndez-Salcido et al., 2022), was used for three consecutive days (D1–3). The test consisted in one encoding phase (on D1) and two retrieval phases (on D2 and D3). Then, on D4, a different maze was used (#9 HW maze; MacLeod et al., 2010) to evaluate the subject's cognitive flexibility or reversal learning (Torres-Flores and Peña-Ortega, 2022). Considering that both mazes include five imaginary error lines (see Figure 1A), we set a threshold of five errors (or fewer) as a learning criterion. All assays were video-recorded for offline analysis (Logitech Webcam).

## Electrophysiology

After completing the behavioral tests, brain slices were obtained from each mouse for patch-clamp recordings (Figures 1A, 4–6). To do so, mice were anesthetized with pentobarbital (100 mg/kg; Adaya-Villanueva et al., 2010). Next, they were transcardially perfused with a cold low-sodium (substituted with sucrose) saline containing (in mM): 75 sucrose, 25 glucose, 25  $\text{NaHCO}_3$ , 73 NaCl, 2.5 KCl, 7  $\text{MgCl}_2$ , 0.5  $\text{CaCl}_2$  (pH 7.4; 4°C) bubbled with carbogen (95%  $\text{O}_2$ , 5%  $\text{CO}_2$ ). Mice were subsequently decapitated, and their brains were carefully dissected and submerged in ice-cold low-sodium saline. The two hemispheres were separated and glued horizontally at an angle of  $\sim 10^\circ$ , onto a vibratome (HM 650 V, Thermo Scientific, USA) to obtain 350  $\mu\text{m}$  thick horizontal slices with extensive hippocampal/entorhinal cortex connectivity (Méndez-Salcido et al., 2022). The slices were left to recover in a low-calcium/high-magnesium saline containing (in mM): 10 glucose, 25  $\text{NaHCO}_3$ , 125 NaCl, 2.5 KCl, 6  $\text{MgCl}_2$ , and 0.5  $\text{CaCl}_2$  at 36°C. After at least 1 h of recovery, one slice was transferred to a recording chamber, located under a microscope (E-600FN Nikon)



**FIGURE 4**  
 Intrinsic excitability of CA1 pyramidal neurons. **(A)** Representative voltage responses to 1 s long, square pulses of the following magnitudes: -100, 0, 100, 200 and 300 pA, for all experimental groups. Scale bars: 200 ms, 20 mV. I-F curves of the AP initial frequency and AP average frequency are included in each case. The control group was included in the other graphs (light blue) for comparison. **(B)** Quantification of **(1)** cell membrane input resistance and **(2)** threshold potential. **(C)** Quantification of the area under the curve (AUC) of the AP initial frequency **(1)** and AP average frequency **(2)** for all groups. WT = wild-type mice, Epo = Epothilone-D, Aβ = amyloid-β, Tg = transgenic mice, veh = vehicle. Asterisks denote significant differences as follows: \**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01, \*\*\*\**p* < 0.0001.

provided with differential interference contrast illumination and coupled to a perfusion system with a 3 mL/min flow of bubbled artificial cerebrospinal fluid (aCSF) containing (in mM): 10 glucose, 25 NaHCO<sub>3</sub>, 1.25 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 125 NaCl, 2.5 KCl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub> at 34°C. Borosilicate glass capillaries (outside diameter: 1.5 mm; inside diameter: 0.86 mm; Sutter Instrument) were pulled (Flaming-Brown P-97, Sutter Instrument) to obtain 4–7 MΩ electrodes that were filled

with an internal recording solution containing (in mM): 120 potassium gluconate, 20 KCl, 0.5 MgCl<sub>2</sub>, 10 HEPES, 0.5 EGTA, 2 NaATP, 0.3 NaGTP, pH = 7.3 adjusted with KOH 1 M. Patch sealing was made in voltage clamp mode, pipette capacitive currents were canceled in the cell-attached configuration, and series resistance was measured and compensated by 80% in the whole-cell configuration. Identification of hippocampal CA1 pyramidal neurons was based on

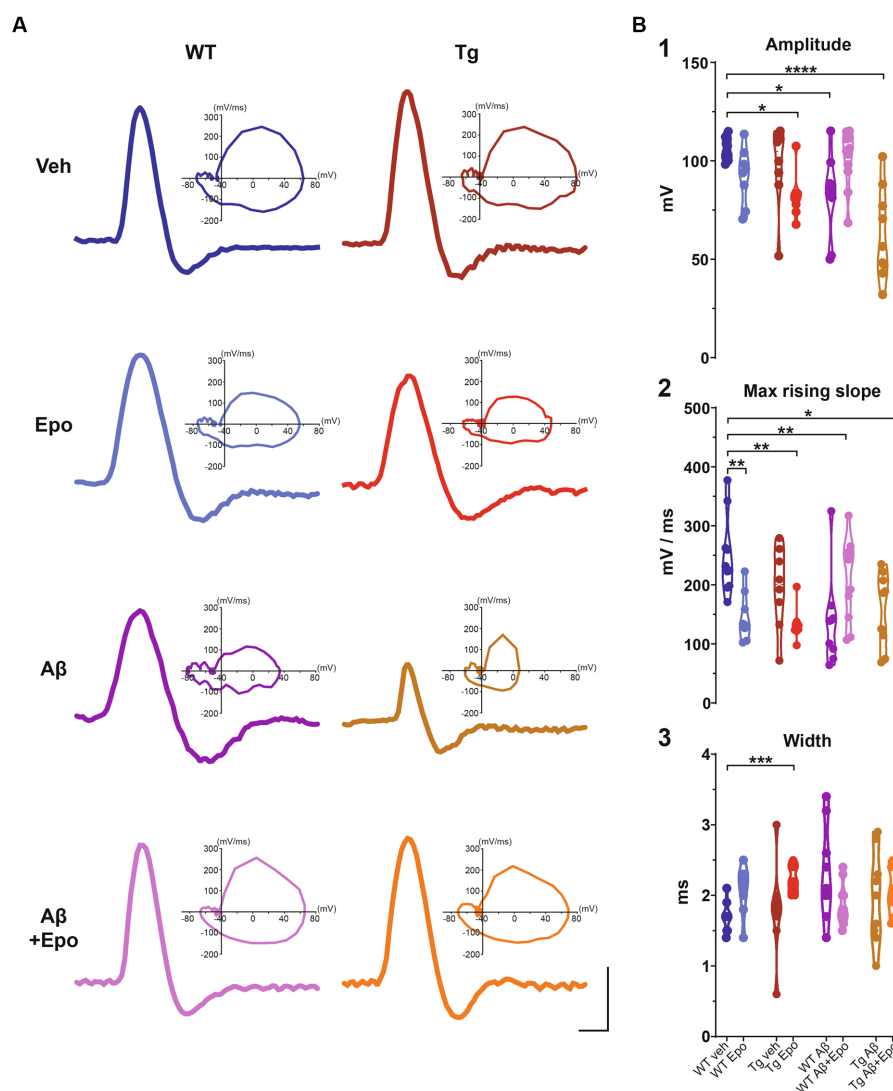


FIGURE 5

Action potential waveform. (A) Representative action potentials, obtained from the I/F curves elicited in CA1 pyramidal neurons of all experimental groups. The corresponding phase plot of each action potential is shown on the right. Scale bars: 1 ms, 50 mV. (B) Quantification of the amplitude (1), maximum rising slope (2), and width (3) of the action potentials of all experimental groups. WT = wild-type mice, Epo = Epothilone-D, Aβ = amyloid-β, Tg = transgenic mice, veh = vehicle. Asterisks denote significant differences as follows: \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ .

their laminar location at the *stratum pyramidale*, their somatic morphology, and their intrinsic electrical properties such as low input resistance (100–250 MΩ), a time constant of 10–20 ms and evoked regular spiking with a frequency of 5–30 Hz after stimulation under 200 pA in current clamp mode (Balleza-Tapia et al., 2010; Peña et al., 2010; Tamagnini et al., 2015). Once we obtained a stable recording of a CA1 pyramidal neuron in current-clamp mode, current–voltage (I/V) and current–frequency (I/F) curves were obtained with square current pulses of 1 s, from –200 to 100 pA for I/V curves, and 0 to 375 pA for I/F curves, in steps of 25 pA. Subsequently, in voltage-clamp mode, spontaneous postsynaptic currents (sPSCs) were recorded for 5 min at a holding potential of –70 mV (Balleza-Tapia et al., 2010; Méndez-Salcido et al., 2022). To assess the synaptic properties of the temporoammonic (TA) innervation to the recorded CA1 pyramidal neurons, an extracellular stimulating concentric bipolar electrode was positioned on these fibers in the *stratum lacunosum-moleculare* of the

subiculum (Arrigoni and Greene, 2004). Input–output curves (I/O) were obtained by evoking excitatory postsynaptic currents (EPSCs) with 100 μs square pulses of ascending amplitude (0 to 150 μA in steps of 10 μA), delivered at 0.05 Hz (Salgado-Puga et al., 2017; Alcantara-Gonzalez et al., 2019). Short-term plasticity (STP) was evaluated by applying trains of five pulses at 25 Hz and at the intensity that evoked an initial EPSC with an amplitude 40–50% of maximal response obtained in each individual I/O curve. Trains were delivered at 0.05 Hz (Flores-Martínez and Peña-Ortega, 2017; Torres-Flores and Peña-Ortega, 2022). During voltage-clamp recordings, series resistance was monitored with 20 ms-long and –2 mV commands applied 40 ms before the extracellular stimulation used to induce the EPSCs. Cells that displayed series resistance changes above 20% were discarded. Signals were amplified, low-pass filtered at 5 kHz (Axopatch 200b, Molecular Devices), and digitized at 10 kHz (Digidata, Molecular Devices).

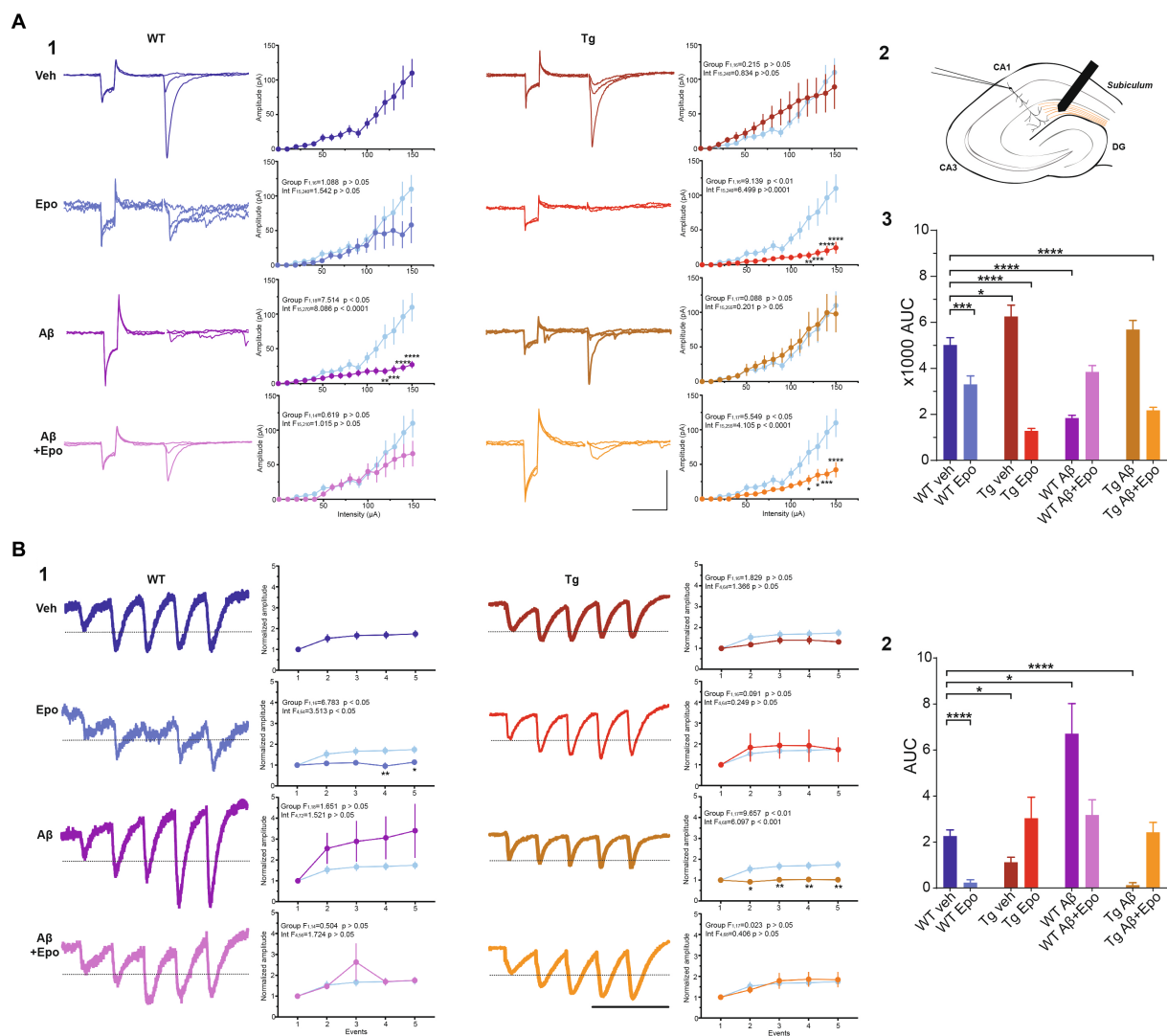


FIGURE 6

Transmission in the temporoammonic pathway. **(A)** EPSCs recorded in CA1 neurons (**1**) upon extracellular stimulation of the temporoammonic fibers at the *stratum lacunosum-moleculare* (schematized in **2**). For each experimental group there are three representative current traces that correspond to three stimulation intensities: 40, 60, and 100  $\mu$ A. Scale bars: 100 ms, 100 pA. The quantifications of the input–output (I/O) curves are shown on the right. Pulse intensity ranges from 0 to 150  $\mu$ A. **(3)** Area under the I/O curves shown in **(1)**. **(B)** EPSCs evoked by 25 Hz stimulation trains (**1**). The representative current traces are the average of eight responses. The dotted line indicates the normalized amplitude of S1. Scale bar: 100 ms. Quantification of the mean normalized amplitudes (S1 set as 1) of the five evoked responses (S1–S5) are shown on the right. For the two panels, the control group was included in the graphs (light blue) for comparison. **(2)** Quantification of the area under the short-term plasticity (STP) curves with the dotted line in **(1)** set as baseline. WT = wild-type mice, Epo = Epothilone-D, A $\beta$  = amyloid- $\beta$ , Tg = transgenic mice, veh = vehicle, AUC = area under the curve. Asterisks denote significant differences as follows: \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ .

## Nissl staining

In an independent group of mice, which were not behaviorally tested, CA1 integrity was evaluated in Nissl-stained sections (Peña and Tapia, 1999; Pena and Tapia, 2000; SantaCruz et al., 2005; Zussy et al., 2013; Eslamizade et al., 2015; Salgado-Puga and Pena-Ortega, 2015; Sharma et al., 2016; Raj et al., 2019). Briefly, animals were anesthetized with pentobarbital, transcardially perfused with low-sodium saline, and the brains were extracted and fixed overnight in 4% paraformaldehyde (Sigma, USA) in phosphate-buffered saline (PBS; Sigma, USA), and then in a sucrose solution (30% in PBS) for 3 days. Cryosections (30  $\mu$ m thick) were obtained (CM 350S, Leica, Wetzlar, Germany) at the level of the dorsal

hippocampus, mounted on gelatinized slides, stained with 0.1% cresyl violet (Sigma, USA) and coverslipped with Entellan medium (Sigma, USA). Observations were conducted by bright field microscopy (Axioplan 2, Zeiss, Germany; Figure 7A). CA1 hyperchromic and irregular cells (damaged cells) were counted using Image-J software (Peña and Tapia, 1999; Pena and Tapia, 2000). Additionally, also with Image-J, we calculated the proportion of CA1 hyperchromic area by automatically delimiting the CA1 pyramidal layer and subsequently used a typical hyperchromic cell or a condensed nucleus within any given micrograph to set an individual hyperchromic threshold. Then, we quantified all the area above this threshold as a proportion of the whole captured CA1 area (Figure 7B). For this purpose, digitized images acquired using

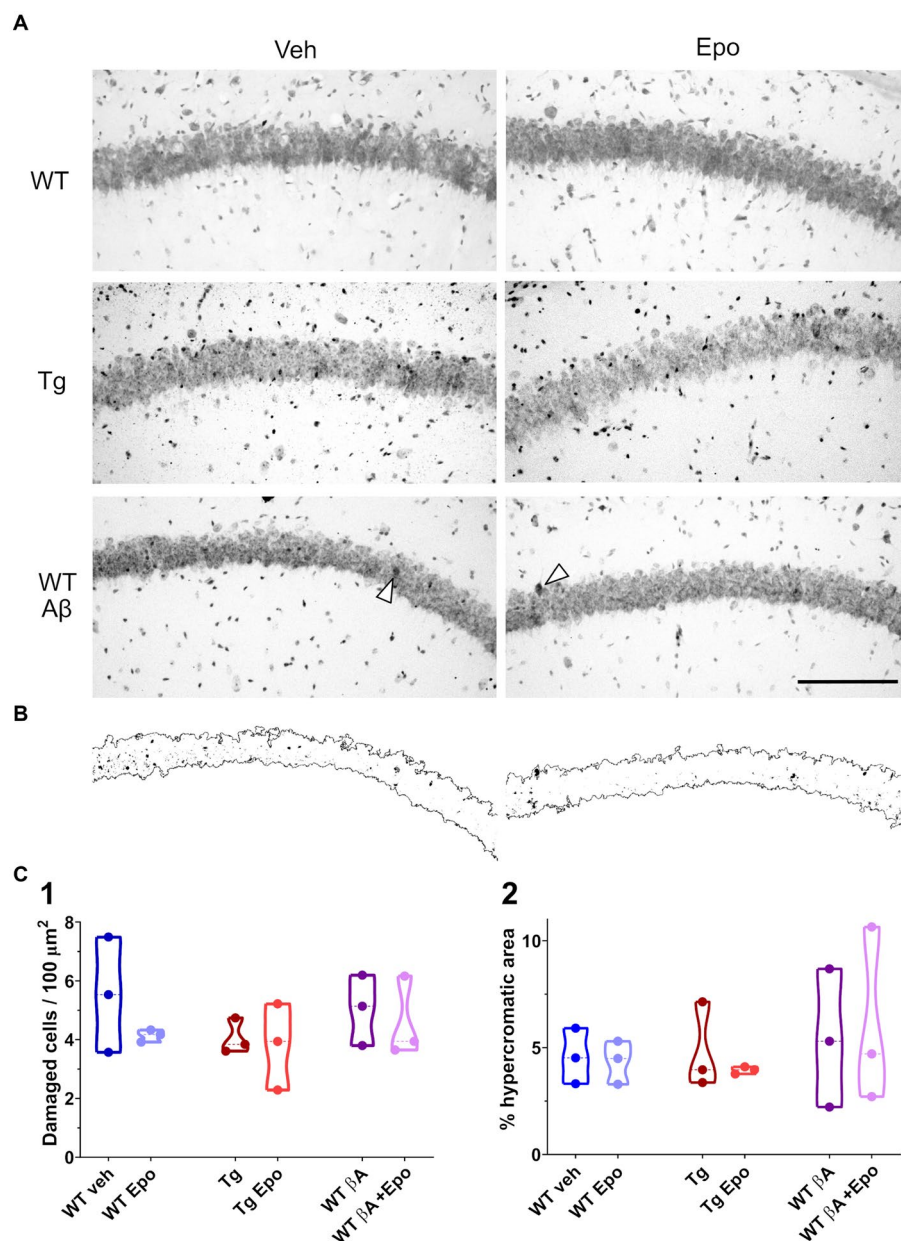


FIGURE 7

Hippocampal CA1 integrity. (A) Representative micrographs of Nissl-stained hippocampal sections obtained from animals of the indicated groups. Scale bar: 150 μm (also applies for B). (B) Binarized CA1 area extracted from the micrographs at the bottom of panel (A) as well as the hyperchromatic areas that surpassed an internal threshold determined by the arrowhead in each micrograph. (C) Quantification of the number of damaged cells (1; i.e. hyperchromatic and/or irregular cells) in a given area of the CA1 pyramidal cell layer and of the proportion of hyperchromatic area from the same area in binarized images (2). WT = wild-type mice, Epo = Epothilone-D, Aβ = amyloid-β, Tg = transgenic mice, veh = vehicle.

a ×20 objective and the software Zen (Zeiss, Germany) were brought to the automatic level of contrast set by using Image-J. Three slides were analyzed for each mouse. Cells in the region of interest were calculated per mouse and averaged per group.

## Data analysis

Video recordings were analyzed offline with the Matlab Optimouse toolbox (Ben-Shaul, 2017). Total distance, averaged velocity, and errors were measured for each assay in the HW test.

Classical encoding and retrieval indexes ( $EI_{D1}$  and  $RI_{D1-D2}$ ) were calculated with the number of errors observed when mice solved the #4 HW maze (Rogers and Kesner, 2003; Lee and Kesner, 2004; Jerman et al., 2006; Vago et al., 2007; Hunsaker et al., 2008; Churchwell et al., 2010; Méndez-Salcido et al., 2022; Figure 3C<sub>1,2</sub>). We also calculated encoding indexes for D2 and D3 ( $EI_{D2}$  and  $EI_{D3}$ ; Supplementary Figure 1A<sub>1,2</sub>) as well an overall encoding index from the beginning of D1 to the end of D3 ( $EI_{D1-D3}$ ; Supplementary Figure 1A<sub>3</sub>). A flexibility index (FI; Supplementary Figure 1B) and a re-encoding index (REI; Supplementary Figure 1C) were also calculated with the number of

errors observed when mice solved the #9 HW maze. Indexes were calculated as follows:

$$EI_{D1} = Err_{D1-I} - Err_{D1-F}$$

$$EI_{D2} = Err_{D2-I} - Err_{D2-F}$$

$$EI_{D3} = Err_{D3-I} - Err_{D3-F}$$

$$RI_{D1-D2} = Err_{D1-F} - Err_{D2-I}$$

$$RI_{D2-D3} = Err_{D2-F} - Err_{D3-I}$$

$$FI = Err_{D3-F} - Err_{D4-I}$$

$$REI = Err_{D4-I} - Err_{D4-F}$$

$$EI_{D1-D3} = Err_{D1-I} - Err_{D3-F}$$

Where:

$Err_{Dn-I}$  is the averaged error of the first 5 trials on day  $n$

$Err_{Dn-F}$  is the averaged error of the last 5 trials on day  $n$

Electrophysiological recordings were analyzed using custom-made Matlab scripts and Clampfit v.10 (Molecular Devices; see Figure 1B<sub>1,3</sub>). Membrane resting potential was measured in current clamp at zero holding current just after whole-cell configuration was achieved. The membrane input resistance was measured as the slope of the I/V curve from 0 to 100 pA stimulation values. Membrane time constant ( $\tau$ ) was calculated from a simple exponential fit of the ascending voltage response to a +25 pA square pulse. Sag rectification was obtained as the quotient of the initial peak voltage response to a -200 pA hyperpolarizing step current divided by the voltage at the end of the response. Rheobase was determined as the minimal current value that evoked at least one action potential (AP). Threshold potential was considered as the first membrane potential value with a derivative value above 20 mV/ms (Hatch et al., 2017). All AP properties were measured from the first AP evoked in the I/F curve. AP maximal rise slope was considered as the highest derivative value of the rising phase voltage (Colbert et al., 1997). AP amplitude was measured from threshold to peak voltage (Figure 1B<sub>2</sub>). AP width was measured as the time from the beginning of the AP to the point where the voltage reached the threshold potential (Figure 1B<sub>2</sub>). This same time point was considered as the onset of the afterhyperpolarization (AHP; Figure 1B<sub>2</sub>). AHP amplitude was calculated from its onset to its most negative peak. AHP duration was measured from its onset to the time when voltage depolarization stopped (slope = 0 mV/ms). Initial firing rate was calculated as the instantaneous firing frequency from the first pair of APs in each train, whereas mean firing rate was calculated as the average of the instantaneous frequencies of all pairs of APs in each train (Figure 1B<sub>1</sub>). The mean area under the I/F, I/O and STP curves was also calculated. The amplitude of the EPSCs was measured from baseline to its peak current (Figure 1B<sub>3</sub>). STP curves were normalized to the amplitude of the first EPSC (S1; set as one; Figure 1B<sub>3</sub>). Thus, the area under the STP curve was calculated considering a baseline value of one. The detection threshold for sPSCs was set at 3.5 times the standard deviation of the whole signal. All events were visually inspected to confirm normal sPSC waveform (i.e., a linear rising phase and an exponential decaying phase; Balleza-Tapia et al., 2010).

All data are presented as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). The  $n$  in behavioral experiments represents the number of animals, whereas in electrophysiological measurements it represents the number of neurons. A Shapiro-Wilcoxon normality test was applied to all data sets. Repeated measures analysis of variance

(ANOVA) with Dunnett's post-hoc test was used to evaluate significant differences among means. Welch's ANOVA with Dunnett's T3 post-hoc test was applied if variances among groups were significantly different. For I/E, I/O, and STP curves, two-way ANOVA with Sidak's post-hoc test was used. Comparisons in the post-hoc tests were made with respect to the WT group administered with vehicle. Significance was defined as  $\alpha = 0.05$ .

## Results

### Epo-D impairs locomotion in Tg mice

Previous reports of MSA side-effects indicate that these drugs impair locomotion and could thus affect spatial navigation performance (Ray et al., 2011). Therefore, we analyzed the movement and exploration of all mice in an open field after the first administration of either Epo-D or its vehicle (Figure 2). In the WT groups, Epo-D did not change the total traveled distance in the open field (Figure 2B<sub>1</sub>). In contrast, administration of Epo-D to Tg mice diminished their total traveled distance (ANOVA,  $F_{7,56} = 8.425$ ,  $p < 0.0001$ , Dunnett's post-hoc test; distance<sub>Tg\_veh</sub> = 40.308  $\pm$  2.562 m, adjusted  $p < 0.01$ ; distance<sub>Tg\_Epo</sub> = 24.671  $\pm$  2.451 m adjusted  $p < 0.01$ ; Figure 2B<sub>1</sub>). Similar effects of Epo-D (decrease in traveled distance) were observed in Tg mice with global A $\beta$  (distance<sub>Tg\_A $\beta$ +Epo</sub> = 26.298  $\pm$  2.104 m, adjusted  $p < 0.05$ ). We did not find changes in the proportion of time spent in the center/periphery evaluated through the center index (CI) in any of the groups (Welch's ANOVA test,  $F_{7,23.05} = 3.379$ , adjusted  $p > 0.05$ , Dunnett's T3 post-hoc test; Figure 2B<sub>2</sub>).

### A $\beta$ - and P-tau induce mild alterations in spatial memory retrieval

After the open field test, we evaluated the mice's spatial learning and memory with the Hebb-Williams test (Méndez-Salcido et al., 2022; Figures 1A, 3B; Supplementary Figure 1). All animals except Tg mice with global A $\beta$  had an average of five or fewer errors (learning threshold) by the end of day one (D1-F) and maintained their performance below threshold until D3 (Figures 3A,C). We found no difference in the learning curve of WT animals with global A $\beta$  compared to control mice (group factor  $F_{1,12} = 1.273$ ,  $p > 0.05$ ; interaction  $F_{7,84} = 1.321$ ,  $p > 0.05$ ; Figure 3A), but we did identify a significant difference between the learning curves of Tg mice and control mice (group factor  $F_{1,14} = 6.204$ ,  $p < 0.05$ ; interaction  $F_{7,98} = 1.753$ ,  $p > 0.05$ ; Figure 3A). Despite this difference, all groups reached learning levels that were not significantly different from those of control animals after repeated training for three consecutive days (Supplementary Figure 1C). As mentioned, we quantified the classical encoding and retrieval indexes (EI<sub>D1</sub> and RI<sub>D1-D2</sub>, respectively; see Methods; Figure 3C<sub>1,2</sub>; Lee and Kesner, 2004; Jerman et al., 2006; Churchwell et al., 2010; Méndez-Salcido et al., 2022) and found no differences in the classical EI<sub>D1</sub> (i.e., during the first training day) among groups (ANOVA  $F_{7,54} = 1.032$ ,  $p > 0.05$ , Dunnett's post-hoc test; Figure 3C<sub>1</sub>). No differences among groups were found for EI<sub>D2</sub> (Welch's ANOVA  $F_{7,22.653} = 1.413$ ,  $p > 0.05$ , Dunnett's T3 post-hoc test) or EI<sub>D3</sub> (Welch's ANOVA  $F_{7,21.83} = 2.018$ ,  $p > 0.05$ , Dunnett's T3 post-hoc test; Supplementary Figure 1A). However, classical retrieval index (RI<sub>D1-D2</sub>), which evaluates retrieval of the information gathered on D1 (RI<sub>D1-D2</sub>),

was reduced in WT mice with global A $\beta$  ( $F_{7,54}=2.466$ ,  $p>0.05$ , Dunnett's post-hoc test;  $RI_{D1-D2; WT\ veh}=3.438\pm 0.325$ ;  $RI_{D1-D2; WT\ A\beta}=-0.629\pm 1.086$ ) and in Tg mice microinjected with vehicle ( $RI_{D1-D2; Tg\ veh}=-1.167\pm 0.931$ ; **Figure 3C<sub>2</sub>**) compared to WT mice microinjected with vehicle. This abnormal  $RI_{D1-D2}$  was also reflected as a positive slope (arrows in **Figure 3A**) in the performance curve of the animals between the end of D1 and the beginning of D2 (i.e., more errors at the beginning of D2 than at the end of D1; **Figure 3A**). At the beginning of D3, we calculated the  $RI_{D2-D3}$  (retrieval of the information gathered during D1 and D2). Tg mice exhibited a higher  $RI_{D2-D3}$  than the rest of the groups (Welch's ANOVA  $F_{7,22.38}=2.359$ ,  $p=0.058$ , Dunnett's T3 post-hoc test, adjusted  $p<0.05$ ; **Supplementary Figure 1B**), mainly because only this group had a significantly high number of errors at the end of D2 (**Figure 3A**) and on D3 they made fewer errors (**Figure 3A**).

## The combination of A $\beta$ and P-tau pathology affects cognitive flexibility

Since A $\beta$  and P-tau had similar detrimental effects on retrieval, we expected their combination to potentiate their individual pathological effects (Ittner et al., 2010; Zempel and Mandelkow, 2012). Unexpectedly, Tg mice with global A $\beta$  had a  $RI_{D2-D3}$  similar to that of WT mice ( $RI_{D2-D3; Tg\ A\beta}=1.601\pm 1.736$ ; **Figure 3C<sub>2</sub>**). However, Tg mice with global A $\beta$  exhibited a poor performance on D1 and D2, as their mean errors did not reach the 5-error learning threshold, which was only achieved during the last 5 trials of D2 (**Figure 3A**). Despite that Tg mice with global A $\beta$  did not exhibit more errors at the beginning of D2 than at the end of D1 (i.e., they had a normal  $RI_{D2-D3}$ ; **Figure 3C<sub>2</sub>**), they did sustain a high number of errors (**Figure 3A<sub>2</sub>**). It is important to stress that the high variability of errors seen during the retrieval phase (end of D1 and beginning of D2) in this group of mice precluded a significant change in  $RI_{D2-D3}$  (**Figure 3C<sub>2</sub>**).

## Epo-D rescues A $\beta$ - and P-tau-induced impairments of retrieval

As hypothesized, Epo-D treatment in WT mice with global A $\beta$  ( $RI_{D2-D3}=1.571\pm 0.785$ ; **Figure 3C<sub>2</sub>**) and Tg mice ( $RI_{D2-D3}=1.578\pm 0.642$ ; **Figures 3A<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>**) allowed them to retrieve information as control animals did. Moreover, Epo-D reduced the high error levels exhibited by Tg mice with global A $\beta$  (**Figure 3A**). In fact, Tg mice with global A $\beta$  treated with Epo-D reached the learning threshold (less than 5 errors) by the end of D1, as seen in the rest of the groups (**Figure 3A**). As expected, Tg mice injected with A $\beta$  and Epo-D exhibited a RI similar to the one shown by the WT group ( $RI_{D2-D3}=1.300\pm 0.398$ ; **Figure 3C<sub>2</sub>**).

## Epo-D reduces cognitive flexibility in WT mice

We also evaluated the effects of A $\beta$ , P-tau, their combination, and Epo-D on the cognitive flexibility (i.e., reversal learning) required to solve the HW test when the maze is changed (Torres-Flores and Peña-Ortega, 2022). As expected, all mice made more mistakes when completing a new maze (D4-I; **Figure 3A**) but improved their

performance upon repetition (D4-F; **Figure 3A**), thus showing similar REIs (Welch's ANOVA  $F_{7,22.574}=1.940$ ,  $p>0.05$ , Dunnett's T3 post-hoc test; **Supplementary Figure 1C**). All experimental groups, except for WT animals with global A $\beta$  or Tg mice treated with vehicle, exhibited significantly more errors than control animals when initially encountered with the new maze (D4-I; **Figure 3A**). To further evaluate the ability of mice to recognize the change in the maze and adjust their behavior, we measured the FI (**Figure 3C<sub>3</sub>**). Surprisingly, the FI was more negative in WT mice that received Epo-D (Welch's ANOVA with  $F_{7,22.93}=3.389$ ,  $p<0.01$ , Dunnett's T3 post-hoc test;  $FI_{WT\ veh}=-3.486\pm 0.6337$ ;  $FI_{WT\ Epo}=-7.422\pm 0.9829$ ; **Figure 3C<sub>3</sub>**) or animals that received Epo-D and were microinjected with A $\beta$  ( $FI_{WT\ A\beta+Epo}=-6.743\pm 0.508$ ; **Figure 3C<sub>3</sub>**). This deleterious effect of Epo-D on FI was not observed in Tg mice ( $FI_{Tg}=-5.600\pm 1.628$ ; **Figure 3C<sub>3</sub>**), which were similar to control animals (adjusted  $p=0.712$ ). Although the FI of Tg mice was not significantly different from that of control animals, some Tg animals exhibited a positive FI (**Figure 3C<sub>3</sub>**), which was partially due to the elevated number of errors that these mice presented at the end of the third training day in the initial maze (**Figure 3A**). Despite the alterations in cognitive flexibility observed in some groups (**Figures 3A, C<sub>3</sub>**), most animals reduced the number of errors by the end of the same day exposed to the new maze, which is reflected in similar REIs (**Supplementary Figure 1C**).

## A $\beta$ and P-tau have divergent effects on CA1 neuron excitability

Retrieval in the HW maze is highly dependent on CA1 and on its inputs from the entorhinal cortex through the TA pathway (Jerman et al., 2006; Churchwell et al., 2010). Thus, we analyzed the intrinsic and synaptic properties of CA1 principal neurons in the presence of A $\beta$ , P-tau, their combination, and Epo-D (**Figure 1B**). Recordings were performed in slices obtained after animals had completed behavioral tests (**Figure 1A**).

## A $\beta$ increases CA1 intrinsic excitability

When we analyzed the intrinsic properties of CA1 neurons in WT mice treated with A $\beta$ , we found an increase in excitability (**Figure 4A**) that correlated with higher input resistance (ANOVA,  $F_{7,64}=3.808$ ,  $p<0.01$ , Dunnett's post-hoc test;  $Rm_{WT\ veh}=155.401\pm 8.361$  M $\Omega$ ;  $Rm_{WT\ A\beta}=218.222\pm 18.442$  M $\Omega$ ; **Figure 4B<sub>1</sub>**). The A $\beta$ -induced increase in neuronal excitability is reflected as an increase in mean firing frequency, measured both at the beginning (two-way ANOVA, interaction  $F_{91, 221}=1.641$ ,  $p<0.05$ , Sidak's post-hoc test; **Figure 4A**), and during the train (two-way ANOVA, group  $F_{1, 17}=6.378$ ,  $p<0.05$ , Sidak's post-hoc test; **Figure 4A**), as well as in the area under the I/F curves (initial I/F area: ANOVA,  $F_{7,64}=119.738$ ,  $p<0.0001$ , Dunnett's post-hoc test,  $AUC_{WT\ veh}=15971.054\pm 2573.957$ ;  $AUC_{WT\ A\beta}=29,048\pm 3746.774$ ; mean I/F area: ANOVA,  $F_{7,64}=65.378$ ,  $p<0.0001$ , Dunnett's post-hoc test;  $AUC_{WT\ veh}=5597.638\pm 496.226$ ,  $AUC_{WT\ A\beta}=11275.707\pm 1461.971$ ; **Figure 4C<sub>1,2</sub>**). A $\beta$  also changed the AP waveforms (**Figure 5**) by reducing their amplitude ( $_{WT\ veh}=106.289\pm 1.762$  mV,  $_{WT\ A\beta}=82.244\pm 6.867$  mV; **Figure 5B<sub>1</sub>**) and their rising slope ( $_{WT\ veh}=248.501\pm 20.706$  mV/ms,  $_{WT\ A\beta}=138.177\pm 26.017$  mV/ms; **Figure 5B<sub>2</sub>**; **Table 2**).



TABLE 2 Summary of electrophysiological properties of CA1 principal neurons and TA pathway. (W), Welch's ANOVA test.

	WT veh	WT Epo	WT Aβ	WT Aβ + Epo	Tg veh	Tg Epo	Tg Aβ	Tg Aβ + Epo	ANOVA	
	<i>n</i> = 10	<i>n</i> = 8	<i>n</i> = 11	<i>n</i> = 10	<i>n</i> = 8	<i>n</i> = 8	<i>n</i> = 9	<i>n</i> = 9	<i>F</i>	<i>p</i>
Passive properties										
V <sub>m</sub> (mV)	-59.456 ± 1.875	-56.118 ± 2.497	-58.279 ± 2.326	-63.701 ± 1.974	-53.388 ± 2.537	-63.538 ± 2.377	-63.589 ± 1.191	-65.259 ± 2.596	3.662	<0.01
Tau (ms)	15.037 ± 2.987	10.419 ± 2.098	9.137 ± 1.325	12.594 ± 2.087	15.357 ± 1.661	19.086 ± 1.178	17.241 ± 1.348	19.411 ± 2.199	3.439	<0.01
R <sub>m</sub> (MΩ)	155.401 ± 8.361	202.737 ± 14.593	218.222 ± 18.442*	172.809 ± 12.381	191.275 ± 15.051	231.963 ± 12.555*	245.011 ± 29.531**	164.955 ± 11.313	4.063	<0.01
C <sub>m</sub> (pF)	75.453 ± 6.701	50.845 ± 9.921	45.621 ± 7.966	77.339 ± 14.351	82.066 ± 8.503	84.034 ± 6.797	77.395 ± 9.996	128.711 ± 23.884*	3.887	<0.01
Sag (proportion)	0.061 ± 0.016	0.094 ± 0.029	0.042 ± 0.009	0.047 ± 0.004	0.171 ± 0.011***	0.223 ± 0.011****	0.033 ± 0.006	0.036 ± 0.006	(W) 51.801	<0.0001
Active properties										
Rheobase (pA)	175.000 ± 17.078	125.000 ± 18.898	111.111 ± 19.593*	132.364 ± 17.309	168.750 ± 16.870	96.875 ± 11.017**	75.000 ± 11.785****	94.444 ± 8.098**	5.104	<0.01
Threshold (mV)	-37.772 ± 1.839	-39.085 ± 2.849	-38.892 ± 3.066	-38.674 ± 1.787	-28.649 ± 2.736*	-35.324 ± 1.193	-39.572 ± 2.114	-40.782 ± 1.522	2.813	<0.05
AP amplitude (mV)	106.289 ± 1.762	92.263 ± 5.121	82.244 ± 6.867*	101.142 ± 4.317	97.825 ± 7.444	82.136 ± 4.095*	62.756 ± 7.727****	95.98 ± 5.5	6.488	<0.0001
AP rise time (ms)	0.820 ± 0.061	1.050 ± 0.070	1.022 ± 0.76	0.836 ± 0.047	0.875 ± 0.062	1.025 ± 0.041	0.867 ± 0.093	0.944 ± 0.058	2.018	>0.05
AP rise slope (mV/ms)	248.500 ± 20.706	146.299 ± 14.773**	138.177 ± 26.017**	211.265 ± 20.704	194.549 ± 24.379	133.514 ± 10.014**	158.115 ± 21.131*	175.646 ± 23.278	3.767	< 0.01
Width (ms)	1.690 ± 0.064	2.075 ± 0.122	2.311 ± 0.221	1.864 ± 0.086	1.788 ± 0.233	2.225 ± 0.067****	1.967 ± 0.215	2.056 ± 0.107	(W) 4.869	<0.001
Half-width (ms)	0.970 ± 0.052	1.225 ± 0.070	1.311 ± 0.119	1.073 ± 0.054	1.138 ± 0.094	1.325 ± 0.045****	1.133 ± 0.128	1.222 ± 0.619*	(W) 4.074	<0.01
AHP amplitude (mV)	30.970 ± 3.165	36.000 ± 2.620	25.400 ± 4.033	27.923 ± 1.911	34.487 ± 3.028	25.875 ± 1.519	21.711 ± 2.169	28.579 ± 2.659	2.846	<0.05
AHP width (ms)	2.222 ± 0.205	2.388 ± 0.194	3.089 ± 0.516	2.245 ± 0.101	2.538 ± 0.205	2.913 ± 0.168	2.622 ± 0.220	2.459 ± 0.108	1.619	>0.05
Initial I/F area (AUC)	15971.054 ± 813.654	11678.774 ± 817.663*	29048.585 ± 1344.48****	17343.250 ± 839.945	7942.386 ± 553.382****	30907.319 ± 904.672****	43757.338 ± 1585.600****	25344.144 ± 1160.367****	120.777	<0.0001
Mean I/F area (AUC)	5597.638 ± 156.922	7777.248 ± 381.555**	11070.220 ± 473.830****	7404.316 ± 209.147**	5419.564 ± 234.215	9416.027 ± 207.946****	15231.681 ± 819.967****	9082.273 ± 209.873****	66.796	<0.0001
I/O area (AUC)	5019.101 ± 313.804	3306.011 ± 367.342****	1838.851 ± 121.273****	3846.083 ± 277.119	6255.751 ± 491.793*	1283.875 ± 105.642****	568.2224 ± 400.667	2175.556 ± 132.800****	38.007	<0.0001
STP area (AUC)	2.265 ± 0.263	0.241 ± 0.122****	6.709 ± 1.309*	3.176 ± 0.661	1.122 ± 0.218*	3.037 ± 0.911	0.052 ± 0.108****	2.424 ± 0.429	(W) 16.859	<0.0001

The *n* represents the number of neurons used for quantifications. \**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01, \*\*\**p* < 0.001, \*\*\*\**p* < 0.0001.

## Tau pathology reduces intrinsic excitability

In agreement with the reported hypoexcitable profile of CA1 principal neurons in Tg mice (Hatch et al., 2017), we found that CA1 neurons from Tg mice had a depolarized firing threshold potential (ANOVA,  $F_{7,64} = 2.813$ ,  $p < 0.01$ , Dunnett's post-hoc test;  $\text{threshold}_{\text{WT}} = -37.772 \pm 1.839$  mV;  $\text{threshold}_{\text{Tg}} = -28.649 \pm 2.736$  mV; Figure 4B<sub>2</sub>) that was related to a reduced initial firing frequency (initial I/F AUC = 7942.386 ± 1565.202; Figure 4A). We also found an increased sag potential in these neurons (Welch's ANOVA,  $F_{7,25,869} = 51.801$ ,  $p < 0.0001$ , Dunnett's T3 post-hoc test;  $\text{sag}_{\text{WT}} = 0.061 \pm 0.016$ ;  $\text{sag}_{\text{Tg}} = 0.171 \pm 0.011$ ; Supplementary Figure 2), which has also been previously described (Booth et al., 2016b).

## Aβ-induced hyperexcitability overcomes P-tau-induced hypoexcitability

Since Aβ and P-tau pathology caused divergent effects on CA1 pyramidal neuron excitability (Figure 4), we evaluated their effects when combined and found that Tg mice with global Aβ exhibited increased firing rates (initial I/F AUC = 43757.338 ± 4757.842; mean I/F AUC = 15231.681 ± 2459.868; Figures 4A,C), combined with increased input resistance (245.011 ± 29.531 MΩ; Figure 4B<sub>1</sub>). In the presence of P-tau and Aβ, AP amplitude and waveform were also altered (amplitude = 62.756 ± 7.727 mV; maximum rising slope = 158.115 ± 21.131 mV/ms; Figure 5; Table 2). Unexpectedly, Aβ reduced the sag potential in CA1 Tg neurons ( $\text{sag}_{\text{Tg A}\beta} = 0.033 \pm 0.006$ ; Supplementary Figure 2) to similar levels as those of control neurons ( $\text{sag}_{\text{WT}} = 0.061 \pm 0.016$ ; Supplementary Figure 2).

## Epo-D by itself modifies AP waveform

Before analyzing its likely protective effects against Aβ- or P-tau-induced pathology, we evaluated the effects of Epo-D on CA1 neurons from healthy WT mice and found that neurons recorded from WT mice injected with Epo-D exhibited a mixed change in firing frequency since it increased the area under the mean I/F curve (7777.248 ± 1079.223; Figure 4C<sub>2</sub>), although Epo-D also reduced the initial frequency of the evoked trains of APs (11678.774 ± 3205.784; Figure 4C<sub>1</sub>). Epo-D also reduced the maximum rising slope of the AP (146.299 ± 14.773 mV/ms; Figure 5; Table 2).

## Epo-D partially rescues CA1 neuron excitability in the presence of Aβ, P-tau, and their combination, but distorts AP waveform in these conditions

Given that Epo-D rescued the memory deficits induced by Aβ, and P-tau, and their combination, we evaluated if it could also rescue normal excitability in CA1 principal neurons under these pathological conditions (Figure 4). When Epo-D was administered to WT mice with global Aβ, it restored their input resistance to a value not unlike that of the control group (172.521 ± 13.684 MΩ;

Figure 4B<sub>1</sub>), while their firing frequency became normal when measured either at the beginning of the evoked train (initial I/F AUC = 18502.531 ± 2793.805; Figure 4C<sub>1</sub>) or during the whole train (mean I/F AUC = 7677.738 ± 691.251; Figure 4C<sub>2</sub>). In Tg neurons, Epo-D shifted the firing threshold potential towards a normal value ( $-35.324 \pm 1.193$  mV; Figure 4B<sub>2</sub>), increased their Rm (231.963 ± 12.555 MΩ; Figure 4B<sub>1</sub>), and robustly increased the firing rate (initial I/F AUC = 30907.319 ± 2558.783; mean I/F AUC = 9416.027 ± 588.163; Figure 4C). However, Epo-D altered the AP waveform of Tg neurons as compared to the AP waveform of WT neurons (Figure 5; Table 2). In WT neurons, Epo-D only reduced the AP rising slope (Figure 5B<sub>2</sub>), whereas in Tg neurons it reduced the AP rising slope (133.514 ± 10.014 mV/ms; Figure 5B<sub>2</sub>) and amplitude (82.138 ± 4.095 mV; Figure 5B<sub>1</sub>) whereas it increased the AP width (Tg Epo = 2.225 ± 0.067 ms; Figure 5B<sub>3</sub>). Epo-D partially rescued the firing rate of neurons recorded from Tg animals with global Aβ (initial I/F AUC = 25344.144 ± 3481.106; mean I/F AUC = 9082.273 ± 629.619; Figure 4C). Furthermore, in these animals, Epo-D normalized their threshold potential ( $-40.782 \pm 1.522$  mV; Figure 4B<sub>2</sub>), input resistance (164.955 ± 11.313 MΩ; Figure 4B<sub>1</sub>), and AP waveform (maximum rising slope = 175.646 ± 23.278 mV/ms; Figure 5; Table 2).

## Global synaptic input to CA1 neurons is increased by the combination of Aβ and Epo-D

We analyzed the global synaptic input to CA1 pyramidal neurons by measuring the amplitude and frequency of their sPSCs (see Methods; Supplementary Figure 3) and found no difference in such parameters in most of the experimental groups (ANOVA,  $F_{7,60} = 0.856$ ,  $p > 0.05$ ; Dunnett's post-hoc test; Supplementary Figure 3B<sub>1</sub>). Only the group of WT animals treated with both Aβ and Epo-D exhibited an increase in sPSC frequency (ANOVA,  $F_{7,60} = 3.892$ ,  $p < 0.01$ , Dunnett's post-hoc test;  $\text{frequency}_{\text{WT}} = 2.566 \pm 0.384$  Hz,  $\text{frequency}_{\text{WT A}\beta + \text{Epo}} = 4.873 \pm 0.401$  Hz; Supplementary Figure 3B<sub>2</sub>).

## Aβ and P-tau have divergent effects on the temporoammonic pathway

TA pathway ablation has been related to impaired consolidation and retrieval in the HW test (Vago et al., 2007). Since consolidation and retrieval were affected by Aβ and P-tau, we examined if these pathological conditions, and Epo-D treatment influenced the TA pathway. We found that Aβ substantially reduced the amplitude of EPSCs evoked by different stimulation intensities at the TA pathway (two-way ANOVA, interaction  $F_{1,18} = 7.5147.514$ ,  $p < 0.05$ , Sidak's post-hoc test; Figure 6A<sub>1</sub>), which is also observed in the area under the I/O curve (ANOVA,  $F_{7,60} = 38.007$ ,  $p < 0.0001$ , Dunnett's post-hoc test;  $\text{AUC}_{\text{WT}} = 5019.101 \pm 992.336$ ;  $\text{AUC}_{\text{WT A}\beta} = 1838.851 \pm 383.456$ ; Figure 6A<sub>3</sub>). Aβ also changed the STP, as reflected in the area under the STP curve (Welch's ANOVA,  $F_{7,23,754} = 18.376$ ,  $p < 0.0001$ , Dunnett's T3 post-hoc test;  $\text{AUC}_{\text{WT}} = 2.265 \pm 0.263$ ;  $\text{AUC}_{\text{WT A}\beta} = 6.709 \pm 1.309$ ; Figure 6B<sub>2</sub>).

The EPSCs recorded from Tg mice tended to have higher amplitudes when the TA pathway was stimulated at mild intensities (n. s., adjusted  $p=0.275$ ; 60–100  $\mu\text{A}$  intensities; Figure 6A<sub>1</sub>). This increase in the amplitude of TA-induced EPSCs in Tg mice reached significance when the area under the I/O curve was measured (AUC = 6255.751  $\pm$  1390.588; adjusted  $p=0.027$ ; Figure 6A<sub>3</sub>). TA synapses in Tg mice also produced less facilitation during the 25 Hz stimulation train (AUC = 1.122  $\pm$  0.218; Figure 6B<sub>2</sub>).

When A $\beta$  and P-tau pathology were combined, the amplitudes of EPSCs evoked by stimulating the TA pathway at different intensities were unchanged (Figure 6A<sub>1</sub>), and the area under the I/O curve remained unaltered (AUC = 5684.222  $\pm$  1202.389; adjusted  $p=0.440$ ). However, the EPSCs evoked during the 25 Hz train were similar among them (i.e., lack of facilitation; Figure 6B<sub>1</sub>). Thus, the area under the STP curve was smaller than that of the control group (AUC = 0.052  $\pm$  0.092; adjusted  $p < 0.0001$ ; Figure 6B<sub>2</sub>).

### Epo-D depresses the transmission of the TA pathway and changes its short-term plasticity

When evaluating whether Epo-D *per se* could influence synaptic transmission in the TA pathway, we found that in WT neurons, Epo-D tended to reduce the EPSC amplitudes at the higher tested intensities (two-way ANOVA, interaction  $F_{15,240}=1.542$ ,  $p=0.091$ , Dunnett's post-hoc test, adjusted  $p=0.059$ ; Figure 6A<sub>1</sub>), which was reflected in a reduction of the area under the I/O curve (AUC 3306.011  $\pm$  1039.191; Figure 6A<sub>3</sub>). In the presence of Epo-D the EPSCs evoked during the 25 Hz train were similar among them (i.e., lack of facilitation; Figure 6B<sub>1</sub>), which was reflected in a small area under the STP curve (AUC = 0.241  $\pm$  0.122; Figure 6B<sub>2</sub>).

### Epo-D rescued A $\beta$ -induced alterations in the TA pathway

As expected, and in spite of its own effects on the TA pathway, Epo-D rescued EPSC amplitudes (Figure 6A<sub>1</sub>) and, therefore, the area under the I/O curve (AUC = 3846.083  $\pm$  678.841; Figure 6A<sub>3</sub>) of TA transmission in CA1 neurons recorded from WT mice with global A $\beta$ . The EPSCs evoked during the 25 Hz train were similar to those of control slices (Figure 6B<sub>1</sub>). Thus, the area under the STP curve of WT mice administered with A $\beta$  and Epo-D also showed normal values (AUC = 3.176  $\pm$  0.661; Figure 6B<sub>2</sub>).

### Epo-D depresses the transmission of the TA pathway in animals with tau pathology

Epo-D dramatically reduced synaptic transmission in CA1 neurons recorded from Tg mice (I/O curve: two-way ANOVA, group  $F_{1,16}=9.139$ ,  $p < 0.01$ , Sidak's post-hoc test; AUC = 1283.875  $\pm$  298.773; Figure 6A). This depressive effect of Epo-D was also observed in Tg mice with global A $\beta$  (I/O curve: two-way ANOVA, group  $F_{1,17}=5.549$ ,  $p < 0.05$ , Sidak's post-hoc test; AUC = 2175.556  $\pm$  398.355; Figure 6A). The EPSCs evoked during the 25 Hz train showed normal facilitation

upon Epo-D treatment in Tg mice (AUC = 3.211  $\pm$  0.807) and Tg mice with global A $\beta$  (AUC = 2.424  $\pm$  0.429; Figure 6B<sub>2</sub>).

### A $\beta$ , P-tau, and EpoD do not affect hippocampal CA1 integrity

Since A $\beta$ , P-tau and EpoD have been associated with different aspects of neuronal damage (SantaCruz et al., 2005; Zussy et al., 2013; Eslamizade et al., 2015; Sharma et al., 2016; Raj et al., 2019), we evaluated CA1 integrity by cresyl violet staining (Figure 7A) and found that none of these conditions induced a change in the intensity of the Nissl staining (i.e., no increase in hyperchromic cells; Figure 7B) or in the number of damaged cells (Figure 7C).

## Discussion

By measuring hippocampal-dependent behavior and with patch-clamp recordings, we compared the pathological consequences of A $\beta$ , P-tau, and their combination, while also testing the protective and deleterious effects of Epo-D, a microtubule stabilizer, in these conditions. We found that both A $\beta$  and P-tau produced opposing, synergistic, and even antagonistic effects on neuronal excitability while inducing similar mild memory impairments. Epo-D prevented several alterations, but also it had negative effects on neuronal excitability and particular aspects of cognition that depended on preexisting physiological or pathological conditions. The experimental outputs of our study are certainly elaborate, but we think that it is crucial to compare the effects of A $\beta$  and P-tau (as well as their combination) in similar conditions, and to test the effects of Epo-D under these same conditions (as well as under physiological conditions), to fully model and understand the complexity of AD found in clinical settings (Ranasinghe et al., 2022).

To model amyloid and P-tau pathologies we used ICV injection of A $\beta$  and rTg4510 transgenic mice, respectively (Peña-Ortega, 2013, 2019; Torres-Flores and Peña-Ortega, 2022; Xolalpa-Cueva et al., 2022). AD-like cognitive alterations induced by ICV administration of A $\beta$  have been previously demonstrated by several groups (Haghani et al., 2012; Peña-Ortega, 2013, 2019; Eslamizade et al., 2015), including ours (Peña-Ortega, 2013, 2019; Martínez-García et al., 2021; Torres-Flores and Peña-Ortega, 2022). On the other hand, rTg4510 transgenic mice have been useful to analyze the pathophysiology of tauopathies (Ramsden et al., 2005; SantaCruz et al., 2005; Xolalpa-Cueva et al., 2022) and the interaction between A $\beta$  and P-tau (Busche et al., 2019). However, it is important to be cautious in ascribing the findings in rTg4510 mice only to the expression of transgenic tauP301L, since endogenous genome disruption caused by random insertion of this transgene contributes to the model's neuropathology (Gamache et al., 2020). Moreover, we have to be aware that this mutation was identified in patients with fronto-temporal dementia with Parkinsonism linked to chromosome 17 (Yue et al., 2011) and thus is not directly linked to AD. Despite the limitations of these experimental tools, we compared both models using the hippocampal-dependent spatial memory HW maze (Rogers and Kesner, 2003; Lee and Kesner, 2004; Jerman et al., 2006; Vago et al., 2007; Hunsaker et al., 2008; Churchwell et al., 2010; Vidal-Infer et al., 2012; Boutet

et al., 2018; Méndez-Salcido et al., 2022) and by analyzing hippocampal physiology (Balleza-Tapia et al., 2010; Peña et al., 2010; Alcantara-Gonzalez et al., 2019, 2021). Despite that we did not thoroughly evaluate the animals histopathologically, using Nissl staining we did not find any significant change in hippocampal CA1 integrity in the presence of A $\beta$ , P-tau or EpoD in our experimental conditions, which contrasts with previous reports of them inducing neuronal damage (SantaCruz et al., 2005; Zussy et al., 2013; Sharma et al., 2016; Raj et al., 2019; Clark et al., 2020), in some cases associated to cognitive deficits (SantaCruz et al., 2005; Eslamizade et al., 2015; Sharma et al., 2016; Raj et al., 2019) or to changes in CA1 excitability (Eslamizade et al., 2015).

The differential contributions of either the CA3-dentate gyrus circuit or the CA1 hippocampal subregion, as well as their inputs, to each state of the HW test, have been well established (Lee and Kesner, 2004; Jerman et al., 2006). Dentate gyrus lesions impair proper encoding of information required for learning this maze on day one, as animals exhibited low EI (Lee and Kesner, 2004), which is reproduced by lesioning CA3 (Lee and Kesner, 2004; Jerman et al., 2006). In contrast, CA1 lesions reduce performance at the beginning of day two when retrieval of the information that was coded the previous day is necessary, with animals exhibiting a low RI (Vago et al., 2007; Churchwell et al., 2010). Moreover, lesions of the TA pathway specifically impair consolidation and retrieval of spatial memory in the HW maze (Vago et al., 2007). In this study, we observed that all animals learned to solve the HW maze after 3 days of repetitive training (Supplementary Figure 1A<sub>3</sub>), with only Tg mice exhibiting significantly poor performance during the second day (Figure 3A). However, some pathological conditions tested produced mild alterations in memory retrieval (low RI<sub>D1-D2</sub>), except for the combination of A $\beta$  and P-tau pathology, which led to poor encoding on the first day of exposure to the HW maze. Thus, it is plausible that the cellular substrates of memory retrieval alterations observed in this study could mostly reside in changes in the intrinsic and synaptic properties of CA1 principal neurons and their input from the TA pathway (Vago et al., 2007). In contrast, the cellular basis for the encoding alterations in Tg mice with global A $\beta$ , also observed in this study, could reside in deficits in the CA3 and dentate gyrus circuitry (Lee and Kesner, 2004; Jerman et al., 2006). Furthermore, we cannot exclude that the cognitive alterations observed in this study also involve pathological changes in the medial prefrontal cortex, which we have shown to be highly sensitive to A $\beta$ -induced pathology (Torres-Flores and Peña-Ortega, 2022). Further studies will be required to demonstrate alterations in CA3 neurons and their synapses in the presence of P-tau and A $\beta$ .

Here we found that global A $\beta$  and P-tau pathology induce complex, differential, and even antagonistic effects on CA1 intrinsic and synaptic properties. Namely, A $\beta$  increases the intrinsic excitability of CA1 neurons and reduces their TA synaptic inputs. In contrast, P-tau pathology induces the hypoexcitability of CA1 neurons and increases their TA synaptic inputs. The effects of A $\beta$  in our study are similar to those found after A $\beta$  intraparenchymal administration, which induces excitatory effects through a reduction in somatic diameter and an increase in Rm (Eslamizade et al., 2015), leading to increased firing rates (Eslamizade et al., 2015; Torres-Flores and Peña-Ortega, 2022). Moreover, A $\beta$  disrupts microtubule integrity in axon

initial segments (Zempel et al., 2017) and alters protein sorting functions and neuronal polarization (Tsushima et al., 2015), which can account for the abnormal AP waveform described in the present work. The hypoexcitability found in rTg4510 CA1 neurons, which was associated with a more depolarized firing threshold potential, has also been described in animal models of tauopathies in the hippocampus (Hatch et al., 2017) and entorhinal cortex (Booth et al., 2016a).

The depression in the TA pathway caused by global A $\beta$  is similar to the reduction of synaptic transmission at CA3-CA1 synapses induced by either intracisternal (Alcantara-Gonzalez et al., 2019) or intraparenchymal injection of A $\beta$  (Stéphan et al., 2001). ICV A $\beta$  injection increases hippocampal extracellular glutamate (Raj et al., 2019), inducing a reduction in synaptic transmission (Cullen et al., 1996), possibly due to the promotion of long-term depression (LTD; Salgado-Puga et al., 2017; Torres-Flores and Peña-Ortega, 2022) and/or dendritic spine loss (Shrestha et al., 2006). In contrast, as previously shown for TA synapses (Booth et al., 2016b), P-tau pathology in rTg4510 mice enhanced synaptic transmission (Figure 6), which is similar to the increase in synaptic transmission after the injection of tau to squid giant synaptic boutons that increases intracellular calcium (Moreno et al., 2016). Indeed, the A $\beta$ - and P-tau-induced alterations in STP can be explained by changes in release probability from TA terminals (Jackman et al., 2016). They can also be explained by shifts in GABAergic modulation, specifically the one involved in feed-forward inhibition, which modifies STP in the TA synapse (Booth et al., 2016b). Alternatively, A $\beta$ -induced (Stéphan et al., 2001) and P-tau-induced pathology can activate glial cells (Koller and Chakrabarty, 2020), influencing synaptic plasticity (Schafer et al., 2013). Another possibility is that the mixed effects of tau pathology and global A $\beta$  on CA1 pyramidal neurons and TA synapses are produced by homeostatic mechanisms that counterbalance the shifts in the excitability levels of the hippocampal circuit (Turrigiano and Nelson, 2004). However, the alterations in synaptic transmission caused by P-tau pathology in our Tg mice should be synapse-specific, since synaptic transmission is decreased in CA3-CA1 synapses (Booth et al., 2016b), but is enhanced in TA synapses (present work). Compensatory increases in the intrinsic excitability of CA1 pyramidal neurons can be caused by LTD induction to the CA3-CA1 synapses (Gasselín et al., 2017), whereas the opposite effect is observed if long-term potentiation is induced in this synapse (Fan et al., 2005). These changes in intrinsic excitability depend on the modulation of the postsynaptic I<sub>h</sub> current, which in turn changes the sag ratio and membrane input resistance (Fan et al., 2005; Gasselín et al., 2017). TA synapses can undergo structural changes that appear to be compensatory against the presence of synapse loss at distal dendritic spines of CA1 pyramidal neurons in the 5xFAD AD model (Neuman et al., 2015). In line with this observation, the induction of LTD at TA synapses also increases the intrinsic excitability of CA1 pyramidal neurons through K<sup>+</sup> currents modulation and threshold potential changes (Kim et al., 2022). Further studies will determine if the homeostatic plasticity that links the TA pathway and CA1 pyramidal neuron excitability is impaired by A $\beta$  or P-tau pathology and if the I<sub>h</sub> current is an effector of this homeostatic modulation.

As discussed, in the present work we describe opposing effects of A $\beta$  and P-tau on intrinsic and synaptic CA1 properties. But the outcome of tau and A $\beta$  combined was more complex than their

individual effects. It appears that the excitatory effects of tau and A $\beta$  were stronger than their inhibitory ones. These observations are consistent with reports of divergent (Tackenberg and Brandt, 2009) yet synergistic consequences of tau and A $\beta$  on brain function (Busche et al., 2019), which appear to occur through their interactions in different neuronal compartments or organelles, like postsynaptic densities (Ittner and Götz, 2011) and mitochondria (Rhein et al., 2009). Regarding the opposite effects of tau and A $\beta$  on intrinsic excitability, it is possible that the A $\beta$ -induced potentiation of sodium (Ciccione et al., 2019), calcium (Haghani et al., 2012), and non-specific cationic channel function (Eslamizade et al., 2015) could override the hypoexcitability in Tg neurons, which in turn depends on the more distal position of the axon initial segment of pyramidal neurons (Hatch et al., 2017). Thus, the potentiation of these channels in the presence of A $\beta$  could hyperpolarize the firing threshold of Tg neurons (Figure 4), which is coherent with previous reports of the excitatory mechanisms of A $\beta$  oligomers in hippocampal slices (Tamagnini et al., 2015). We also found opposing effects of A $\beta$  and P-tau on the sag potential (Supplementary Figure 2). The reduction of the sag potential induced by A $\beta$  contradicts a previous report (Eslamizade et al., 2015) that used a different A $\beta$  injection method (intracortical), which could account for the observed differences. Other studies using different experimental conditions report similar findings to ours regarding the complex antagonistic actions of A $\beta$  on tau-induced effects (Yetman et al., 2016; Angulo et al., 2017; Busche et al., 2019; Ranasinghe et al., 2022; Barendrecht et al., 2023; Capilla-Lopez et al., 2023). Moreover, several of these reports found that the independent effects of A $\beta$  or tau are not necessarily observed when combined (Yetman et al., 2016; Barendrecht et al., 2023; Capilla-Lopez et al., 2023), which is a reflection of the complex cross-talk between these pathological markers.

Despite the divergent or even antagonistic effects of A $\beta$  and P-tau on CA1 excitability, both produce a similar behavioral outcome: a deficit in memory retrieval. In line with this observation, it has been shown that an overactive or hypoactive hippocampus reduces learning and memory (Zarrindast et al., 2002). A previous report described memory consolidation and retrieval impairments induced by intracortical injection of A $\beta$  oligomers which are related to functional alterations in the hippocampus (Eslamizade et al., 2015). We have recently shown that intracortical A $\beta$  oligomer administration induced an alteration in learning and memory that was related to hyperexcitable pyramidal neurons (Torres-Flores and Peña-Ortega, 2022). rTg4510 mice also exhibited less retention in the referenced version of the Morris water maze (Yue et al., 2011), which was associated with reduced power of hippocampal activity and reduced theta-gamma cross-frequency coupling (Booth et al., 2016b) in connection with poor spatial coding of place cells (Booth et al., 2016b).

In this work, most of the A $\beta$  and P-tau-induced alterations in memory and hippocampal physiology were rescued by Epo-D, strongly suggesting that increasing microtubule stability could prevent several pathophysiological phenomena that drive neuronal dysfunction and dementia in AD. Specifically, our results argue that Epo-D exerts a protective role in memory consolidation and retrieval (Brunden et al., 2010; Guo et al., 2020). The reported mechanisms of Epo-D protective roles in AD models are the restoration of total microtubule bundle density (Brunden et al., 2010; Zempel and Mandelkow, 2012), improvement of mitochondrial transport along the axon (Guo et al., 2020), and normalization of axon initial segment

position (Hatch et al., 2017). The cellular mechanisms behind the Epo-D-induced protective effects on membrane excitability could also include the poorly understood crosstalk between the expression and functions of ion channels and cytoskeleton dynamics (Steele and Fedida, 2014).

Importantly, our results also indicate that shifting microtubule dynamics with pharmacological tools induces complex negative and protective effects depending on the brain state. We found that Epo-D affected healthy WT mice, their cognitive flexibility, slightly altering the intrinsic excitability of their CA1 pyramidal neurons, and dramatically reducing the synaptic transmission and plasticity of their TA synapses. In contrast, WT mice subjected to global A $\beta$  exhibited a different response, as Epo-D reduced the intrinsic excitability of their CA1 pyramidal neurons (that was augmented by A $\beta$ ) and increased their synaptic function (that was reduced by A $\beta$ ), thus normalizing hippocampal function, which was related to the rescue of memory retrieval. In the presence of P-tau pathology, Epo-D robustly increased intrinsic excitability (depressed by P-tau pathology) but worsened the alterations in STP at TA synapses. Nevertheless, Epo-D rescued the memory deterioration induced by P-tau pathology.

It is well known that neuronal microtubules play a central role in neuronal physiology (Peña-Ortega et al., 2022), including ion channel expression (Steele and Fedida, 2014), membrane excitability (Steele and Fedida, 2014), and synaptic plasticity (Waites et al., 2021). Therefore, it is expected that shifts in microtubule stability states drive complex and mixed downstream outcomes (Uchida et al., 2014; Yousefzadeh et al., 2021). For instance, shifting microtubule dynamics has clear cognitive and behavioral consequences (Uchida et al., 2014; Yousefzadeh et al., 2021; Peña-Ortega et al., 2022). It has recently been established that stable microtubules are necessary for proper consolidation and retrieval of information (Uchida et al., 2014; Yousefzadeh et al., 2021), whereas dynamic microtubules are critical for information acquisition and encoding (Uchida et al., 2014; Atarod et al., 2015). Here we found that Epo-D-treated mice exhibit impaired behavioral flexibility when learning a new maze. To the best of our knowledge, this is the first report of divergent effects of an MSA on memory and flexibility (Peña-Ortega et al., 2022). Brain processes underlying memory extinction promote cognitive flexibility, as extinction mechanisms increase performance during the learning of new tasks (Alcalá et al., 2020). Thus, it is plausible that the consolidation-enhancing effects of microtubule stabilizers could interfere with the extinction mechanisms that promote the learning of novel experiences (Uchida et al., 2014; Yousefzadeh et al., 2021), which are necessary for memory flexibility.

Hence, it can be expected that administration of MSAs can produce both beneficial effects on memory retrieval and detrimental consequences on memory flexibility in AD models and perhaps in AD patients. In this scenario, modulating the microtubule pools in a specific manner would be needed to avoid the negative outcomes on behavior. However, current pharmacological strategies lack this modulation. Pharmacological destabilization of microtubules also results in cognitive (Fanara et al., 2010) and physiological alterations (Babu et al., 2020), which have mixed effects on neural activity (Schappacher et al., 2019). Therefore, we argue that an optimal memory system requires a homeostatic range of dynamic and stable microtubule pools that efficiently respond to ongoing cognitive demands, and that such a microtubule system should be differentially affected by A $\beta$ , P-tau and other pathological or pharmacologic

modulators that drive complex or mixed physiological and behavioral consequences.

It is important to acknowledge that our study lacks an extensive microtubular and histopathological characterization of the effects of A $\beta$ , P-tau, their combination, and Epo-D treatment, which needs to be performed. All these pathological conditions modulate synaptic density and dendritic complexity (Xolalpa-Cueva et al., 2022) and change microtubule stability (Qu et al., 2017). For instance, there is evidence that acute A $\beta$  exposure causes microtubule stabilization and that a MSA can induce tau hyperphosphorylation and spine loss in cultured hippocampal neurons (Qu et al., 2017). Thus, these possibilities should be tested, and we intend to fill in these gaps in the near future.

## Data availability statement

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

## Ethics statement

The animal study was approved by Local Research Ethics Committee (INB-UNAM). The study was conducted in accordance with the local legislation and institutional requirements.

## Author contributions

ÁAR-G: conceptualization, methodology, formal analysis, investigation, writing – original draft, and visualization. BO: investigation, data curation, and writing – review and editing. J-JL-H: investigation, data curation, and writing – review and editing. FP-O: conceptualization, supervision, resources, funding acquisition, and writing – review and editing. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

## References

- Adaya-Villanueva, A., Ordaz, B., Balleza-Tapia, H., Márquez-Ramos, A., and Peña-Ortega, F. (2010). Beta-like hippocampal network activity is differentially affected by amyloid beta peptides. *Peptides*. 31, 1761–1766. doi: 10.1016/j.peptides.2010.06.003
- Alcalá, J. A., Callejas-Aguilera, J. E., Nelson, J. B., and Rosas, J. M. (2020). Reversal training facilitates acquisition of new learning in a Morris water maze. *Learn. Behav.* 48, 208–220. doi: 10.3758/s13420-019-00392-7
- Alcantara-Gonzalez, D., Chartampila, E., Criscuolo, C., and Scharfman, H. E. (2021). Early changes in synaptic and intrinsic properties of dentate gyrus granule cells in a mouse model of Alzheimer's disease neuropathology and atypical effects of the cholinergic antagonist atropine. *Neurobiol. Dis.* 152:105274. doi: 10.1016/j.nbd.2021.105274
- Alcantara-Gonzalez, D., Villasana-Salazar, B., and Peña-Ortega, F. (2019). Single amyloid-beta injection exacerbates 4-aminopyridine-induced seizures and changes synaptic coupling in the hippocampus. *Hippocampus* 29, 1150–1164. doi: 10.1002/hipo.23129
- Alvarado-Martínez, R., Salgado-Puga, K., and Peña-Ortega, F. (2013). Amyloid beta inhibits olfactory bulb activity and the ability to smell. *PLoS One* 8:e75745. doi: 10.1371/journal.pone.0075745
- Angulo, S. L., Orman, R., Neymotin, S. A., Liu, L., Buitrago, L., Cepeda-Prado, E., et al. (2017). Tau and amyloid-related pathologies in the entorhinal cortex have divergent effects in the hippocampal circuit. *Neurobiol. Dis.* 108, 261–276. doi: 10.1016/j.nbd.2017.08.015
- Arrigoni, E., and Greene, R. W. (2004). Schaffer collateral and perforant path inputs activate different subtypes of NMDA receptors on the same CA1 pyramidal cell. *Br. J. Pharmacol.* 142, 317–322. doi: 10.1038/sj.bjp.0705744
- Atarod, D., Eskandari-Sedighi, G., Pazhoohi, F., Karimian, S. M., Khajeloo, M., and Riaz, G. H. (2015). Microtubule dynamicity is more important than stability in memory formation: an in vivo study. *J. Mol. Neurosci.* 56, 313–319. doi: 10.1007/s12031-015-0535-4
- Babu, L. P., Wang, H. Y., Eguchi, K., Guillaud, L., and Takahashi, T. (2020). Microtubule and actin differentially regulate synaptic vesicle cycling to maintain high-frequency neurotransmission. *J. Neurosci.* 40, 131–142. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1571-19.2019
- Balleza-Tapia, H., Huanosta-Gutiérrez, A., Márquez-Ramos, A., Arias, N., and Peña, F. (2010). Amyloid  $\beta$  oligomers decrease hippocampal spontaneous network activity in an age-dependent manner. *Curr. Alzheimer Res.* 7, 453–462. doi: 10.2174/156720510791383859
- Barendrecht, S., Schreurs, A., Geissler, S., Sabanov, V., Ilse, V., Rieckmann, V., et al. (2023). A novel human tau knock-in mouse model reveals interaction of Abeta and human tau under progressing cerebral amyloidosis in 5xFAD mice. *Alzheimers Res. Ther.* 15, 1–23. doi: 10.1186/s13195-022-01144-y
- Ben-Shaul, Y. (2017). OptiMouse: a comprehensive open source program for reliable detection and analysis of mouse body and nose positions. *BMC Biol.* 15, 1–22. doi: 10.1186/s12915-017-0377-3
- Booth, C. A., Ridler, T., Murray, T. K., Ward, M. A., de Groot, E., Goodfellow, M., et al. (2016a). Electrical and network neuronal properties are preferentially disrupted in

## Funding

ÁAR-G is a student in the Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM and was supported by a Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) fellowship (ID 859433). This work is part of his PhD studies. This work was supported by the Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico (grant number IG200521) and by CONAHCyT (grant number A1-S-7540), Mexico.

## Acknowledgments

We would like to thank Jessica González Norris and Anaid Antaramian for editorial comments.

## Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

## Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

## Supplementary material

The Supplementary material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnmol.2023.1198299/full#supplementary-material>

- dorsal, but not ventral, medial entorhinal cortex in a mouse model of tauopathy. *J. Neurosci.* 36, 312–324. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2845-14.2016
- Booth, C. A., Witton, J., Nowacki, J., Tsaneva-Atanasova, K., Jones, M. W., Randall, A. D., et al. (2016b). Altered intrinsic pyramidal neuron properties and pathway-specific synaptic dysfunction underlie aberrant hippocampal network function in a mouse model of tauopathy. *J. Neurosci.* 36, 350–363. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2151-15.2016
- Boutet, I., Collin, C. A., MacLeod, L. S., Messier, C., Holahan, M. R., Berry-Kravis, E., et al. (2018). Utility of the Hebb–Williams maze paradigm for translational research in fragile X syndrome: a direct comparison of mice and humans. *Front. Mol. Neurosci.* 11:99. doi: 10.3389/fnmol.2018.00099
- Brunden, K. R., Zhang, B., Carroll, J., Yao, Y., Potuzak, J. S., Hogan, A. M., et al. (2010). Epothilone D improves microtubule density, axonal integrity, and cognition in a transgenic mouse model of tauopathy. *J. Neurosci.* 30, 13861–13866. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3059-10.2010
- Busche, M. A., Chen, X., Henning, H. A., Reichwald, J., Staufienbiel, M., Sakmann, B., et al. (2012). Critical role of soluble amyloid- $\beta$  for early hippocampal hyperactivity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 8740–8745. doi: 10.1073/pnas.12061711109
- Busche, M. A., Wegmann, S., Dujardin, S., Commins, C., Schiantarelli, J., Klickstein, N., et al. (2019). Tau impairs neural circuits, dominating amyloid- $\beta$  effects, in Alzheimer models *in vivo*. *Nat. Neurosci.* 22, 57–64. doi: 10.1038/s41593-018-0289-8
- Camargo, L. C., Honold, D., Bauer, R., Shah, N. J., Langen, K. J., Willbold, D., et al. (2021). Sex-related motor deficits in the tau-p301L mouse model. *Biomedicine* 9:1160. doi: 10.3390/biomedicines9091160
- Capilla-Lopez, M. D., Deprada, A., Andrade-Talavera, Y., Martínez-Gallego, I., Coat-Cuaya, H., Rodríguez-Alvarez, J., et al. (2023). Differential neural circuit vulnerability to  $\beta$ -amyloid and tau pathologies in novel Alzheimer disease mice. *bioRxiv* 2023, 2023–2004. doi: 10.1101/2023.04.12.536603
- Cavaletti, G., and Marmiroli, P. (2010). Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity. *Nat. Rev. Neurol.* 6, 657–666. doi: 10.1038/nrneurol.2010.160
- Chiorazzi, A., Nicolini, G., Canta, A., Oggioni, N., Rigolio, R., Cossa, G., et al. (2009). Experimental epothilone B neurotoxicity: results of *in vitro* and *in vivo* studies. *Neurobiol. Dis.* 35, 270–277. doi: 10.1016/j.nbd.2009.05.006
- Churchwell, J. C., Morris, A. M., Musso, N. D., and Kesner, R. P. (2010). Prefrontal and hippocampal contributions to encoding and retrieval of spatial memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* 93, 415–421. doi: 10.1016/j.nlm.2009.12.008
- Ciccone, R., Franco, C., Piccialli, I., Boscia, F., Casamassa, A., de Rosa, V., et al. (2019). Amyloid  $\beta$ -induced upregulation of nav1.6 underlies neuronal hyperactivity in Tg2576 Alzheimer's disease mouse model. *Sci. Rep.* 9, 1–8. doi: 10.1038/s41598-019-50018-1
- Clark, J. A., Chuckowree, J. A., Dyer, M. S., Dickson, T. C., and Blizard, C. A. (2020). Epothilone D alters normal growth, viability and microtubule dependent intracellular functions of cortical neurons *in vitro*. *Sci. Rep.* 10, 1–4. doi: 10.1038/s41598-020-57718-z
- Colbert, C. M., Magee, J. C., Hoffman, D. A., and Johnston, D. (1997). Slow recovery from inactivation of Na<sup>+</sup> channels underlies the activity-dependent attenuation of dendritic action potentials in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 17, 6512–6521. doi: 10.1523/JNEUROSCI.17-17-06512.1997
- Cullen, W. K., Wu, J., Anwyl, R., and Rowan, M. J. (1996).  $\beta$ -Amyloid produces a delayed NMDA receptor-dependent reduction in synaptic transmission in rat hippocampus. *Neuroreport* 8, 87–92. doi: 10.1097/00001756-199612200-00018
- Desbène, C., Malaplate-Armand, C., Youssef, I., Garcia, P., Stenger, C., Sauvée, M., et al. (2012). Critical role of cPLA2 in A $\beta$  oligomer-induced neurodegeneration and memory deficit. *Neurobiol. Aging* 33, 1123–e17. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2011.11.008
- Eslamizade, M. J., Saffarzadeh, F., Mousavi, S. M., Meftahi, G. H., Hosseinmardi, N., Mehdizadeh, M., et al. (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. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.07.087
- Fan, Y., Fricker, D., Brager, D. H., Chen, X., Lu, H. C., Chitwood, R. A., et al. (2005). Activity-dependent decrease of excitability in rat hippocampal neurons through increases in I<sub>h</sub>. *Nat. Neurosci.* 8, 1542–1551. doi: 10.1038/nn1568
- Fanara, P., Husted, K. H., Selle, K., Wong, P. Y., Banerjee, J., Brandt, R., et al. (2010). Changes in microtubule turnover accompany synaptic plasticity and memory formation in response to contextual fear conditioning in mice. *Neuroscience* 168, 167–178. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.03.031
- Flores-Martínez, E., and Peña-Ortega, F. (2017). Amyloid  $\beta$  peptide-induced changes in prefrontal cortex activity and its response to hippocampal input. *Int. J. Pept.* 2017, 1–9. doi: 10.1155/2017/7386809
- Gamache, J. E., Kemper, L., Steuer, E., Leinonen-Wright, K., Choquette, J. M., Hlynialuk, C., et al. (2020). Developmental pathogenicity of 4-repeat human tau is lost with the P301L mutation in genetically matched tau-transgenic mice. *J. Neurosci.* 40, 220–236. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1256-19.2019
- Gasselin, C., Inglebert, Y., Ankrin, N., and Debanne, D. (2017). Plasticity of intrinsic excitability during LTD is mediated by bidirectional changes in h-channel activity. *Sci. Rep.* 7:14418. doi: 10.1038/s41598-017-14874-z
- Golovayshkina, N., Penazzi, L., Ballatore, C., Smith, A. B., Bakota, L., and Brandt, R. (2015). Region-specific dendritic simplification induced by A $\beta$ , mediated by tau via dysregulation of microtubule dynamics: a mechanistic distinct event from other neurodegenerative processes. *Mol. Neurodegener.* 10, 1–7. doi: 10.1186/s13024-015-0049-0
- Guo, B., Huang, Y., Gao, Q., and Zhou, Q. (2020). Stabilization of microtubules improves cognitive functions and axonal transport of mitochondria in Alzheimer's disease model mice. *Neurobiol. Aging* 96, 223–232. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2020.09.011
- Haghani, M., Shabani, M., Javan, M., Motamedi, F., and Janahmadi, M. (2012). CB1 cannabinoid receptor activation rescues amyloid  $\beta$ -induced alterations in behaviour and intrinsic electrophysiological properties of rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Cell. Physiol. Biochem.* 29, 391–406. doi: 10.1159/000338494
- Hatch, R. J., Wei, Y., Xia, D., and Götz, J. (2017). Hyperphosphorylated tau causes reduced hippocampal CA1 excitability by relocating the axon initial segment. *Acta Neuropathol.* 133, 717–730. doi: 10.1007/s00401-017-1674-1
- Hernández-Soto, R., Rojas-García, K. D., and Peña-Ortega, F. (2019). Sudden intrabulbar amyloid increase simultaneously disrupts olfactory bulb oscillations and odor detection. *Neural Plast.* 2019, 1–11. doi: 10.1155/2019/3424906
- Hunsaker, M. R., Tran, G. T., and Kesner, R. P. (2008). A double dissociation of subcortical hippocampal efferents for encoding and consolidation/retrieval of spatial information. *Hippocampus* 18, 699–709. doi: 10.1002/hipo.20429
- Ittner, L. M., and Götz, J. (2011). Amyloid- $\beta$  and tau—a toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 12, 67–72. doi: 10.1038/nrn2967
- Ittner, L. M., Ke, Y. D., Delerue, F., Bi, M., Gladbach, A., van Eersel, J., et al. (2010). Dendritic function of tau mediates amyloid- $\beta$  toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cells* 142, 387–397. doi: 10.1016/j.cell.2010.06.036
- Jackman, S. L., Turecek, J., Belinsky, J. E., and Regehr, W. G. (2016). The calcium sensor synaptotagmin 7 is required for synaptic facilitation. *Nature* 529, 88–91. doi: 10.1038/nature16507
- Jerman, T., Kesner, R. P., and Hunsaker, M. R. (2006). Disconnection analysis of CA3 and DG in mediating encoding but not retrieval in a spatial maze learning task. *Learn. Mem.* 13, 458–464. doi: 10.1101/lm.246906
- Kim, H. H., Lee, S. H., Ho, W. K., and Eom, K. (2022). Dopamine receptor supports the potentiation of intrinsic excitability and synaptic LTD in Temporoammonic-CA1 synapse. *Exp. Neurobiol.* 31, 361–375. doi: 10.5607/en22028
- Koller, E. J., and Chakrabarty, P. (2020). Tau-mediated dysregulation of neuroplasticity and glial plasticity. *Front. Mol. Neurosci.* 13:151. doi: 10.3389/fnmol.2020.00151
- Lee, I., and Kesner, R. P. (2004). Encoding versus retrieval of spatial memory: double dissociation between the dentate gyrus and the perforant path inputs into CA3 in the dorsal hippocampus. *Hippocampus* 14, 66–76. doi: 10.1002/hipo.10167
- Lo, A. C., Iscru, E., Blum, D., Teseur, I., Callaerts-Vegh, Z., Buee, L., et al. (2013). Amyloid and tau neuropathology differentially affect prefrontal synaptic plasticity and cognitive performance in mouse models of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 37, 109–125. doi: 10.3233/JAD-122296
- MacLeod, L. S., Kogan, C. S., Collin, C. A., Berry-Kravis, E., Messier, C., and Gandhi, R. (2010). A comparative study of the performance of individuals with fragile X syndrome and FMR1 knockout mice on Hebb–Williams mazes. *Genes Brain Behav.* 9, 53–64. doi: 10.1111/j.1601-183X.2009.00534.x
- Martínez-García, I., Hernández-Soto, R., Villasana-Salazar, B., Ordaz, B., and Peña-Ortega, F. (2021). Alterations in piriform and bulbar activity/excitability/coupling upon amyloid- $\beta$  administration *in vivo* related to olfactory dysfunction. *J. Alzheimer's Dis.* 82, S19–S35.
- Méndez-Salcido, F. A., Torres-Flores, M. I., Ordaz, B., and Peña-Ortega, F. (2022). Abnormal innate and learned behavior induced by neuron–microglia miscommunication is related to CA3 reconfiguration. *Glia* 70, 1630–1651. doi: 10.1002/glia.24185
- Mondragón-Rodríguez, S., Salgado-Burgos, H., and Peña-Ortega, F. (2020). Circuitry and synaptic dysfunction in Alzheimer's disease: a new tau hypothesis. *Neural Plast.* 2020, 1–11. doi: 10.1155/2020/2960343
- Moreno, H., Morfini, G., Buitrago, L., Ujlaki, G., Choi, S., Yu, E., et al. (2016). Tau pathology-mediated presynaptic dysfunction. *Neuroscience* 325, 30–38. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.03.044
- Neuman, K. M., Molina-Campos, E., Musial, T. F., Price, A. L., Oh, K. J., Wolke, M. L., et al. (2015). Evidence for Alzheimer's disease-linked synapse loss and compensation in mouse and human hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Brain Struct. Funct.* 220, 3143–3165. doi: 10.1007/s00429-014-0848-z
- Peña, F., Ordaz, B., Balleza-Tapia, H., Bernal-Pedraza, R., Márquez-Ramos, A., Carmona-Aparicio, L., et al. (2010). Beta-amyloid protein (25–35) disrupts hippocampal network activity: role of Fyn-kinase. *Hippocampus* 20, 78–96. doi: 10.1002/hipo.20592
- Peña, F., and Tapia, R. (1999). Relationships among seizures, extracellular amino acid changes, and neurodegeneration induced by 4-aminopyridine in rat hippocampus: a microdialysis and electroencephalographic study. *J. Neurochem.* 72, 2006–2014.
- Peña, F., and Tapia, R. (2000). Seizures and neurodegeneration induced by 4-aminopyridine in rat hippocampus *in vivo*: role of glutamate- and GABA-mediated neurotransmission and of ion channels. *Neuroscience* 101, 547–561. doi: 10.1016/S0306-4522(00)00400-0
- Peña-Ortega, F. (2013). Amyloid beta-protein and neural network dysfunction. *J. Neurodegener. Dis.* 2013, 1–8. doi: 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. *Curr. Alzheimer Res.* 16, 1108–1131. doi: 10.2174/1567205017666191213162233
- Peña-Ortega, F., Robles-Gómez, Á. A., and Xolalpa-Cueva, L. (2022). Microtubules as regulators of neural network shape and function: focus on excitability, plasticity and memory. *Cells* 11:923. doi: 10.3390/cells11060923
- Pereira, P. M., Cosquer, B., Schimchowitsch, S., and Cassel, J. C. (2005). Hebb-Williams performance and scopolamine challenge in rats with partial immunotoxic hippocampal cholinergic deafferentation. *Brain Res. Bull.* 64, 381–394. doi: 10.1016/j.brainresbull.2004.09.007
- Peris, L., Parato, J., Qu, X., Soleilhac, J. M., Lanté, F., Kumar, A., et al. (2022). Tubulin tyrosination regulates synaptic function and is disrupted in Alzheimer's disease. *Brain* 145, 2486–2506. doi: 10.1093/brain/awab436
- Pickett, E. K., Herrmann, A. G., McQueen, J., Abt, K., Dando, O., Tulloch, J., et al. (2019). Amyloid beta and tau cooperate to cause reversible behavioral and transcriptional deficits in a model of Alzheimer's disease. *Cell Rep.* 29, 3592–3604.e5. doi: 10.1016/j.celrep.2019.11.044
- Pritchett, K., and Mulder, G. B. (2004). Hebb-williams mazes. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 43, 44–45.
- Qu, X., Yuan, F. N., Corona, C., Pasini, S., Pero, M. E., Gundersen, G. G., et al. (2017). Stabilization of dynamic microtubules by mDial drives tau-dependent Aβ1–42 synaptotoxicity. *J. Cell Biol.* 216, 3161–3178. doi: 10.1083/jcb.201701045
- Raj, A., Dey, S., Maheshwari, D. U., Manjula, S. N., Madhunapantula, S. V., and Ali, M. (2019). Evaluating the olfactory dysfunction and cognitive deficits induced by intracerebroventricular injection of amyloid beta (1–42) in female C57BL/6 mice. *J. Appl. Pharm. Sci.* 9, 24–34. doi: 10.7324/JAPS.2019.91004
- Ramsden, M., Kotilinek, L., Forster, C., Paulson, J., McGowan, E., SantaCruz, K., et al. (2005). Age-dependent neurofibrillary tangle formation, neuron loss, and memory impairment in a mouse model of human tauopathy (P301L). *J. Neurosci.* 25, 10637–10647. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3279-05.2005
- Ranasinghe, K. G., Verma, P., Cai, C., Xie, X., Kudo, K., Gao, X., et al. (2022). Altered excitatory and inhibitory neuronal subpopulation parameters are distinctly associated with tau and amyloid in Alzheimer's disease. *elife* 11:e77850. doi: 10.7554/eLife.77850
- Ray, M. A., Trammell, R. A., Verhulst, S., Ran, S., and Toth, L. A. (2011). Development of a mouse model for assessing fatigue during chemotherapy. *Comp. Med.* 61, 119–130.
- Rhein, V., Song, X., Wiesner, A., Ittner, L. M., Baysang, G., Meier, F., et al. (2009). Amyloid-β and tau synergistically impair the oxidative phosphorylation system in triple transgenic Alzheimer's disease mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 20057–20062. doi: 10.1073/pnas.0905529106
- Rogers, J. L., and Kesner, R. P. (2003). Cholinergic modulation of the hippocampus during encoding and retrieval. *Neurobiol. Learn. Mem.* 80, 332–342. doi: 10.1016/S1074-7427(03)00063-7
- Salgado-Puga, K., and Pena-Ortega, F. (2015). Cellular and network mechanisms underlying memory impairment induced by amyloid β protein. *Protein Pept. Lett.* 22, 303–321. doi: 10.2174/0929866522666150202112154
- Salgado-Puga, K., Rodriguez-Colorado, J., Prado-Alcala, R. A., and Pena-Ortega, F. (2017). Subclinical doses of ATP-sensitive potassium channel modulators prevent alterations in memory and synaptic plasticity induced by amyloid-β. *J. Alzheimers Dis.* 57, 205–226. doi: 10.3233/JAD-160543
- Santacruz, K., Lewis, J., Spire, T., Paulson, J., Kotilinek, L., Ingelsson, M., et al. (2005). Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science* 309, 476–481. doi: 10.1126/science.1113694
- Schafer, D. P., Lehrman, E. K., and Stevens, B. (2013). The “quad-partite” synapse: microglia-synapse interactions in the developing and mature CNS. *Glia* 61, 24–36. doi: 10.1002/glia.22389
- Schappacher, K. A., Xie, W., Zhang, J. M., and Baccei, M. L. (2019). Neonatal vincristine administration modulates intrinsic neuronal excitability in the rat DRG and spinal dorsal horn during adolescence. *Pain* 160, 645–657. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001444
- Sharma, S., Verma, S., Kapoor, M., Saini, A., and Nehru, B. (2016). Alzheimer's disease like pathology induced six weeks after aggregated amyloid-beta injection in rats: increased oxidative stress and impaired long-term memory with anxiety-like behavior. *Neurol. Res.* 38, 838–850. doi: 10.1080/01616412.2016.1209337
- Shore, D. I., Stanford, L., MacInnes, W. J., Brown, R. E., and Klein, R. M. (2001). Of mice and men: virtual Hebb-Williams mazes permit comparison of spatial learning across species. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* 1, 83–89. doi: 10.3758/CABN.1.1.83
- Shrestha, B. R., Vitolo, O. V., Joshi, P., Lordkipanidze, T., Shelanski, M., and Dunaevsky, A. (2006). Amyloid β peptide adversely affects spine number and motility in hippocampal neurons. *Mol. Cell. Neurosci.* 33, 274–282. doi: 10.1016/j.mcn.2006.07.011
- Steele, D. F., and Fedida, D. (2014). Cytoskeletal roles in cardiac ion channel expression. *Biochim. Biophys. Acta* 1838, 665–673. doi: 10.1016/j.bbamem.2013.05.001
- Stéphan, A., Larocque, S., and Davis, S. (2001). Generation of aggregated β-amyloid in the rat hippocampus impairs synaptic transmission and plasticity and causes memory deficits. *J. Neurosci.* 21, 5703–5714. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-15-05703.2001
- Tackenberg, C., and Brandt, R. (2009). Divergent pathways mediate spine alterations and cell death induced by amyloid-β, wild-type tau, and R406W tau. *J. Neurosci.* 21, 5703–5714. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3590-09.2009
- Tamagnini, F., Novelia, J., Kerrigan, T. L., Brown, J. T., Tsaneva-Atanasova, K., and Randall, A. D. (2015). Altered intrinsic excitability of hippocampal CA1 pyramidal neurons in aged PDAPP mice. *Front. Cell. Neurosci.* 9:372. doi: 10.3389/fncel.2015.00372
- Torres-Flores, M., and Peña-Ortega, F. (2022). Amyloid beta alters prefrontal-dependent functions along with its excitability and synaptic plasticity in male rats. *Neuroscience* 498, 260–279. doi: 10.1016/j.neuroscience.2022.07.006
- Tsushima, H., Emanuele, M., Polenghi, A., Esposito, A., Vassalli, M., Barberis, A., et al. (2015). HDAC6 and RhoA are novel players in Aβ-driven disruption of neuronal polarity. *Nat. Commun.* 6, 1–4. doi: 10.1038/ncomms8781
- Turrigiano, G. G., and Nelson, S. B. (2004). Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 97–107. doi: 10.1038/nrn1327
- Uchida, S., Martel, G., Pavlowsky, A., Takizawa, S., Hevi, C., Watanabe, Y., et al. (2014). Learning-induced and stathmin-dependent changes in microtubule stability are critical for memory and disrupted in ageing. *Nat. Commun.* 5, 1–3. doi: 10.1038/ncomms5389
- Vago, D. R., Bevan, A., and Kesner, R. P. (2007). The role of the direct perforant path input to the CA1 subregion of the dorsal hippocampus in memory retention and retrieval. *Hippocampus* 17, 977–987. doi: 10.1002/hipo.20329
- Vidal-Infer, A., Aguilar, M. A., Miñarro, J., and Rodríguez-Arias, M. (2012). Effect of intermittent exposure to ethanol and MDMA during adolescence on learning and memory in adult mice. *Behav. Brain Funct.* 8, 1–2. doi: 10.1186/1744-9081-8-32
- Waites, C., Qu, X., and Bartolini, F. (2021). The synaptic life of microtubules. *Curr. Opin. Neurobiol.* 69, 113–123. doi: 10.1016/j.conb.2021.03.004
- Wefel, J. S., and Schagen, S. B. (2012). Chemotherapy-related cognitive dysfunction. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 12, 267–275. doi: 10.1007/s11910-012-0264-9
- Xolalpa-Cueva, L., García-Carlos, C. A., Villaseñor-Zepeda, R., Orta-Salazar, E., Diaz-Cintra, S., Peña-Ortega, F., et al. (2022). Hyperphosphorylated tau relates to improved cognitive performance and reduced hippocampal excitability in the young rTg4510 mouse model of tauopathy. *J. Alzheimer's Dis.* 87, 529–543. doi: 10.3233/JAD-215186
- Yetman, M. J., Fowler, S. W., and Jankowsky, J. L. (2016). Humanized tau mice with regionalized amyloid exhibit behavioral deficits but no pathological interaction. *PLoS One* 11:e0153724. doi: 10.1371/journal.pone.0153724
- Yousefzadeh, S. A., Youngkin, A. E., Lusk, N. A., Wen, S., and Meck, W. H. (2021). Bidirectional role of microtubule dynamics in the acquisition and maintenance of temporal information in dorsolateral striatum. *Neurobiol. Learn. Mem.* 183:107468. doi: 10.1016/j.nlm.2021.107468
- Yue, M., Hanna, A., Wilson, J., Roder, H., and Janus, C. (2011). Sex difference in pathology and memory decline in rTg4510 mouse model of tauopathy. *Neurobiol. Aging* 32, 590–603. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2009.04.006
- Zarrindast, M. R., Bakhsha, A., Rostami, P., and Shafaghi, B. (2002). Effects of intrahippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. *J. Psychopharmacol.* 16, 313–319. doi: 10.1177/026988110201600405
- Zempel, H., Dennissen, F. J., Kumar, Y., Luedtke, J., Biernat, J., Mandelkow, E. M., et al. (2017). Axodendritic sorting and pathological misrouting of tau are isoform-specific and determined by axon initial segment architecture. *J. Biol. Chem.* 292, 12192–12207. doi: 10.1074/jbc.M117.784702
- Zempel, H., and Mandelkow, E. M. (2012). Linking amyloid-β and tau: amyloid-β induced synaptic dysfunction via local wreckage of the neuronal cytoskeleton. *J. Neurodegener. Dis.* 10, 64–72. doi: 10.1159/000332816
- Zempel, H., Thies, E., Mandelkow, E., and Mandelkow, E. M. (2010). Aβ oligomers cause localized Ca<sup>2+</sup> elevation, misrouting of endogenous tau into dendrites, tau phosphorylation, and destruction of microtubules and spines. *J. Neurosci.* 30, 11938–11950. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2357-10.2010
- Zussy, C., Brureau, A., Delair, B., Marchal, S., Keller, E., Ixart, G., et al. (2011). Time-course and regional analyses of the physiopathological changes induced after cerebral injection of an amyloid β fragment in rats. *Am. J. Pathol.* 179, 315–334. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.03.021
- Zussy, C., Brureau, A., Keller, E., Marchal, S., Blayo, C., Delair, B., et al. (2013). Alzheimer's disease related markers, cellular toxicity and behavioral deficits induced six weeks after oligomeric amyloid-β peptide injection in rats. *PLoS One* 8:e53117. doi: 10.1371/journal.pone.0053117