



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**Efecto de la administración del péptido A β 25-35 en ventrículos laterales
sobre los patrones de glicosilación de corteza visual, corteza frontal e
hipocampo**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

Segura Pérez Emmanuel

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. en C. Ramírez Hernández Eleazar

Ciudad Universitaria, CD. MX. 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.

A mis padres:

Quienes incentivaron en mí el amor por el conocimiento.

Me impulsaron a seguir mis sueños e ideales sin importar las dificultades o tropiezos de la vida.

Y especialmente por confiar en mí cuando nadie más lo hacía.

Mi madre sin cuyo apoyo jamás hubiese podido seguir mis sueños y es mi soporte emocional en todo momento.

Mi padre que desde niño sembró en mí la curiosidad y la sed por el conocimiento.

Agradecimientos a todos aquellos que me han acompañado en la realización del presente trabajo:

A mi director de tesis el Dr. Eleazar Ramírez Hernández, quién desde el primer momento me brindó su apoyo incondicional, incentivo en mí el amor por la neurología. Me brindó sus conocimientos y me permitió participar en diversos proyectos de investigación tanto pasados como venideros. Sin su confianza y guía este trabajo no podría haberse realizado.

Mi más sincero respeto y agradecimientos

A los integrantes del laboratorio 6 del departamento de Bioquímica de la facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México quienes me aceptaron, instruyeron y me hicieron sentir parte de sus vidas.

El Dr. Arturo Edgar Zenteno Galindo por guiarme e instruirme durante mi formación profesional. Permitirme participar en las actividades de su laboratorio y disponer de los recursos del mismo.

El Dr. José Luis Sánchez Salgado quien siempre me brindo su apoyo, consejos y ánimo para cada día seguir adelante.

Al Dr. Pereira Morales Mohamed Alí que día a día me brindó sus conocimientos consejos, resolvió mis dudas y me mantuvo con una actitud positiva.

La Dra. Crystal Alejandra Guluarte Vélez que me brindó su amistad, conocimientos y guía en el mundo de la glicobiología.

Al Médico Gustavo Ortiz Chávez que se ha convertido en un grán amigo y compañero en un lapso tan corto.

Al Dr. Francisco Raúl Chávez Sánchez † quien constantemente alegraba mis días con su amena plática conocimientos y un dominio de la lengua en sus múltiples expresiones.

A mi hermano que jamás me ha abandonado y me brinda su apoyo incondicional.

A la futura bióloga Rosa María Mateos Escobar por ser mi amiga y cómplice a lo largo de toda la carrera.

A la futura Psicóloga María Lucero Valencia Gil quien siempre me ha brindado su apoyo y amistad.

A la Lic. Ana Carolina Robledo Rodríguez que me impulsó a seguir mi sueño de estudiar esta carrera. Jamás podré agradecer todo lo que has hecho por mi.



El presente trabajo fue apoyado por el proyecto

PAPIIT (IN213818) otorgado al

Dr. Arturo Edgar Zenteno Galindo

Índice

Índice de Figuras.....	8
Abreviaturas.....	9
Resumen.....	11
Introducción.....	12
1 La enfermedad de Alzheimer.....	12
1.1 Descubrimiento y descripción de la EA.....	12
1.1.1 Hipótesis sobre el origen de la Enfermedad de Alzheimer.....	13
1.1.2 Diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer.....	15
1.2 Funciones del péptido A β y toxicidad.....	16
1.2.1 Amiloide y su plegamiento en láminas β	16
1.2.2 Mecanismos de neurotoxicidad asociados al A β	17
1.3 Hipocampo.....	20
1.3.1 Estructura y formación hipocampal.....	20
1.3.2 Participación de la formación hipocampal en el proceso de aprendizaje y memoria.....	21
1.4 Glicosilación.....	22
1.4.1 Glicoma.....	23
1.4.2 O - Glicosilación.....	24
1.4.3 N - Glicosilación.....	25
1.5 El glicoma cerebral.....	25
1.5.1 Ácido siálico.....	26
1.5.2 Fucosilación.....	26
1.5.3 Manosa.....	27
1.5.4 GlcNAc.....	27
1.5.5 Galactosa.....	28
1.6 Modificaciones de glicosilación en la EA.....	28
1.6.1 Estudios de glicosilación asociados a mutaciones de la EA.....	28
1.6.2 Cambios asociados al tipo de glicosilación en la EA.....	29
1.7 Lectinas.....	29
2 Hipótesis.....	30
3 Objetivos.....	30
3.1 Objetivo general.....	30
3.2 Objetivos Específicos.....	30
4 Diagrama de trabajo.....	31
5 Material y método.....	31
5.1 Animales.....	31
5.2 Preparación del péptido.....	32

5.3 Administración del péptido.....	32
5.4 Registro de pruebas conductuales.....	32
5.4.1 Prueba de campo abierto.....	32
5.5 Eutanasia y procesamiento de las muestras.....	36
5.6 Cortes histológicos.....	36
5.7 Manejo de muestras.....	37
5.8 Cuantificación de proteínas.....	37
5.9 Cuantificación de nitritos por método de nitrato - reductasa (GRIESS).....	37
5.10 Cuantificación colorimétrica de MDA y 4-HDA.....	38
5.11 Histoquímica de lectinas.....	38
5.12 Análisis estadístico.....	40
6 Resultados.....	41
6.1 La microinyección del péptido A β 25-35 en ventrículos laterales modifica el comportamiento durante la prueba de campo abierto sin generar daño motor.....	41
6.2 La administración del péptido A β 25-35 en ventrículos laterales no afecta la movilidad de las ratas.....	41
6.3 La administración del péptido A β 25-35 en ventrículos laterales genera daño sobre la memoria a largo plazo en la prueba de RON.....	44
6.4 El péptido A β 25-35 incrementa el estrés oxidativo en el Hip, la CtxV y la CtxF.....	45
6.5 El péptido A β 25-35 incrementa la lipoperoxidación en el Hip, la CtxV y la CtxF.....	47
6.6 La administración del péptido A β 25-35 en ventrículos laterales modifica los patrones de glicosilación en Hip, CtxV y CtxF.....	48
6.7 Los carbohidratos se modifican de forma distinta en función de la región y el carbohidrato analizado debido a la administración del péptido A β 25-35 y el procedimiento de administración.....	49
6.7.1 La detección de GalNAc se regula a la baja por el procedimiento de administración.....	49
6.7.2 Los patrones de galactosa se modifican de forma distinta por la administración del péptido A β 25-35 en función a la lectina de reconocimiento.....	52
6.7.3 El procedimiento de administración del péptido A β 25-35 incrementa la detección de manosas en las regiones hipocámpales y CtxF.....	55
6.7.4 La administración del péptido A β 25-35 incrementa la sialilación en CA3, GD y CtxF.....	57
6.7.5 La administración del péptido A β 25-35 reduce la detección de LTL en regiones hipocámpales y aumenta a nivel cortical.....	58
6.7.6 La administración del péptido A β 25-35 incrementa la detección de GlcNAc terminales en GD y CtxF.....	60
6.7.7 La modificación en los patrones de glicosilación se relaciona espacialmente con regiones estructurales y es independiente para cada carbohidrato y región.....	61
7 Discusión.....	63
7.1 La administración del péptido A β 25-35 genera conductas asociadas a la demencia y pérdida de memoria en las pruebas de campo abierto y RON.....	64
7.2 La administración del péptido A β 25-35 genera reducción de fucosas en enlaces	

α 1,3 en GD y aumento de fucosilación en regiones corticales.....	65
7.2.1 Reducción de α - L fucosas en regiones hipocampales fuertemente asociadas a la memoria.....	65
7.3 El incremento de Ac. siálico 2,3 en regiones de CA3, GD y CtxF modifica el reconocimiento de GalNAc y galactosas.....	66
7.4 La lesión modifica el patrón glicosídico de manosas.....	68
8 Conclusión.....	69
9 Perspectivas.....	69
10 Referencias.....	70

Índice de Figuras

Figura 1.- Marcadores histopatológicos de la enfermedad de Alzheimer.	13
Figura 2.- Efecto neurotóxico del A β e interacciones moleculares.	14
Figura 3.- Diagrama de mecanismos neurotóxicos.	18
Figura 4.- Papel de las EROs y ERNs en el desarrollo de la patología de la EA.	19
Figura 5.- Diagrama de flujo de método experimental en días.	31
Figura 6.- Planteamiento de coordenadas por regiones delimitadas.	33
Figura 7.- Imagen ilustrativa de la prueba de reconocimiento de objeto novedoso.	34
Figura 8.- Tabla descriptiva de lectinas empleadas por procedencia, reconocimiento de carbohidrato específico y fabricante.	39
Figura 9.- Esquemas ilustrativos de comportamiento locomotor.	41
Figura 10.- Mapas de calor generados a partir del promedio de coordenadas para cada condición experimental.	42
Figura 11.- La administración del péptido A β_{25-35} en ventrículos laterales modifica el desplazamiento en la prueba de campo abierto.	43
Figura 12.- La administración del péptido A β_{25-35} en ventrículos laterales altera la memoria y reconocimiento de objetos en la prueba de RON.	45
Figura 13.- El péptido A β_{25-35} incrementa la detección de NO ₂ por μ g de proteína en las regiones analizadas.	46
Figura 14.- El péptido A β_{25-35} incrementa la lipoperoxidación en las regiones analizadas.	47
Figura 15.- La administración del péptido A β_{25-35} modifica los patrones de glicosilación por estructura cerebral.	48
Figura 16.- El proceso de administración modifica la detección de β 1,3-GalNAc por ALL.	50
Figura 17.- El proceso de administración modifica la detección de GalNAc α / β por VVA.	52
Figura 18.- La administración del péptido A β_{25-35} reduce la detección de Galactosil β -1,3 N - Acetil galactosamina no sialilados en la región CA1 y aumenta en la región de la CtxF por PNA.	53
Figura 19.- El proceso de administración modifica la detección de galactosil (β - 1,3) N-Acetil galactosamina O - Glicosilados por JAA.	54
Figura 20.- El proceso de administración modifica la detección de α manosas por Con-A.	56
Figura 21.- El proceso de administración modifica la detección de Ac. siálico en la posición 3 de galactosa y galactosil (β -1,4) N - Acetil lactosamina por MAA.	58
Figura 22.- El péptido A β_{25-35} reduce la detección de L - fucosas por LTL en regiones hipocampales e incrementa en regiones corticales.	59
Figura 23.- El péptido A β_{25-35} incrementa la detección de α / β -N-Acetil Glucosamina por GS-II en GD y CtxF.	61
Figura 24.- Relación de las modificaciones de glicosilación por regiones.	62

Abreviaturas

AChR	Receptores de acetilcolina nicotínicos de tipo neuronal
ALL	Amaranthus leucocarpus
A β ₂₅₋₃₅	Amiloide A β ₂₅₋₃₅
BSA	Albúmina sérica bovina
CA	Cuerno de Ammón o Cornu Ammonis
CD33	SIGLEC-3 humano
CE	Corteza entorrinal
CICUAL	Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales del Laboratorio
Con A	Canavalia ensiformis
CtxF	Corteza frontal
CtxV	Corteza visual
EA	Enfermedad de Alzheimer
ERNS	Especies reactivas de nitrógeno
ERO	Especies reactivas de oxígeno
ESM	Error estándar de la media
GD	Giro dentado
GS-II	Griffonia simplicifolia II
Hip	Hipocampo
Ig	Inmunoglobulinas
IL - 1	Interleucina 1
INF γ	Interferón gamma
iNOS	Óxido nítrico sintasa inducible
Int	Intacto
IP	Índice de preferencia
JAA	Artocarpus integrifolia
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LTL	Lotus tetragonolobus
MAA-II	Maackia amurensis II
Man	Manosa
MDA	Malondialdehido
MNF	Maraña neurofibrilar

NOS	Óxido nítrico sintasa
PBS	Solución tamponada de fosfatos
PE	Ficoeritrina Estreptavidina
PN	Placas neuríticas
PNA	Arachis hypogaea
PPA	Proteína precursora amiloidea
PPAR	Proliferadores peroxisomales
PRR	Receptor de reconocimiento de patrones
RAGE	Receptor de productos finales de glicación avanzada
SNC	Sistema nervioso central
SR	Receptor de residuos celulares
SSI	Solución salina isotónica estéril
TF	Transferrina
TMP	1,1,3,3-Tetrametoxipropano
TNF - α	Factor de necrosis tumoral α
UAB	Unidad Académica Bioterio
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
Veh	Vehículo
VVA/VVL	Vicia villosa

Resumen

El péptido amiloide β 25-35 ($A\beta_{25-35}$) posee actividad neurotóxica que genera neuroinflamación y muerte neuronal. El péptido $A\beta_{25-35}$ se ha utilizado para el estudio del deterioro cognitivo. Evidencias recientes han mostrado que la administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en la región CA1 del hipocampo modifica la O-glicosilación de tipo mucina. Sin embargo, las modificaciones específicas por carbohidrato y región cerebral son aún inciertas. El objetivo de este estudio fue evaluar los cambios en los patrones de la glicosilación en CtxV, CtxF e Hip de rata Wistar en respuesta a la administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en ventrículos laterales y su relación con la pérdida de memoria. Mediante cirugía estereotáxica se administraron 2 μ L de péptido $A\beta_{25-35}$ [1 μ g / μ L] en ventrículos laterales. Se realizó la prueba de campo abierto para evaluar de forma conductual la actividad motora de las ratas, en esta se observaron cambios etológicos en las ratas administradas con el péptido $A\beta_{25-35}$. La evaluación de la capacidad de memoria se realizó mediante prueba de reconocimiento de objeto novedoso en la que las ratas administradas con el péptido perdieron capacidad para discernir entre objetos a los cuales fueron expuestas con anterioridad. Para asociar el deterioro cognitivo y los cambios en los patrones glicosídicos al estrés oxidativo reportado previamente en la literatura. Se cuantificó malondialdehído como indicador de lipoperoxidación y nitritos como marcadores de la óxido nítrico sintasa inducible encontrando incrementos significativos en ambos marcadores para el grupo $A\beta_{25-35}$. Se emplearon cortes coronales de cerebro en los que se analizaron los patrones glicosídicos mediante afinidad de unión de lectinas biotiniladas. Se utilizaron las lectinas LTL, ConA, ALL, VVA, PNA, JAA, MAA-II y GS-II mediante detección por ficoeritrina estreptavidina. A partir de la afinidad de unión de cada lectina utilizada se determinó la existencia de reducción de L - fucosas unidas mediante enlaces α 1,3 en la región del giro dentado del hipocampo y un aumento de L - fucosilación en regiones corticales presentando relación inversa con la detección de α manosas. Así mismo, el incremento de Ac. siálico 2,3 en las regiones hipocampales CA3, giro dentado y CtxF. Por lo que nosotros proponemos que las alteraciones producidas por el péptido $A\beta_{25-35}$ generan modificaciones postraduccionales del glicoma cerebral teniendo efecto sobre los mecanismos de formación de memorias y alterando el comportamiento.

Introducción

1 La enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la principal causa de demencia a nivel mundial representando del 60 al 70 % de los casos reportados. Es el tipo de demencia más frecuente en la vejez según el Instituto de Geriátrica de los Estados Unidos Mexicanos (Hernández Ortega et al., 2012). Por su parte, la World Health Organization (2022) determinó que la EA representa la séptima causa de muerte a nivel global (Directrices de la OMS para la reducción de los riesgos de deterioro cognitivo y demencia - NCBI Bookshelf, 2020; Gauthier S. et al., 2022; Serge Gauthier et al., 2022).

La EA se asocia principalmente con personas mayores a 60 años ya que a partir de esta edad es más común la aparición de síntomas (Gauthier S. et al., 2022). Debido a esto los programas de salud referentes a la EA se enfocan en esta demografía. Durante el año 2010 el 9.9 % de la población total de la ciudad de México se conformó por personas mayores de 60 años (Miguel Gutiérrez-Robledo et al., 2015). El mismo año cerca de 35 millones de personas en el mundo padecieron EA de acuerdo con el World Alzheimer Report (Serge Gauthier et al., 2022). Se estima que la población de adultos mayores a 65 años se incrementará de forma considerable para el año 2050. Se espera que el incremento de la población del 2010 (66 millones de personas) alcance los 115 millones de personas en el año 2050 (World Health Organization, 2017). Por lo que, el incremento esperado en la población afectada por la EA hace del estudio de la enfermedad y comprensión de la misma una prioridad apremiante.

1.1 Descubrimiento y descripción de la EA

La EA fue descrita en el año 1906 por el psiquiatra Aloysius Aloïs Alzheimer con base en las observaciones e investigación clínica del comportamiento, deterioro mental e histología post mortem del cerebro de la paciente Auguste Deter (Hippius, H., & Neundörfer, G. 2003). Mediante cortes histológicos de cerebro teñidos utilizando impregnación de plata, Aloysius describió la presencia de dos estructuras ajenas a lo esperado en tejido cerebral sano. Estas estructuras fueron denominadas posteriormente como placas neuríticas (PN) y marañas neurofibrilares (MNFs) respectivamente (Cano Gutiérrez, 2014). Las placas neuríticas se asocian a la acumulación extracelular del péptido amiloide β ($A\beta$) que se une generando fibras, estas se entrelazan en una estructura compacta en la que se engloban otros elementos proteicos como se muestra en la Figura 1. Por su parte, las MNFs se conforman principalmente por la fosforilación de la proteína Tau estructural de los axones neuronales. Al fosforilarse esta se libera en el medio intracelular en forma de fibras que se entrelazan y acumulan (Luna-Viramontes et al., 2020; Selkoe, 2001). Si bien, es altamente aceptado que ambos marcadores histopatológicos se presentan de manera generalizada en los pacientes con EA el mecanismo patognomónico que da origen a la misma es aún desconocido.

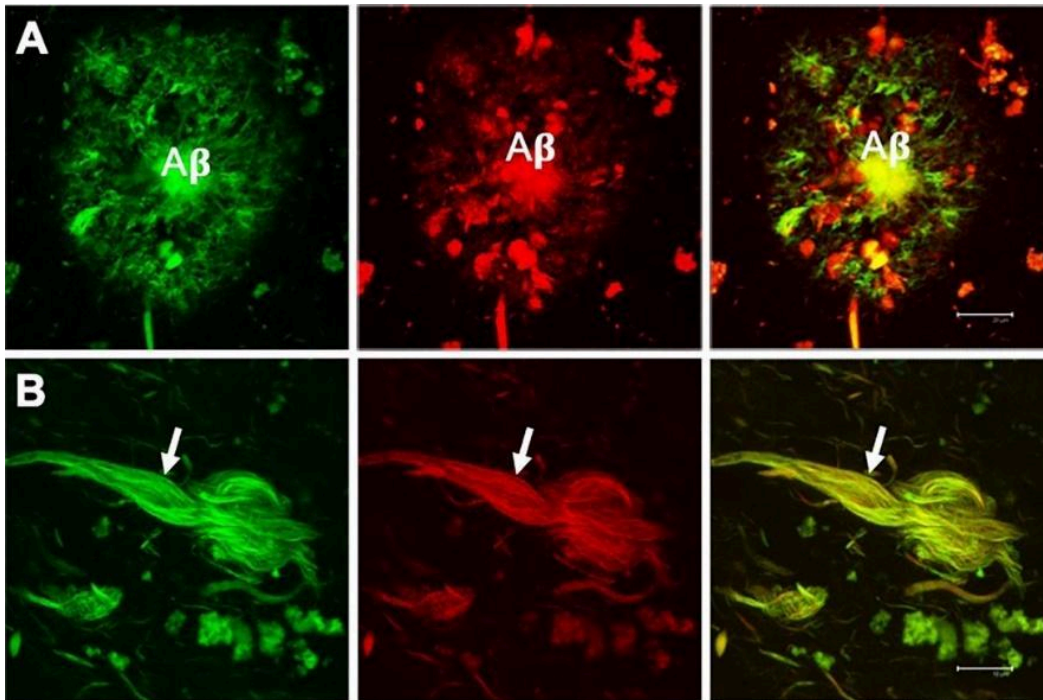


Figura 1.- Marcadores histopatológicos de la enfermedad de Alzheimer. A) Placa Neurítica (PN) y B) Maraña neurofibrilar (MNF). Se empleó Tioflavina S Para detectar Amiloide β ($A\beta$) y rojo de Tiazina para detectar proteína Tau. Mediante detección confocal en color amarillo se observa la colocalización de ambas proteínas en cada estructura. Barra de escala "A" 20 μm , "B" 10 μm . Tomado de Luna-Viramontes et al., (2020).

1.1.1 Hipótesis sobre el origen de la Enfermedad de Alzheimer

A pesar de la relevancia de la EA como demencia asociada a la edad, las causas de esta enfermedad son aún desconocidas. Se ha determinado la existencia principal de dos tipos de Alzheimer; el familiar de origen genético que se presenta debido a la predisposición de individuos emparentados cuyo genoma tiene mutaciones estadísticamente correlacionadas con la incidencia de la enfermedad y el de origen esporádico o senil del que se desconoce la causa o detonante de la enfermedad (Sehar, U. et al., 2022). Respecto a la enfermedad de origen familiar o congénita, existen diversas mutaciones asociadas a su origen, entre la que destacan mutaciones de la proteína precursora amiloidea (PPA), de la proteína TAU y de las secretasas especialmente la " β " y " γ " (Bryan, K. et al., 2009). Existen dos hipótesis principales que intentan explicar el evento primario que desencadena la enfermedad:

La primera hipótesis denominada amiloidogénica (Selkoe, 1991) asocia la presencia del $A\beta$ derivado de la escisión de la PPA como evento inicial de la EA. Esta hipótesis propone que al escindirse la PPA por acción de las " β " y " γ " secretasas se generan fragmentos monoméricos de péptido $A\beta$. La subsecuentemente acumulación de los monómeros de $A\beta$ en oligómeros genera proto fibras que son acumulaciones ordenadas de monómeros que pueden incluir otras proteínas en su entramado. La elongación de estas fibras que, al interactuar entre sí y con elementos del

medio, generan las PNs (Haass & Selkoe, 2007; Silvia et al., 2002). Considerando la teoría amiloidogénica, monómeros y agregados del péptido A β al interactuar con receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) como los receptores tipo Toll (Toll Like Receptores por sus siglas en inglés); TLR2, TLR4 o mediante receptores tipo scavenger en microglía y astrocitos generan respuesta a través de MyD88 que mediante secuencias de activación proteica culmina en la activación de IKK β que desencadena la transcripción de citocinas proinflamatorias (IL-1, IL6, IL18 y TNF- α).

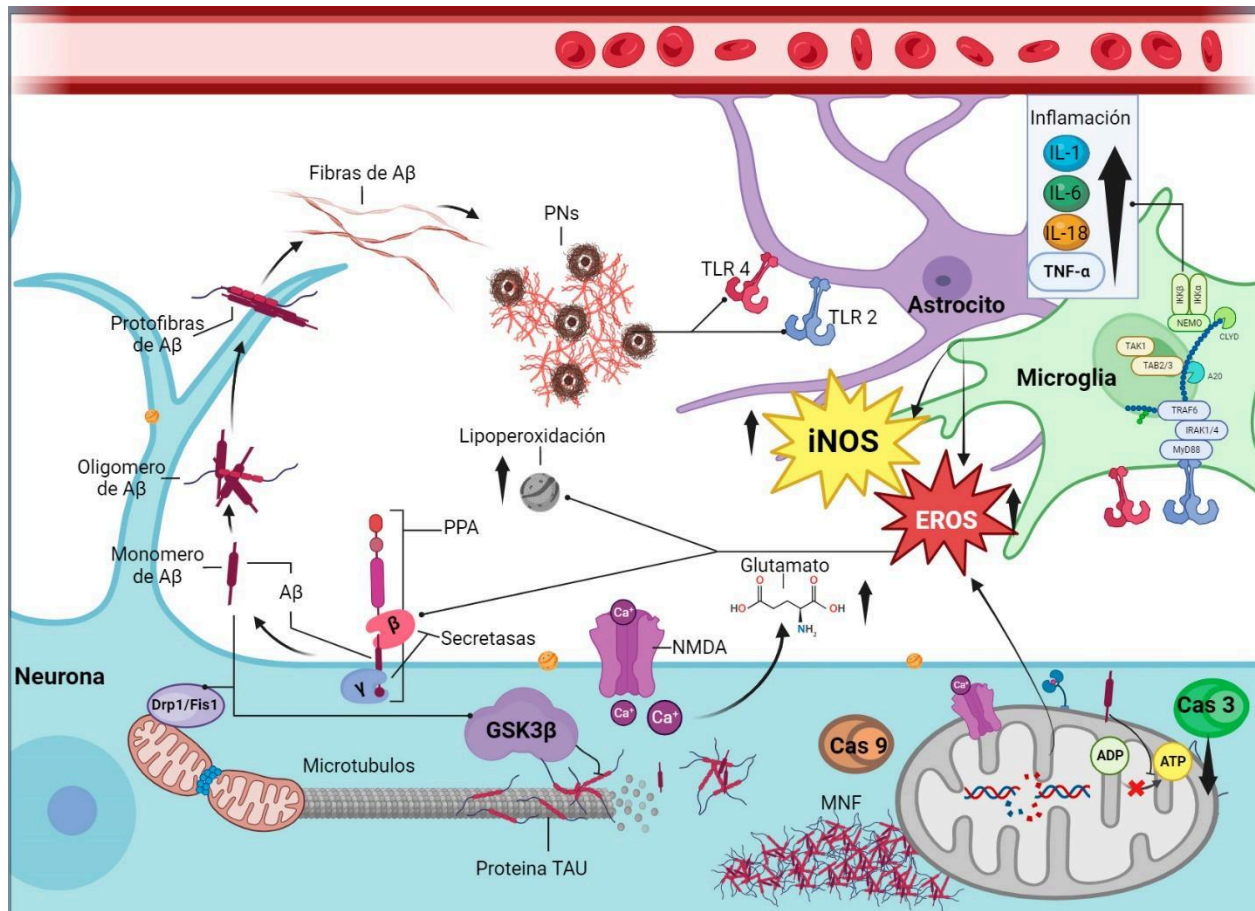


Figura 2.- Efecto neurotóxico del A β e interacciones moleculares. Al escindirse la PPA algunos fragmentos ingresan al citoplasma neuronal. El A β en la superficie mitocondrial impide la entrada y salida de proteínas mitocondriales lo que limita la funcionalidad de la cadena de transporte de electrones, lo que reduce la producción de Atp, y propicia el estrés oxidativo por la producción de radicales libres. El A β incrementa la permeabilidad a Ca⁺ y la afinidad de unión de Drp1 y Fis1 en mitocondrias lo que incrementa la fisión mitocondrial en el soma de las neuronas lo que incrementa la replicación de daños estructurales o mutaciones en el ADN mitocondrial. Los monómeros intracelulares de A β incrementan la actividad de GSK3 β que aumenta a su vez la fosforilación de la proteína TAU. A β genera activación de microglía y astrocitos mediante receptores TLR2, TLR4 y receptores scavenger, esta maquinaria celular incrementa la producción de iNOS y EROs, que genera desequilibrio redox y aumento de la lipoperoxidación (Butterfield et al., 2001; Pérez et al., 2004; Calvillo, M. et., al 2013; Martínez et al., 2019; Ramírez et al., 2023).

La activación microglial puede seguir dos caminos, la activación clásica determinada como fenotipo M1 o proinflamatorio y la activación alternativa denominada fenotipo M2 o

antiinflamatorio. La presencia del A β se ha asociado además con daño mitocondrial generando incremento en la producción de EROs. En conjunto, la producción de EROs por parte de las mitocondrias dañadas y la microglía activada clásicamente, generan un ambiente de estrés oxidativo. El daño mitocondrial genera la liberación de citocromo C de la mitocondria al medio extracelular, que activa Caspasas 9 e inicia la vía intrínseca de la apoptosis que finalmente lleva a la muerte y pérdida neuronal. Por su lado la liberación de citocinas por parte de la microglía en fenotipo M1 propicia inflamación crónica que lleva a muerte neuronal (Butterfield et al., 2001; Pérez et al., 2004; Ramírez et al., 2018; Parra, et al., 2019; Ramírez et al., 2023).

La segunda hipótesis es la denominada hipótesis de Tau en esta se asocia a la fosforilación proteína Tau. La actividad de cinasas dirigidas a complejos prolina - serina / treonina, modifica la fosforilación de la proteína Tau y por ende la conformación estructural de esta proteína estructural axónica. Al fosforilarse o escindirarse la proteína Tau puede agregarse con otros fragmentos y proteínas que generan las MNFs por acumulación y entrelazamiento de proteínas (Chen et al., 2017; Koller & Chakrabarty, 2020; Luna-Viramontes et al., 2020; Silvia Gra Menéndez et al., 2002).

En ambos casos, la formación de PNs y MNFs deriva en neuroinflamación, la presencia del fenotipo microglial M1, liberación de especies reactivas de oxígeno (EROs) así como mecanismos neurotóxicos y posterior muerte neuronal (Beyreuther & Masters, 1991; Cotman et al., 2005). Si bien, se han planteado múltiples hipótesis alternativas en las que se involucran desórdenes metabólicos o la aparición de las estructuras asociadas a la patología mediante mecanismos alternativos. Las hipótesis amiloidogénica y de Tau son las principales y mayormente aceptadas en la actualidad.

1.1.2 Diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer

En la actualidad, se emplean diferentes exámenes para el diagnóstico de la EA como es el caso del mini mental o la escala lobo para determinar el grado de deterioro mental (World Health Organization 2022). Sin embargo, la localización específica a nivel histológico de modificaciones estructurales así como la presencia de PNs y MNFs se logra únicamente de manera post mortem mediante disección del encéfalo. Sin embargo de manera indirecta se ha logrado evaluar la presencia de las PNS y MNFs mediante el uso de análisis de correlación como el análisis de líquido cefalorraquídeo (LCR) o la resonancia magnética. Estos estudios permiten de manera general visualizar la anatomía y elementos solubles como el pepito amiloide o cuantificación de citocinas y marcadores proinflamatorios presentes en sistema nervioso central (SNC) (Gauthier S. et al., 2022; Thomas Carazo & Nadal Blanco, 2001).

Otro enfoque utilizado para el diagnóstico se ha logrado con base en estudios de predisposición de la enfermedad. Utilizando análisis de asociación a mutaciones de la proteína PS1, la PPA secretasas “ γ ” y “ β ”, NCAM o M146L entre otros. Estas mutaciones suelen afectar genes que

repercuten en la vía amiloidogénica ya sea en la generación o escisión de la PPA o en las secretasas y genes ligados a ApoE encargados del procesamiento de la PPA. Estos estudios han permitido asociar el panorama genético y la epidemiología de la enfermedad. Sin embargo, el mayor avance en la detección temprana y diagnóstico sobre el curso de la EA es la detección in situ de péptido A β ya sea soluble o como parte de las PNs y MNFs en encéfalo. Esto se ha logrado mediante el uso de la tomografía por emisión de positrones que al utilizar un marcador específico para el amiloide como es el marcador Pittsburgh B que permite visualizar y cuantificar de forma general la presencia y localización del A β (Álvarez-Cisneros et al., 2017; Campion et al., 1999; Selkoe, 1997, 2001).

1.2 Funciones del péptido A β y toxicidad

En la EA el péptido A β es el principal componente de las PNs presentes en los cerebros de los pacientes con EA (Armstrong, 2011; Silvia et al., 2002; Silvia Gra Menéndez et al., 2002). Debido a esto, la gran mayoría de las investigaciones asociadas al péptido A β suelen centrarse en los efectos adversos de concentraciones potencialmente neurotóxicas, pero es necesario recordar que este péptido se libera de manera normal en el organismo. En concentraciones normales (519.1 pg / ml, Q1-Q3: 361, 8-749. 9 pg / ml] (Bayes-Genis et al., 2017; Chen et al., 2017; Gilson et al., 2015) no representa un peligro para el organismo e incluso se ha asociado con diversas funciones esenciales para la homeostasis y correcto funcionamiento del SNC (Greenwald & Riek, 2010).

1.2.1 Amiloide y su plegamiento en láminas β

Al generarse los oligómeros de A β en las diferentes membranas de la célula por la escisión de la PPA, en su mayoría presentan gran solubilidad en agua dependiendo de longitud y estructura espacial (Chen et al., 2017; Haass & Selkoe, 2007; Vandersteen et al., 2012). Para validar la agregación y solubilidad de los múltiples péptidos generados, el grupo de investigación de la Doctora Vandersteen, realizó un análisis comparativo de la generación de láminas β plegadas de distintos oligómeros del péptido A β . Este estudio permitió conocer la correlación entre la longitud del oligómero, el número de láminas β plegadas que presenta y su capacidad de agregación. Se ha descrito que los oligómeros A β 1 - 37, A β 1 - 38 y A β 1 - 40 presentan nucleación lenta, formando grandes fibras extendidas de agregados, mientras que los oligómeros de A β 1 - 42 y A β 1 - 43 generan nucleaciones rápidamente con agregados múltiples pequeños, pero fuertemente entrelazados. Otros estudios han determinado que los oligómeros de bajo peso molecular son más solubles y se agregan en mayor medida durante las primeras fases de la generación de una PN de manera que podrían fungir como núcleo para la adición de oligómeros de mayor tamaño (Álvarez-Cisneros et al., 2017; Campion et al., 1999; Selkoe, 1997, 2001). El plegamiento de estas láminas β y su papel en la formación de fibras se ha asociado con la neurotoxicidad del péptido.

1.2.2 Mecanismos de neurotoxicidad asociados al A β

Independientemente de la hipótesis que tomemos como punto clave del inicio de la patología para la EA se ha demostrado que las mutaciones en la APP y la acumulación del péptido A β por sí mismo derivan en la fosforilación de la proteína Tau y generación de MNFs. Así mismo, las taupatías han demostrado generar acumulación del péptido A β y propiciar la formación de PNs. Por lo que la presencia de una lleva a la otra y viceversa (Lozano et al., 2017; Luna-Viramontes et al., 2020; Silvia et al., 2002). Sin embargo, los mecanismos neurotóxicos asociados al A β han presentado múltiples dianas de investigación y se ha demostrado su relevancia en la patología de la EA.

Entre los mecanismos de neurotoxicidad asociados al A β más descritos se encuentran la disfunción sináptica, la excitotoxicidad, las alteraciones en la permeabilidad de la membrana tanto celular como mitocondrial, la alteración de la homeostasis del calcio, la inflamación, el estrés oxidativo y la lipoperoxidación (Butterfield et al., 2001; Butterfield & Allan Butterfield, 2002; Hernández-Zimbrón et al., 2021; Ramírez Hernández et al., 2020).

Las placas de A β representativas de la histopatología asociada a la EA, los monómeros de A β interactúan con elementos del medio para formar sitios de agregación de mediante reacciones redox catalizadas por metales de transición o iones metálicos de zinc, cobre y hierro. Estos iones metálicos propician la actividad la producción de EROs, incrementando la producción de radicales OH (Allan Butterfield & Boyd-Kimball, 2018; Butterfield et al., 2013; Cheignon et al., 2018; Hernández Espinosa et al., 2019). Existen evidencias de que la producción de diversos radicales como es el caso del anión superóxido (O $_2^{\cdot-}$), el radical hidroxilo (OH) y el óxido nítrico (ON). Estos radicales libres generan peroxidación lipídica en el cerebro de pacientes con EA. Experimentalmente, se ha cuantificado la lipoperoxidación mediada por A β con producción de 4-hydroxynonenal (4-HNE). El 4-HNE se une directamente a la proteína Tau evitando que esta se desfosfore. Esta lipoperoxidación modifica las rutas de transducción de señales antagonizando proteínas de membrana como la Na $^+$ / K $^+$ ATPasa y la Ca $^{2+}$ ATPasa. Incrementando el Ca $_2^+$ intracelular. Si no se regula genera actividad liberación de neurotransmisores de forma sostenida llevando a procesos neurotóxicos que degeneran en pérdida sináptica, apoptosis y por ende pérdida de la capacidad y funciones cerebrales. El daño celular y la activación de células astrocitarias y microgliales, generan la liberación de citocinas, quimiocinas, proteínas de inflamación de fase aguda y desencadenan respuestas celulares inflamatorias Ji, Z., et al.,(2019) Estas moléculas a su vez, activan los receptores de acetilcolina nicotínicos de tipo neuronal (AChR) y proliferadores peroxisomales (PPAR) generando liberación de citocinas proinflamatorias como la interleucina - 1 (IL - 1), interferón gamma (INF γ) y el factor de necrosis tumoral - α (TNF - α) (Tuppo, E. E., & Arias, H. R. (2005).

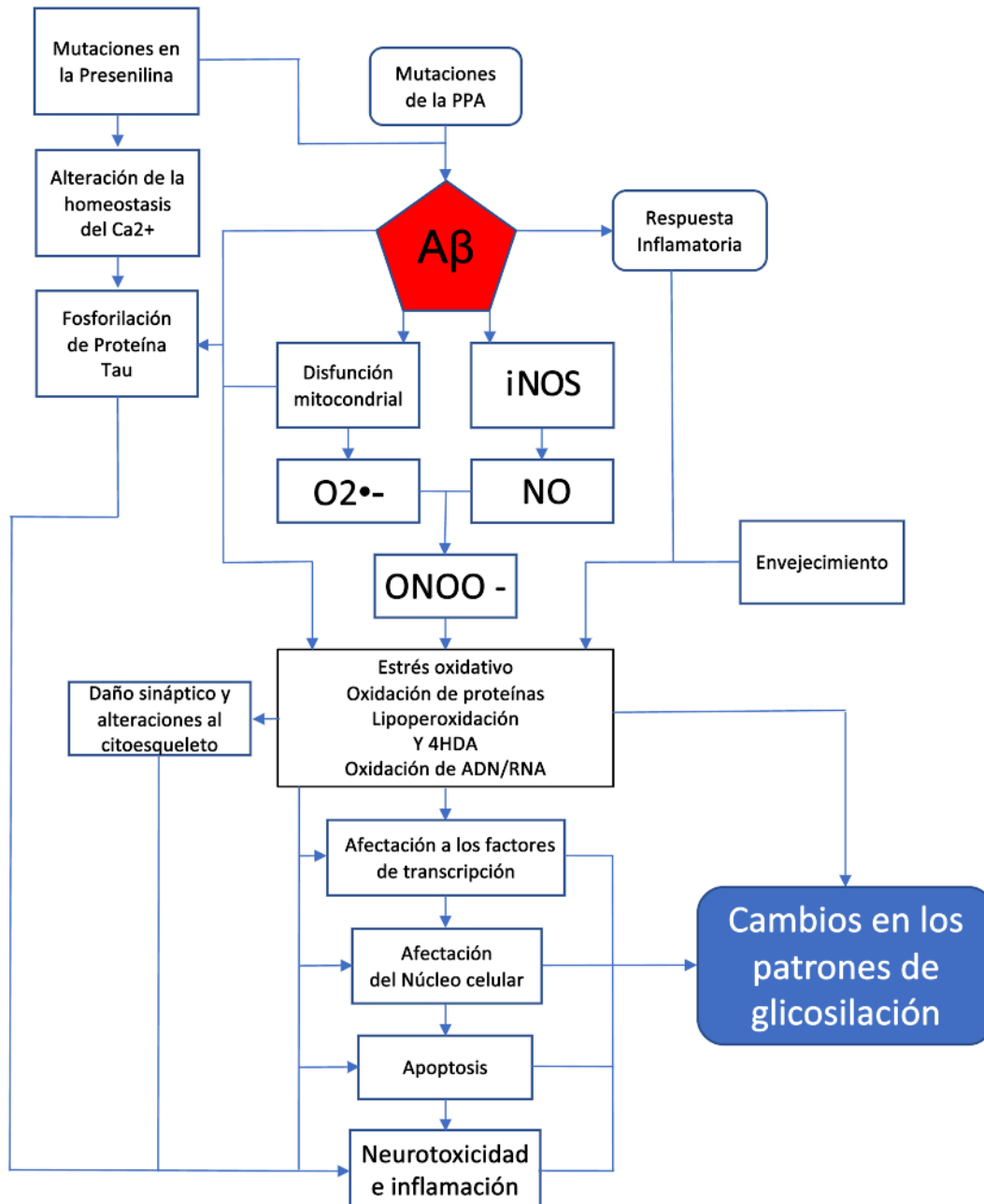


Figura 3.- Diagrama de mecanismos neurotóxicos. Mecanismos implicados en la generación de neurotoxicidad e inflamación asociados al péptido A β y planteamiento de ruta hipotética para la modificación de patrones de glicosilación. Modificado de Butterfield et al., (2001).

Otro mecanismo de neurotoxicidad mediado por BA es la asociación a diferentes proteínas intra y extracelulares. Se han propuesto diversos receptores celulares para el A β que podrían mediar su citotoxicidad, entre los que destacan TLR2, TLR4, el receptor de productos finales de glicación avanzada (RAGE), el receptor de residuos celulares (SR) principalmente presentes en microglía. La activación de estos receptores en astrocitos y microglía, incrementan la liberación

de EROs, INOs y citocinas proinflamatorias. Esta activación crónica perpetúa el ambiente proinflamatorio y el desequilibrio redox en el SNC (Calvillo et al., 2013; Ramírez et al., 2019). La presencia de A β exagera la internalización de iones Ca $_2^+$ mediante la activación de receptores de NMDA y produce poros en la membrana celular. El ingreso de Ca $_2^+$ aumenta la fusión de vacuolas sinápticas liberando glutamato de manera exacerbada. La liberación sostenida de glutamato propicia excitotoxicidad que mediante la muerte y liberación de citocinas genera un ciclo en el que se produce una mayor cantidad de EROs y especies reactivas de nitrógeno (ERNs) debido a la liberación de citocinas y procesos apoptóticos (Cheignon et al., 2018).

La actividad del A β genera radicales libres por diversos mecanismos como el deterioro mitocondrial y la pérdida de electrones de la cadena transportadora, la adición de metales en sus agregados y la actividad de la microglía activada por el A β . Los principales radicales que generan estrés oxidativo derivado de la actividad del A β son el O $_2^-$, OH y ON. El daño generado por el péptido A β_{25-35} a nivel mitocondrial favorece la pérdida de e $^-$ procedentes de la cadena transportadora de electrones, estos reaccionan con moléculas del medio lo que produce radicales libres como es el caso del O $_2$ que al captar e $^-$ produce O $_2^-$. El O $_2^-$ y el NO reaccionan generando peroxinitrito (ONOO $^-$) que a su vez reacciona con el CO $_2$, el producto de esta reacción es su el carbonato peroxinitroso (ONOOCO $_2^-$) que se degrada por interacción con las proteínas del medio y el medio mismo, este genera como producto de su degradación el radical carbonato (CO $_3^-$) y dióxido de nitrógeno (NO $_2$) (Clancy et al., 1998; Ersoy et al., 2002).

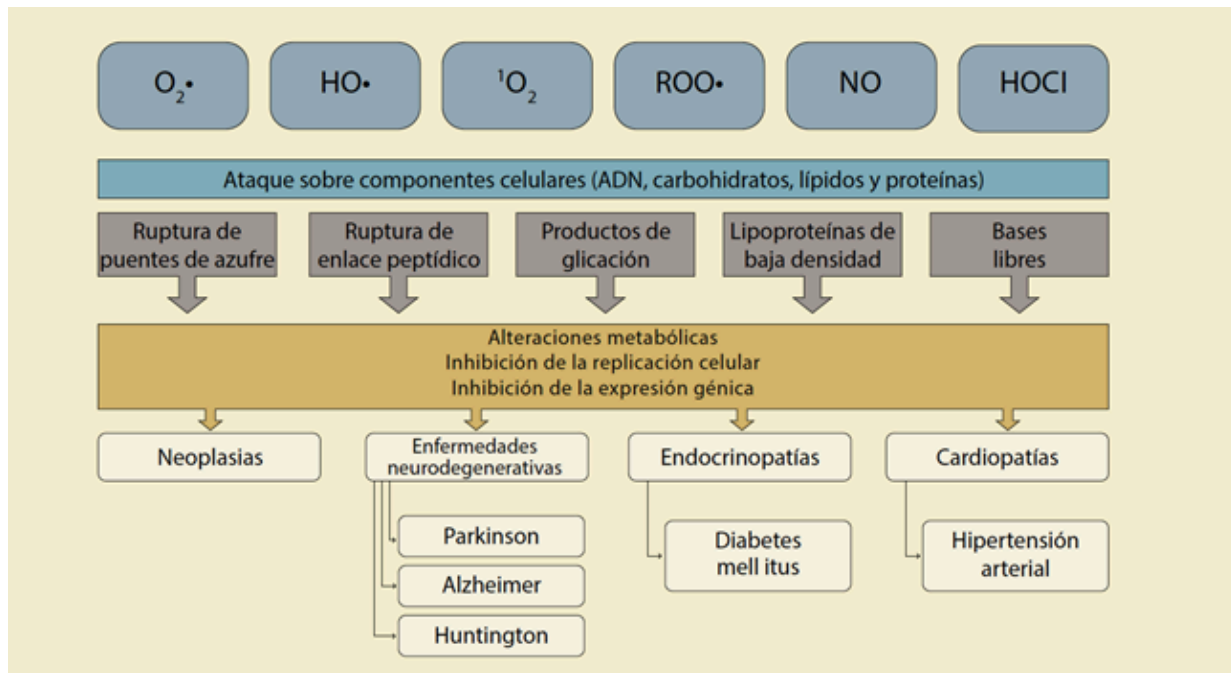


Figura 4. Papel de las EROs y ERNs en el desarrollo de la patología de la EA Modificado de Hernández Espinosa et al., (2019).

El ON es un radical libre que participa en la patogenia de muchas enfermedades debido a que es sintetizado por los condrocitos y sinoviocitos a consecuencia del estímulo de citoquinas proinflamatorias (Moshage 1997, Von Rechenberg et al., 2000, Davis et al., 2001, Spreng et al., 2001, Tomita et al., 2001, Tung et al., 2002). El ON se sintetiza a partir de la L-arginina, por la actividad de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), que posee tres isoformas, NOS-I, NOS-II y NOS-III (Murrell et al., 1995; Moshage 1997; Ralston 1997; Miranda et al., 2001). La NOS-I y la NOS-III son descritas como isoformas constitutivas y participan en procesos de regulación génica, mientras que la NOS-II representa la isoforma inducible (iNOS), se expresa en células estimuladas por diferentes citoquinas proinflamatorias como IL - 1, INF γ y TNF - α . Cuantificar de forma directa el ON o la iNOS es complicado debido a la reactividad de estos elementos. Sin embargo, los nitritos como residuos de la actividad de estos se pueden cuantificar mediante el método de nitrato reductasas mediante la utilización del reactivo de Griess (Moshage 1997; Miranda et al., 2001). Mediante la reacción de Griess se forma un cromóforo que, por la reacción de sulfanilamida con los nitritos en un medio ácido, se acoplan con aminas bicíclicas tales como el N - 1 - (naftil) etilendiamina dihidrocloruro lo que produce un cambio en la absorción de espectro electromagnético detectable mediante espectrometría mediante lectura de 550 nm (Griess, P., 1858; Calvillo, M et al., 2013).

1.3 Hipocampo

1.3.1 Estructura y formación hipocampal

El término hipocampo (Hip) se usa comúnmente en un sentido amplio, para incluir al Hip y el giro dentado (GD). El Hip y el GD son cruciales para la formación de la memoria ya que contribuyen activamente en la integración de la información. El Hip es una región de la formación hipocampal, este se compone de regiones denominadas Cuerno de Ammón o Cournu Ammonis (CA). La organización hipocampal es generalmente laminar. Su capa principal se compone de células piramidales. En la formación hipocampal se realiza la integración proveniente de diversas regiones corticales. El Hip permite el almacenamiento de la información percibida y funge como almacén temporal para esta, precede a la representación neocortical en la que se genera la memoria a largo plazo (Insausti & Amaral, 2003; Lazcano et al., 2014; Pérez-Severiano et al., 2004; Pradhan et al., 2022).

Lorente dividió al Hip en tres regiones: la región superior la llamó CA1 y la inferior la dividió en dos regiones Ca2 y CA3 (Larriva-Sahd, 2014; Le Duigou et al., 2014). En la formación del Hip se presentan dos clases principales de neuronas: las neuronas principales (de proyección) que representan la mayoría de las neuronas, y las células axónicas cortas (interneuronas). Las principales neuronas en Hip son glutamatérgicas, las interneuronas en cambio son de naturaleza GABAérgica. Sus características morfológicas y neuroquímicas son variadas y se distribuyen prácticamente en todas las regiones y capas de la formación del Hip (Amaral et al., 2007; Lavenex & Amaral, 2000). Las aferencias que recibe el Hip son terminales axónicas de neuronas

noradrenérgicas del locus coeruleus, serotoninérgicas del núcleo de rafe dorsal y colinérgicas provenientes del núcleo septal. Este se encarga de procesar la información e integrarla para posteriormente generar la memoria en neocórtex (Amaral et al., 2007; Lavenex & Amaral, 2000).

El GD se encuentra por debajo de la capa molecular compuesto por una capa densa de cuatro a ocho células granulares de espesor. El principal tipo de células del GD son las células granulares de fenotipo glutamatérgico. Las células granulares y capas moleculares del GD forman una estructura en forma de “V”, constituye la tercera capa del GD. Las células principales del GD tienen un árbol dendrítico característico en forma de cono, este se extiende hacia la porción superficial de la capa molecular. También se han identificado interneuronas denominadas “célula canasta” de fenotipo GABAérgico en GD, localizadas a lo largo y profundo de la capa de células granulares (Amaral et al., 2007; Díaz et al., 2010; Insausti & Amaral, 2003; Le Duigou et al., 2014).

1.3.2 Participación de la formación hipocampal en el proceso de aprendizaje y memoria

Se considera al aprendizaje, como una manifestación de los individuos en respuesta a los estímulos generados por el medio que los rodea. La memoria por otra parte constituye la retención, almacenamiento y recuperación de la información previamente adquirida. El aprendizaje y la memoria son procesos correlacionados, capaces de sufrir modificaciones en función de los estímulos ambientales. Desde un punto de vista procedimental, no es posible separar el aprendizaje de la memoria, así como su distribución dentro del circuito neuronal (Le Duigou et al., 2014).

Comprender la base material de la memoria es un objetivo central de la neurociencia moderna. Diversas investigaciones han propuesto que las modificaciones en la plasticidad neuronal y la conectividad sináptica en el SNC podrían ser el sustrato necesario para la formación de la memoria (Chan et al., 2002; Forest et al., 2021). Actualmente se considera que la formación de la memoria se basa en la activación de varias cascadas moleculares a nivel neuronal, que en última instancia conducen a cambios de larga duración en la estructura y la función sináptica (Kovács et al., 2021; Pradhan et al., 2022; Tyan et al., 2012).

Identificar a los circuitos neuronales implicados en el aprendizaje y la formación de la memoria ha representado un reto monumental. Sin embargo, el Hip debido a su disposición neuroanatómica, sus características fisiológicas y a su reconocida capacidad plástica ha permitido mediante su análisis una mayor comprensión del tema (Díaz et al., 2011; Le Duigou et al., 2014; Zhang & Stackman, 2015).

El aprendizaje forma parte de un proceso dinámico muy complejo, que conlleva a la formación de la memoria (Marr, 1971; Morris, 2006; Takeuchi et al., 2016). El aprendizaje es la adquisición

de información para la formación de la memoria y a su vez, la memoria se refiere a la capacidad de codificar, almacenar y recuperar información adquirida. La información adquirida es codificada mediante la actividad coordinada de un conjunto de neuronas y que se ha definido como engramas (Ohkawa et al., 2015; Roy et al., 2016, 2022). El aprendizaje induce cambios duraderos en neuronas específicas que retienen la información y son reactivadas en condiciones apropiadas de evocación de recuerdos. Estas neuronas adquieren la capacidad de reproducir una y otra vez los patrones de actividad que se generaron durante una experiencia determinada y expresar dicho estímulo con base en señales o asociación de estímulos (Bowman & Zeithamova, 2018; Krenz et al., 2023; Roy et al., 2016; Scoville & Milner, 1957).

La formación de la memoria a largo plazo requiere de cuatro etapas: aprendizaje, consolidación, almacenamiento y evocación (Krenz et al., 2023; Roy et al., 2022). La información adquirida durante el aprendizaje llega a la formación hipocampal a través de la corteza entorrinal. El procesamiento unidireccional de la información forma el “circuito tri sináptico”, que hace referencia al conjunto de conexiones conformado por la corteza entorrinal, el GD y las regiones CA1 y CA3 hipocampales (Amaral & Witter, 1989).

Las células de la capa II de la corteza entorrinal (CE) proyectan axones hacia el GD, lo que da origen a la “vía perforante”. Las células granulares del GD reciben y envían la información mediante proyecciones axonales (fibras musgosas) que conectan con las células piramidales de la región CA3 del Hip. Las células piramidales de la región CA3 envían información hacia la región CA1 mediante las colaterales de Shaffer. La región CA1 del Hip proyecta unidireccionalmente al subiculum y la corteza entorrinal (Amaral & Witter, 1989)

1.4 Glicosilación

Después del proceso de traducción proteico, en el que se generan las cadenas de aminoácidos. El plegamiento posterior brinda funcionalidad a la proteína. Sin embargo, esta no es la única modificación que sufren las proteínas después de generarse. Algunas de estas modificaciones postraduccionales son la fosforilación, la metilación, acetilación, clivajes, adición de fragmentos proteicos y glicosilaciones. Esta última esencialmente ha cobrado gran relevancia ya que se ha visto la existencia de modificaciones en el tipo de glicosilación durante eventos neuro inflamatorios así como modificación en el tipo de glicosilación de la proteína TAU fosforilada. La glicosilación comúnmente se lleva a cabo en el aparato de Golgi y retículo endoplásmico más no son los únicos sitios en los que se puede glicosilar o deglicosilar una proteína. Mediante este proceso, se añaden carbohidratos a las proteínas creadas a partir de la traducción del material genético. La glicosilación es la modificación postraducciona l más abundante en las células, se considera que al menos el 50% del proteoma de la naturaleza se encuentra glicosilado y se cree que debido a los múltiples sitios de glicosilación presentes en los animales, posiblemente la totalidad del glicoma celular se encuentre glicosilado (Apweiler et al., 1999; Montreuil, 1995). Además de esta glicosilación esencialmente omnipresente en las proteínas, la variedad de tipos de glicosilación y combinaciones de carbohidratos puede variar. De esta forma se presenta un

entorno donde las glicoproteínas pueden presentar diferentes funciones y señales dependientes de su glicosilación. Esta adición de carbohidratos suele llevarse a cabo en retículo endoplásmico y aparato de Golgi (Potapenko et al., 2010). Diversos estudios han demostrado que las vías de glicosilación se modifican durante estados alterados de neuroinflamación (Limón et al., 2011; Park et al., 2020; Ramírez Hernández et al., 2020). A su vez, las células presentan modificaciones fenotípicas asociadas a la inflamación viéndose afectados los patrones glicosídicos en organismos sin procesos inflamatorios (Liu et al., 2018; Ramírez et al., 2019).

1.4.1 Glicoma

Se ha intentado englobar a los diferentes tipos de glicoconjugados por diferentes autores que han descrito a la totalidad de las estructuras que presentan carbohidratos empleando la terminología glicoma. Este término engloba a los glicoconjugados compuestos por cadenas de carbohidratos o glicanos unidos covalentemente a moléculas lipídicas o proteicas (Reily et al., 2019). El glicoma se genera mediante la unión de carbohidratos a las proteínas o lípidos mediante un proceso denominado glicosilación. La unión es sumamente diversa y puede verse modificada debido a la secuencia, longitud, sitio de glicosilación o conjugación estereoquímicas de los carbohidratos (Spiro, 2002; Varki, 2017). Derivado de los mecanismos enzima sustrato y genéticos asociados a la glicosilación de lípidos y proteínas. Se considera al glicoma como la expresión de los patrones de expresión genética asociados a la respuesta de la célula y ante su medio (Ramírez Hernández et al., 2022; Scott et al., 2013). La síntesis de glicoconjugados es el mecanismo por el cual se añaden glicanos o carbohidratos independientes a estructuras que pueden ser principalmente proteínas o lípidos. La adición de estos carbohidratos se asocia principalmente al retículo endoplásmico rugoso y al aparato de Golgi. Sin embargo, la glicosilación puede llevarse a cabo tanto en el citosol, el núcleo celular, la membrana celular e inclusive en el medio extracelular. La ubicuidad de los procesos de glicosilación se puede asociar principalmente a las enzimas que fungen como mecanismo principal de glicosilación (Spiro, 2002). Se ha visto que la presencia en el medio de enzimas asociadas a procesos glicosídicos permite la glicosilación de las proteínas independientemente del sitio en el que se encuentren mientras que las condiciones requeridas para su funcionamiento estén presentes. A pesar de esto, la necesidad de los precursores glicosídicos y estructuras de ensamblaje asociadas a los sitios de glicosilación pueden fungir como limitantes o impedir directamente el funcionamiento enzimático y por ende el proceso de glicosilación. Las funciones asociadas a los carbohidratos añadidos a proteínas y lípidos celulares pueden dividirse en cuatro categorías; roles estructurales y moduladores, reconocimiento extrínseco, reconocimiento intrínseco y mimetismo molecular. Estas características no son excluyentes unas de otras (Varki, 2017). La modificación en estructuras glicosídicas modula diversos procesos celulares como pueden ser; la respuesta inflamatoria, regulación de la respuesta inmune, modular procesos apoptóticos, procesos metabólicos celulares que incluyen la señalización celular y procesos asociados a enfermedad como es la metástasis en células cancerígenas. Además, las cadenas de carbohidratos que en su mayoría presentan características hidrofílicas contribuyen al plegamiento de las proteínas (Caramelo, 2009).

La amplia diversidad funcional asociada a sitios de glicosilación se ha visto ligada al elevado número de estructuras ramificadas existentes. Se ha calculado que el número aproximado de estructuras ramificadas de carbohidratos posibles se encuentra en el orden de 10^{12} combinaciones glicosídicas posibles. Este gran número de glicosilaciones asociada a los tipos de carbohidratos, las estructuras generales y las ramificaciones posibles pueden dividirse en diversos tipos de glicosilación (Laine, 1994). La actividad de enzimas del aparato de Golgi (glicosiltransferasas y glicosidasas) regula la adición de carbohidratos principalmente por disponibilidad de sustrato. A su vez, la disponibilidad de sustrato y enzimas se regulan a través de transcripción genética. Finalmente, estas modificaciones asociadas al genoma y proteoma celular se pueden clasificar de diversas formas, entre las que destacan la O - Glicosilación y la N- Glicosilación para generar glicoproteínas o glicolípidos (Spiro, 2002). Los elementos del glicoma que han demostrado un mayor interés por la comunidad científica debido a su función e interacciones glicosídicas son los proteoglicanos independientemente del tipo de glicosilación que estos presenten.

Los proteoglicanos engloban una categoría conformada por cadenas largas de glicosaminoglicanos unidos a un núcleo de ácido glucurónico, galactosa y xilosa que se enlaza al grupo hidroxilo de la serina en un motivo de serina-glicina - X - glicina. Estos proteoglicanos a su vez pueden subclasificarse con base en el número, composición y grado de sulfatación de sus unidades disacaridas. Además de las glicoproteínas, otro grupo ampliamente estudiado son los glicolípidos o glicoesfingolípidos son una clase de glicoconjugados unidos a lípidos como su nombre sugiere. Presentan afinidad especialmente hacia galactosa y glucosa unidos o asociados a membranas celulares con contenido lipídico (Trudy McKee & James R. McKee, 2016).

1.4.2 O - Glicosilación

La O-glicosilación se considera la forma más diversa de glicosilación presente en los organismos, se generada principalmente por la acción de la enzima O - GlcNAc transferasa en el núcleo celular y el citosol. Esta forma de glicosilación genera un enlace covalente sobre el grupo hidroxilo de los aminoácidos de Serina o Treonina. A su vez se subclasifican según el carbohidrato que genera el enlace covalente sobre el grupo hidroxilo. Los carbohidratos que se unen inicialmente se pueden dividir en 6 grupos representados por; GalNAc α , Sia α 2 - 6 GalNAc α , Gal β 1 - 3 GalNAc α , GlcNAc β 1 - 6 (Gal β 1 - 3) GalNAc α , GlcNAc β 1 - 3 GalNAc α y GlcNAc β 1 - 6 (GlcNAc β 1 - 3) GalNAc (Reily et al., 2019; Varki, 2017).

1.4.3 N - Glicosilación

La estructura principal asociada a la N - Glicosilación es la unión de una N Acetil - Glucosamina (GlcNAc) unida mediante enlace β 1 - glicosídico a un átomo de nitrógeno del grupo amino de la Asparagina como unión covalente principal seguida de otra molécula de GlcNAc y tres residuos de manosa (Man). Las asparaginas que pueden someterse a glicosilación mediante este proceso se encuentran en la secuencia específica de aminoácidos Asn - X - Ser / Thr donde “X” representa cualquier aminoácido excepto a la prolina (Varki, 2017). La N - Glicosilación proteica suele ocurrir esencialmente en proteínas extracelulares o unidas a membrana. El proceso de síntesis de N - glicanos inicia en el retículo endoplásmico mediante precursores de glicolípidos. Algunos de los precursores lipídicos encontrados en el retículo endoplásmico son la tri glucosa, la nonesil manosa y la di N - Acetil Glucosamina unidos a dolicol fosfato que funge como estructura de unión a mecanismos enzimáticos (Trudy McKee & James R. McKee, 2016; Varki, 2017).

El mecanismo de unión enzimática de glicanos inicia mediante la eliminación de los residuos de glucosa que se remueven por dos α - glucosidasas y un residuo de manosa en retículo endoplásmico que se remueve por acción de la α - manosidasa. Atraviesa un punto de control que verifica la correcta depleción de manosa y se desplaza al aparato de Golgi. Nuevamente se elimina una manosa por la α - manosidasa y se promueven mayores modificaciones glicosídicas a partir de este punto por medio de diversas enzimas como son la GlcNAc - transferasa I - IV, β 1,4 galactosil transferasa, α 2,3 sialiltransferasa y α 2,6 sialil transferasa que incrementan enormemente las combinaciones de carbohidratos de N - Glicanos. La longitud de las ramificaciones de carbohidratos se ha asociado a la adición de GlcNAc unida mediante enlace β que son donados por ADP - GlcNAc (Spiro, 2002; Trudy McKee & James R. McKee, 2016). El tipo de estructura de glicanos y el número de ramificaciones pueden modificar las características de las glicoproteínas, lo cual puede modificar diversas funciones celulares como la respuesta de receptores de citocinas, la proliferación y diferenciación celular (Varki, 2017).

1.5 El glicoma cerebral

Las primeras predicciones del glicoma cerebral se basaron en los gangliósidos celulares complejos para explicar las interacciones de células en sistema nervioso y asociaciones de estas con glicosil transferasas expresadas en la superficie celular. Con base en estos estudios se determinó la existencia de un mecanismo mediante el cual se genera una señalización de marcaje por eliminación de glicanos de superficie. Diversos estudios han logrado señalar trastornos genéticos de la glicosilación con neuropatologías como el retraso mental, convulsiones o la epilepsia (Freeze et al., 2015; Ramírez Hernández et al., 2022; M. A. Smith et al., 1995; Varki, 2017). Si bien, la especificidad de las glicosilaciones en proteínas neuronales juega un papel clave en las interacciones celulares, es necesario comprender el panorama glicómico como un todo en el cual la regulación a la baja o al alza de determinadas glicosilaciones podrían indicar un metabolismo celular específico que podríamos asociar a condiciones patológicas. Por lo que,

el estudio y análisis de cada uno de los glicanos en el SNC permite comprender en mayor medida el metabolismo neuronal (Kim et al., 2018; I. D. Limón et al., 2011; Ramos-Martínez et al., 2018).

1.5.1 Ácido siálico

Las proteínas glicosiladas tanto en N como O - glicosiladas en mamíferos suelen estar cubiertas por Ac. siálico cargado negativamente. La eliminación del Ac. siálico en sí puede desenmascarar sitios de unión para receptores o anticuerpos que reconocen residuos subterminales de β - galactosa, presenta actividad como mediador de la señalización celular. Diversos mecanismos dependen de la sialilación y desialilación como regulador de procesos asociados a glicoproteínas. Un ejemplo de esto en SNC es el papel de los Ac. siálicos en la migración y rutas de desplazamiento axonal durante etapas de desarrollo o regeneración neuronal. Mediante la eliminación de Ac. siálico se despolariza la actina citoesquelética lo que deriva en el desplazamiento y reestructuración axonal clave en la reparación celular de tejidos y eventos de plasticidad cerebral (Lee et al., 2014; Limón et al., 2011; Matsubara et al., 2018).

Entre las estructuras glicoproteicas, resaltan las estructuras poli sialiladas que representan un papel fundamental en la comunicación celular, estas se han visto asociadas a estructuras monoanténarias de Gal β - 3 GlcNAc o Gal β - 4 GlcNAc. La presencia de estructuras poli sialiladas se ha visto ligada a regiones cerebrales específicas que suelen presentar alta plasticidad neuronal, en el cerebro de rata adulta, se han visto altamente ligados a canales de sodio. Diversos estudios han reportado marcaje de NCAM poli sialilada como marcador de activación astrocitario con ratas que presentan Parkinson en modelos experimentales por lo que la activación astrocitaria podría depender de la sialilación de NCAM o este fungir como marcador necesario para la actividad de los astrocitos activados (Parra et al., 2019). En modelos neuro inflamatorios por microinyección de LPS intracerebral se vio cierta reducción de Ac. siálicos, principalmente los enlazados mediante unión α - 2,3. Los enlazados mediante unión α 2,6 no se modificaron mediante esta metodología (Rebelo et al., 2021). Otro proceso clave en relación con el Ac. siálico es la pérdida de sialilación en proteínas mediante la acción de sialidasas endógenas. Este proceso ocurre de manera natural en el organismo como un mecanismo que permite degradar y eliminar proteínas después de cierto tiempo de su generación como parte de un sistema de recambio proteico (Yang et al., 2015).

1.5.2 Fucosilación

En investigaciones recientes asociadas a la neuroinflamación inducida por LPS administrado intracerebralmente mediante microinyección, se ha visto la reducción de estructuras fucosiladas. Este efecto se ha visto generalizado en todo el hemisferio afectado por la administración de LPS y no solo en el sitio de la lesión por lo que se considera esta actividad como una respuesta cerebral mediante reconocimiento de LPS (Rebelo et al., 2021). Se ha reportado en cerebro una gran cantidad de fucosilaciones N -glicosiladas, Shimizu et al (1993) reportaron la existencia de

regulación regional para la cantidad de proteínas fucosiladas en SNC. Es resaltable que la mayoría de las fucosilaciones detectadas en el SNC no se ven reflejadas periféricamente. Por ejemplo, múltiples proteínas séricas no se encuentran fucosiladas o los sitios de fucosilación se encuentran enmascarados por otro carbohidrato a diferencia de diversos elementos en el SNC que presenta fucosilaciones terminales de forma natural. Al contrario de lo que se observa en regiones fuera del SNC donde la presencia de fucosas terminales en las cadenas de oligosacáridos puede fungir como marcadores de senectud celular o proteica (Yang et al., 2015).

La importancia de la fucosilación cerebral es tal que en un estudio de la N - glicosilación cerebral se encontró al analizar 42 glicanos unidos a N, que 30 de ellos (71.4%) estaban fucosilados y 7 (16.7 %) eran glicanos complejos no fucosilados. Mediante este estudio, se demostró que alrededor del 70% de proteínas específicas del cerebro presentan elevados niveles de fucosilación terminal (Eshghi et al., 2014). En otros estudios se ha visto que la inyección intracerebral de fucosa ha generado la retención mejorada de comportamientos aprendidos por lo que se ha implicado un papel importante de la fucosilación en la retención, formación y recuperación de memorias especialmente sobre el circuito de estímulo respuesta. Esto concuerda con otras líneas de investigación en las que bajo condiciones experimentales la ausencia de α 1-6 fucosil transferasa derivó en fenotipos de ratones con padecimientos similares a la esquizofrenia (Fukuda et al., 2011).

1.5.3 Manosa

Los glicanos de oligomanosa en el SNC presentan diferentes funciones; estudios previos han demostrado que la presencia de estos funge como un factor clave para el desarrollo neuronal temprano. Ji, I. J et al., en el 2015 describieron la ausencia o reducción generalizada de la manosilación hipocampal comparada con el resto de las regiones cerebrales. Las diferentes detecciones regionales indican la existencia de regulación espacial en los procesos glicosídicos por lo que se considera que la ausencia de elementos manosilados está relacionada a la regulación postraduccional y transporte intracelular enzimático. Se ha descrito que las Man 6 - P se encuentran localizadas en los lisosomas neuronales principalmente asociadas a proteínas asialiladas, lo que relaciona la actividad lisosomal con la degradación de elementos no sialilados (Spiro, 2002). La unión de GlcNAc bisectantes se ha visto ligada a la reducción de estructuras α - manosiladas, lo que podría asociar el incremento de estas en trastornos neurodegenerativos y la reducción de manosilación en sus proteínas (Miwa et al., 2012; Rebelo et al., 2021).

1.5.4 GlcNAc

Al ser parte esencial en la N y O glicosilación, la N - Acetil glucosamina representa uno de los puntos importantes en la generación de glicanos. Las estructuras uní, bi, tri o tetra antenarias formadas a partir de la GlcNAc permiten la unión de otros carbohidratos. Así mismo, forma parte de las cadenas de carbohidratos y estructuras truncadas o limitadas debido a la localización estereotáctica de su ordenamiento. En los denominados GlcNAc bisectantes limitan la unión de

más N - glicanos a sus cadenas, presentando así GlcNAc terminales. La presencia de cadenas glicosídicas multiantenarias de GlcNAc en cerebro se asocia a los niveles de N - Glicosilación en el SNC debido a que gran número de estructuras biantenarias y bisectarias funcionan como limitantes de cadenas N -glicosídicas. Además de haberse reportado el incremento de estructuras biantenarias y bisectarias en trastornos neurodegenerativos (Rebelo et al., 2021; Samal et al., 2020).

1.5.5 Galactosa

Se han visto en estudios de la Sustancia Nigra pars compacta un incremento de galactosas terminales asociadas al proceso de envejecimiento del organismo. Este proceso de galactosilación celular es independiente de los procesos de daño celular según lo reportado por Park et al., (2020), quienes en un modelo de encefalitis autoinmune no encontraron modificaciones de la galactosilación del epitelio neuro - olfatorio. Demostrando así, la modificación del glicoma por procesos neuro inflamatorios asociados a este carbohidrato (Samal et al., 2020).

1.6 Modificaciones de glicosilación en la EA

1.6.1 Estudios de glicosilación asociados a mutaciones de la EA

En enfermedades asociadas a la neuroinflamación como es el caso de la EA se ha descrito que el receptor de unión al ácido siálico de aparición tardía SIGLEC-3 se ve altamente incrementado. En múltiples estudios de asociación de genoma recurrente de pacientes con EA se ha determinado que SIGLEC-3 humano (CD33) presenta afinidad a los sialoglicanos α 2,6 - biantenarios, por lo que un incremento en este receptor podría indicar la modificación de este carbohidrato (Hammonds et al., 2017; Fraschilla & Pillai, 2017). Estudios glicogenéticos de la EA han reportado que las mutaciones sueca y londinense de la EA generan glicosilación modificada de la PPA, asociando a esta alteración glicosídica el incremento de A β 42 / A β 40 en pacientes que poseen un incremento de residuos de GlcNAc bisectante y un incremento de la GlcNAc transferasa III (Schedin-Weiss, et al., 2014).

Mutaciones relacionadas a la EA como la del gen M146L presentan reducción en la sialilación de NCAM. Esto se observa mediante la evaluación en la modificación de la adhesión celular y el crecimiento de neuritas además de que los pacientes con esta mutación presentan limitación de la plasticidad, el aprendizaje y la capacidad de memoria a consecuencia de las modificaciones presentes en los niveles de Ac. siálico. Aunado a esto, las mutaciones de la PS1 generan la reducción de la expresión membranal de α 2 - 3 - sialo - glicoproteínas. Se ha visto que esta desialilación induce un cambio de tamaño de la NCAM lo que modifica la ubicación espacial de los residuos de la proteína en la membrana celular. Debido a esto se considera que el Ac. siálico tiene actividad en la estructura tridimensional de la NCAM posiblemente debido a sus cargas, lo que genera la pérdida de marcaje reconocible de NCAM en la proteína desialilada (Scarlsbrick &

Jones, 1993). Se ha informado que la sialilación de las proteínas en la EA disminuye debido a la reducción de la actividad de sialiltransferasas. Estos estudios reportaron que la reducción de sialiltransferasas afecta principalmente al lóbulo frontal y temporal sin verse afectada la sialilación a nivel hipocampal (Schedin-Weiss et al., 2014). Se ha reportado que la sialilación de proteínas presentes en LCR de pacientes con EA fue significativamente menor al ser evaluada con lectina WGA, mientras que la tinción con otras lectinas que reconocen carbohidratos de manera similar como es la Con A no se vio modificada. Como WGA se une a GlcNAc y sacáridos que contienen ácido siálico, mientras que Con A se une a GlcNAc pero no al ácido siálico, los resultados indicaron que las proteínas del LCR estaban menos sialiladas en pacientes con EA que en pacientes sin EA. Otro estudio de unión a WGA confirmó la unión reducida a esta lectina de varias glicoproteínas en el LCR de pacientes con EA en comparación con individuos sanos y señaló a la transferrina (TF) como una de estas glicoproteínas (Hoshi et al., 2021).

1.6.2 Cambios asociados al tipo de glicosilación en la EA

En estudios para reducir la formación de las PNs, se ha visto que al inhibir la enzima O - GlcNAcasa la formación de PNs se ve reducida, evitando el desencadenamiento de diversos procesos neurodegenerativos y así el deterioro de la memoria. Este efecto protector dado por la inhibición de la O - GlcNAcasa se ve asociado principalmente a la actividad de nicastrina que forma parte fundamental de la γ - secretasa ya que su estructura altamente O - GlcNAcilada se relaciona al incremento de PNs a diferencia de su forma reducida en O - GlcNAcilada. Aunque este cambio en la nicastrina aparentemente tiene efectos en la reducción de PNs se debe recordar que múltiples estructuras O - glicosiladas se han asociado a la EA y la reducción de la O - GlcNAcilación afecta a esas estructuras de igual forma pudiendo ser estas proteínas no analizadas las responsables de reducir la acumulación amiloide o mejorar la memoria (Schedin-Weiss, et al., 2014).

A pesar de que las N - Glicosilaciones suelen asociarse a proteínas extracelulares o de membrana, diversos estudios han demostrado que la proteína TAU en la EA se encuentran N - glicosiladas. La proteína TAU posee tres sitios potenciales de N - glicosilación, presenta además un elevado contenido de manosas y Ac. siálicos. El incremento de la N - Glicosilación de TAU en la EA aunado a la reducción de la O - GlcNAcilación deriva en una glicosilación aberrante que genera la modificación completa de las glicosilaciones de la proteína TAU fosforilada e hiperfosforilada que facilita su agregación y generación de MNFs (Schedin-Weiss et al., 2014).

1.7 Lectinas

Las lectinas constituyen un grupo de proteínas de origen no inmune que comparten en común la propiedad de enlazarse de forma específica y reversible a carbohidratos. Los carbohidratos reconocidos por lectinas pueden encontrarse de forma libre o como parte de estructuras

complejas como son los glicolípidos y las glicoproteínas. Por lo que una manera de detectar de manera específica los carbohidratos asociados a la superficie o interior de una célula es mediante el uso de lectinas. Estas se utilizan ampliamente en diversos procedimientos y protocolos de investigación (Hernández Díaz et al., 1999).

2 Hipótesis

La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en ventrículos laterales genera cambios en los patrones de glicosilación en la corteza visual (CtxV), corteza frontal (CtxF) e hipocampo (Hip) asociados a daño y déficit cognitivo.

3 Objetivos

3.1 Objetivo general

Evaluar los cambios de los patrones de la glicosilación en CtxV, CtxF e Hip de rata Wistar posterior a la administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en los ventrículos laterales y determinar la relación con la pérdida de la memoria.

3.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar la modificación conductual y pérdida de memoria a largo plazo generada por la administración del péptido $A\beta_{25-35}$.
2. Cuantificar los cambios en la lipoperoxidación y los niveles de nitritos en CtxF, CtxV e Hip generado por la administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en ventrículos laterales.
3. Evaluar en CtxF, CtxV e Hip los cambios en los patrones de glicosilación ante la administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en los ventrículos laterales de ratas.

4 Diagrama de trabajo

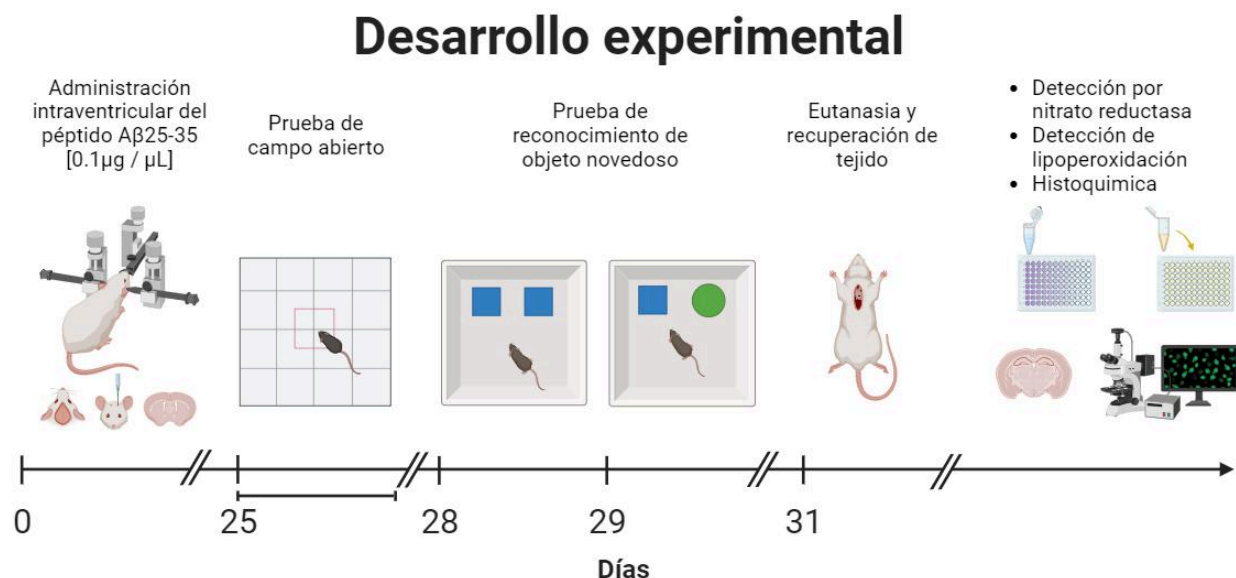


Figura 5.- Diagrama de flujo de método experimental en días. 0 cirugía estereotáxica. 25 Prueba de campo abierto. 28-29 prueba de objeto novedoso. 31 Eutanasia. 32 en adelante Pruebas bioquímicas para detectar nitritos, lipoperoxidación, microscopía de fluorescencia.

5 Material y método

5.1 Animales

En el presente proyecto se utilizaron 15 ratas Wistar de aproximadamente 4 meses de edad (macho adulto 250 - 260 g) provenientes de la Unidad Académica Bioterio (UAB) de la facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Los animales se resguardaron en el bioterio del departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina UNAM. Se proporcionó alimento y agua *ad libitum*. Se respetaron ciclos luz oscuridad 12h / 12h y la temperatura se mantuvo a 22 +/- 3 °C.

Los ejemplares se organizaron en tres grupos experimentales con una n = 5: intacto (Int), vehículo (Veh) y A β ₂₅₋₃₅. Los procedimientos a los que se sometieron los animales se llevaron a cabo de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999 y el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales del Laboratorio (CICUAL-UNAM). Para el uso y manejo de animales se acreditó el curso de manejo ante el Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM mediante el curso de “Inducción, manejo animal y normas de trabajo en la Unidad de Modelos Biológicos” con folio: 1068.

5.2 Preparación del péptido

La solución del péptido A β ₂₅₋₃₅ para la administración intracerebroventricular, se preparó con el péptido comercial de la marca Sigma Chemical. Co., St Louis, MO EE. UU., el péptido se diluyó en solución salina isotónica estéril (SSI) [NaCl al 0.9 %]. Concentración final de 1 μ g / μ L. Posteriormente se incubó a 37° C durante 36 horas previamente a la administración (Ortega et al., 2014; Limón et al., 2011; Ramírez et al., 2018; Ramírez-Hernández et al., 2023).

5.3 Administración del péptido

Se administraron 2 μ L de péptido A β ₂₅₋₃₅ en ventrículos laterales mediante el procedimiento utilizado por Ramírez et al., (2019). Como anestésico se empleó Ketamina Xilacina [75:10 mg / Kg.] a los grupos experimentales Veh y A β ₂₅₋₃₅. Posterior a la sedación profunda, se rasuraron las cabezas de las ratas y se colocaron en el aparato de cirugía estereotáxica. Para realizar la trepanación, se expuso el cráneo mediante una incisión en sentido anteroposterior en la región frontal hacia occipital (1 cm de longitud). El sitio de trepanación se determinó mediante las coordenadas establecidas por Paxinos y Watson (2013) a partir del punto de Bregma. Se emplearon las coordenadas; anteroposterior -1mm, lateralidad +/- 1.5 mm y profundidad - 3.5 mm respecto a la duramadre. Al grupo Veh se le administró 2 μ L de solución salina estéril (NaCl al 0.9 %) empleando las mismas coordenadas.

5.4 Registro de pruebas conductuales

Las pruebas de campo abierto y reconocimiento de objeto novedoso se registraron con una cámara Logitech modelo C920 Pro-HD Webcam. La cámara se colocó en el centro del campo de exploración a una altura de 1 m sobre el centro del campo de exploración orientada hacia abajo. Los videos se registraron a una resolución de 1280 x 720 píxeles 30 fps en formato mp4. Durante todas las pruebas se evitó el ruido y se mantuvo a una distancia de 3 m del campo de exploración para evitar que la presencia de personas afectase el comportamiento de las ratas.

5.4.1 Prueba de campo abierto

La prueba de campo abierto se realizó 25 días post - administración del péptido. Los videos se procesaron con el software “Tracker Video Analysis and modeling tool” versión 6.1.3 para Windows 64. Se generó la barra de calibración de distancias a partir de los puntos entre las aristas inferiores del campo de exploración y se determinó la distancia entre ambos puntos como 0.5 m para poder cuantificar la distancia y velocidad recorrida. Se añadió un plano cartesiano para el registro de coordenadas en centímetros, el punto de origen se posicionó en la arista inferior izquierda del campo de exploración. El seguimiento del movimiento de las ratas se registró mediante la detección de píxeles, con la finalidad de reducir la detección errónea de movimiento e incrementar la veracidad del movimiento, se emplearon los filtros de vídeo: invertir colores, brillo 79, sombreado - 34 y contraste 97.

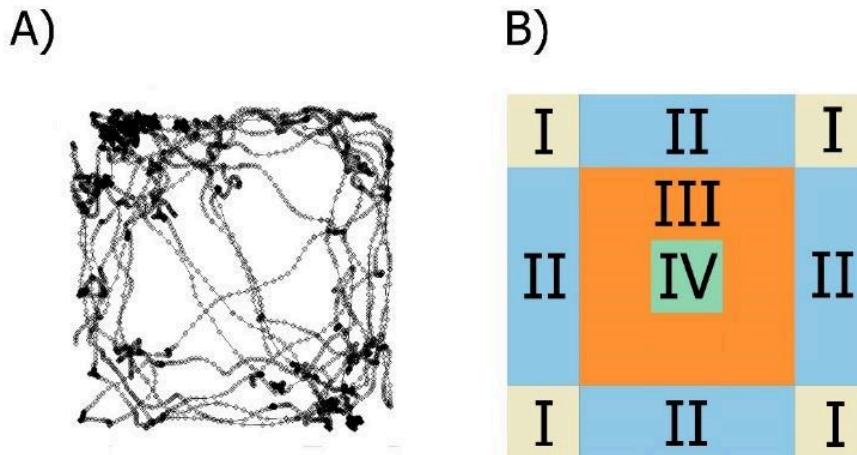


Figura 6.- Planteamiento de coordenadas por regiones delimitadas. En A) se muestra el mapa de recorrido generado por una rata mediante el software de seguimiento Tracker por detección de coordenadas por fotograma (9000 puntos) mediante rombos y línea de seguimiento mediante la unión secuencial de coordenadas. En B) se muestran las regiones en las que se dividió el campo de exploración, se determinaron las regiones como: I las esquinas o del campo de exploración, II Los pasillos periféricos entre esquinas, III la región central sin incluir el centro del campo de exploración y IV el centro del campo de exploración.

Los videos se analizaron con la herramienta de seguimiento de objetos automático por detección de píxeles con una tasa de evolución de 100 y retención de 1 respecto a la imagen anterior. Cada video se analizó desde el segundo 1 al momento de colocar la rata en posición inicial hasta el segundo 300. La totalidad del video se reprodujo a 30 fps para un total de 9,000 fotogramas por video y una coordenada por fotograma. En la Figura 6 inciso A) se puede observar un mapa de seguimiento del movimiento de una rata, cada punto de detección se representa como un rombo en el campo de exploración.

Para delimitar regiones de exploración se determinaron regiones de interés según lo reportado por otros grupos de investigación como se muestra en la Figura 6 inciso B). Se dividió el campo de exploración total (250 cm²) en 4 regiones para representar la interacción interna y externa del campo de exploración. La región I o esquinas 10 x 10 cm en cada arista del campo de exploración. Región II o pasillos de 10 cm x 30 cm, estos pasillos son la conexión periférica entre las esquinas. Región III como el campo central 30 x 30 cm sin incluir el centro o región IV de 10 x 10 cm.

Los datos obtenidos mediante el análisis de la prueba de campo abierto se vaciaron en hojas de Excel para cuantificar la presencia de la rata en regiones específicas por cada condición experimental. Los datos se analizaron en el programa GraphPad Prism v9.0.2 según lo establecido en el apartado estadístico.

Las distancias recorridas y la velocidad promedio de los recorridos proporcionada por el programa Tracker se analizaron en el programa GraphPad Prism v9.0.2 según lo establecido en el apartado estadístico.

Las coordenadas de cada región explorada se convirtieron en imágenes de mapas de rastreo de movimiento para visualizar el desplazamiento de las ratas en un mapa de bits. Para presentar de forma visual el comportamiento general por grupo experimental, se generó un mapa de calor al dividir el campo de exploración en cuadrantes de 2.5 x 2.5 cm, se empleó el promedio de la actividad por cuadrante de la totalidad de las ratas pertenecientes a cada grupo experimental.

5.4.2 Prueba de reconocimiento de objeto novedoso

Para realizar la prueba de reconocimiento de objeto novedoso se utilizó un cubo de acrílico de 50 x 50 x 50 cm con una cama de aserrín idéntica a la proporcionada para los contenedores de confinamiento. Se realizó una modificación de la prueba de reconocimiento de objeto novedoso descrita originalmente por Ennaceur & Delacour, (1988).

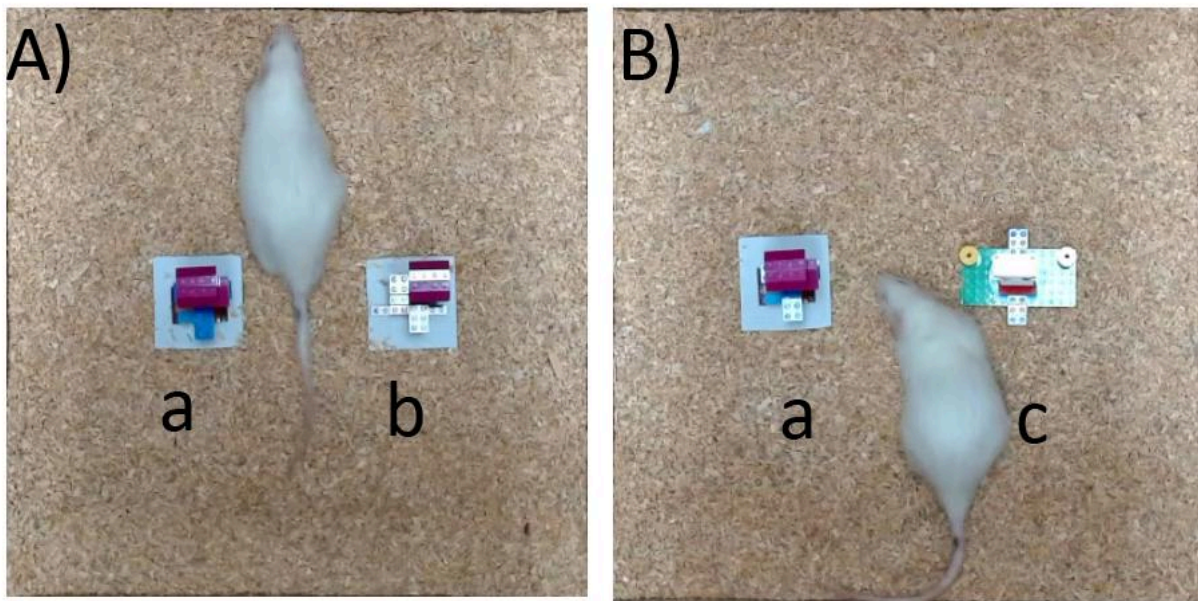


Figura 7.- Imagen ilustrativa de la prueba de reconocimiento de objeto novedoso. En A) se observa la disposición de objetos similares en forma y tamaño “a” y “b”. En B) se presenta la sustitución del objeto “b” por el objeto novedoso o “c”.

La prueba comprende 3 fases; habituación, aprendizaje y memoria. La etapa de habituación se realizó de los 25 a 27 días posteriores a la administración del péptido. El periodo de habituación consistió en periodos de 5 min en los que se colocó la rata en una posición cercana a la pared contraria de la guía visual de orientación. La guía visual de orientación consistió en un cuadrado de 10 cm x 10 cm. En el centro de una de las paredes de la caja con dos barras de 10 cm x 5 cm.

El periodo de habituación consistió en el ingreso secuencial de cada rata al cubo de acrílico durante un periodo de 5 minutos sin presencia de objetos para la prueba con el fin de acostumbrar a los roedores al manejo y evitar que esto sea un factor de estrés que pudiese afectar los resultados de esta misma. Se permitió la libre exploración en ausencia de estímulos externos y después de 5 min se retiró al ejemplar. Se retiró la cama de aserrín proporcionada y se higienizó el cubo de acrílico con etanol al 70 % con una gasa para eliminar residuos de aroma o residuos de heces y orina que afectasen la interacción con los objetos. Este proceso se realizó durante 3 días y se esperó al día siguiente para iniciar la fase de aprendizaje.

Al terminar el periodo de habituación, se pasa a la fase de aprendizaje en la que se le presentan los objetos "a" y "b" los cuales fueron 2 estructuras consistentes en torres de bloques de apilar con ordenamiento, colores y alturas similares colocadas equidistantemente de los muros de orientación y contra orientación además de estar separadas de forma equidistante del centro y paredes laterales. Las torres se denominaron como objeto a y b respectivamente como se ilustra en la Figura 7. Las ratas se colocaron en el contenedor mediante el procedimiento mencionado en la etapa de habituación y se permitió la exploración libre de los objetos y el campo exploratorio durante 5 min en posiciones y orientación similares. Se retiró la cama de aserrín proporcionada y se higienizó el cubo de acrílico y los objetos con etanol al 70 % con una gasa para eliminar residuos de aroma o residuos de heces y orina que afectasen la interacción con los objetos.

Finalmente, en el quinto día se procedió a realizar la prueba de memoria y reconocimiento de objetos. En la etapa de memoria se substituyó el objeto "b" por una torre de bloques con estructura, colores y altura diferente a la de los objetos "a" y "b" a la que se denominó objeto "c". Se repitieron los procedimientos descritos en la etapa de aprendizaje. Se analizaron los videos para determinar la interacción con cada objeto, se determinó como interacción a los eventos de olfacción, contacto de vibrisas, nariz o patas con el objeto, no se consideró como interacción al contacto de patas traseras, cola o costados de la rata. No se contabilizaron eventos en los que los roedores permanecieran inactivos en zonas cercanas a los objetos. La cuantificación de interacciones de cada objeto se realizó mediante el software Adobe Photoshop mediante el editor de video para realizar un seguimiento cronometrado del momento en el que se inició o terminó la interacción con los objetos. De esta forma se logró visualizar el momento de inicio de una interacción, el final de esta y cuantificar de manera más precisa el número de eventos exploratorios.

El número de toques de cada objeto se registró en tablas de Excel y se obtuvo el índice de exploración tanto para el toque de objetos como para el tiempo empleado en la exploración de estos. Con base en lo anterior se determinó el índice de preferencia (IP) de objeto calculado se utilizaron las siguientes fórmulas:

Fórmulas para la generación de IP por Interacción:

$$T1 = A + B1 \qquad T2 = B2 + C$$

$$Ia = \frac{A}{T1} \qquad Ib1 = \frac{B1}{T1} \qquad Ib2 = \frac{B2}{T2} \qquad Ic = \frac{C}{T2}$$

A Interacciones con el objeto “a”

B1 Interacciones con el objeto “b” durante la fase de aprendizaje

B2 Interacciones con el objeto “b” durante la fase de memoria

C Interacciones con el objeto “c”

T1 Suma de las interacciones durante la fase de aprendizaje en objetos “a” y “b”

T2 Suma de las interacciones durante la fase de memoria en objetos “b” y “c”

Ia IP del objeto “a”

Ib1 IP del objeto “b” durante la fase de aprendizaje

Ib2 IP del objeto “b” durante la fase de memoria

Ic IP del objeto “c”

Los índices de preferencia se analizaron con el software GraphPad Prism 9.0.2 según lo establecido en el apartado de análisis estadísticos.

5.5 Eutanasia y procesamiento de las muestras

Se sacrificaron los animales a los 31 días post administración del péptido, mediante sobredosis de Pentobarbital sódico [65 mg / mL] de la marca Aranda salud animal. Posterior a la pérdida de respuesta a estímulos externos se expuso caja torácica, se perfundió con SSI (100-200 mL) vía intracardiaca para reducir el contenido de sangre en vasos sanguíneos cerebrales. Se decapitaron las ratas, se extrajeron y fijaron los cerebros con paraformaldehído 4 % en solución tamponada de fosfatos (PBS) 1X [0.1 M] pH 7.4 durante al menos 24 h. Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999 y de conformidad con el CICUAL-UNAM.

5.6 Cortes histológicos

Para la obtención de cortes coronales de las regiones de interés, se obtuvieron láminas de 30 μ m de espesor de cada cerebro. Considerando como positivo hacia frontal y negativo hacia caudal respecto al punto de bregma los cerebros se colocaron en una platina fría para posteriormente realizar cortes coronales del Hip dorsal por medio de un vibratomo (Leica VS100). Se utilizaron

las coordenadas - 2.8 a - 4.3 mm y - 4.5 - 5.6 mm, considerando el punto de bregma como la coordenada 0,0. Los cortes de secciones coronales se separaron por regiones de interés en Hip y cortezas según las secciones obtenidas comparadas con el atlas de anatomía cerebral de Paxinos y Watson (2013).

5.7 Manejo de muestras

El procedimiento descrito para la extracción de cerebro se siguió según los procedimientos descritos anteriormente hasta el momento de la extracción. Posteriormente se procedió a la disección de regiones de interés. Se retiraron las regiones correspondientes a Hip, CtxF y Ctx V. Los tejidos obtenidos fueron pesados y homogeneizados en PBS. Los homogeneizados se mantuvieron en hielo y en agitación constante por dos horas a 4 °C. Posteriormente fueron centrifugados a 12,500 rpm durante 30 minutos a 4 °C en centrifuga refrigerada (Thermo Scientific Sorvall ST 8R).

5.8 Cuantificación de proteínas

Se utilizó el método de Bradford para cuantificación de proteínas. Mediante la preparación de una solución de 0.25 µg / µL de albúmina sérica bovina libre de IGG en agua MQ como solvente. La solución stock [0.25 µg /µL] se utilizó para preparar diluciones seriadas 1:2 hasta lograr una concentración de 0.0125 µg /µL. Se utilizó un blanco consistente en agua MQ y las diluciones seriadas por triplicado. Las diluciones seriadas y el blanco se colocaron en placa de fondo plano 96 pozos. En cada pozo se colocaron 20 µL de cada concentración de albúmina por triplicado y se añadieron 180 µL de reactivo de Bradford [1X]. Para cuantificar las muestras de cerebro, se empleó una dilución del sobrenadante de tejidos obtenido como se describe en el apartado de manejo de muestras al que se realizó una dilución 4:80. Se colocaron 20 µL de la dilución de muestras por pozo por triplicado y se añadieron 180 µL de reactivo de Bradford. Las muestras y la curva de calibración generada a partir de las concentraciones seriadas de BSA se leyeron a 630 nm con un lector de placa Dynatech Mr 50000. Se obtuvo la ecuación de la recta a partir de las concentraciones de albúmina. Y mediante el despeje de la ecuación de la recta obtenida se interpoló la concentración de proteínas de las muestras, se realizaron los cálculos pertinentes para determinar concentración por mililitro de sobrenadante.

5.9 Cuantificación de nitritos por método de nitrato - reductasa (GRIESS)

La cuantificación indirecta de la actividad oxidativa de ERNs se realizó con reactivo de Griess. El reactivo se preparó con una solución de N - 1 - (naftil) etilendiamina dihidrocloruro [0.1 % en solución 5 % de HCl] con una solución de sulfanilamida [2 % p / v en 5 % HCl]. Se mantuvieron en refrigeración a 4 °C protegidas de la luz hasta el momento de su uso; éstas se mezclaron inmediatamente antes de realizar la reacción colorimétrica para evitar alteraciones por compuestos como S - nitrosotioles y derivados de la L - arginina.

Se tomaron 50 μL del sobrenadante obtenido mediante homogeneizado y centrifuga (100 g / 20 min) de muestras. Cada muestra se colocó en pozo independiente de microplaca (96 pozos). Se añadieron 50 μL de sulfanilamida al 1.33 % por pozo. Posteriormente se añadió 50 μL de NED 0.1 % por pozo. La placa se leyó a 550 nm. en espectrómetro con lector de microplacas Dynatech Mr 50000. Como estándar se utilizó NaNO_2 0.1 mM en un rango entre 1.56 μM a 100 μM . La concentración se expresó como μmoles de nitrito / L.

5.10 Cuantificación colorimétrica de MDA y 4-HDA

Se usó la reacción de Lambert Beer para cuantificar la lipoperoxidación mediante detección de MDA como se reportó por Monnier et., al (1998) se cuantificó lipoperoxidación mediante detección colorimétrica de malondialdehído y 4 - hidroxí alquénales 4 - HDA. Los aldehídos necesarios para la generación de la curva patrón se obtuvieron a partir de 1,1,3,3-Tetrametoxipropano (TMP) 10 mM como fuente de Malondialdehído (MDA). La solución de MDA se hidrolizó con ácido sulfúrico al 1 % posteriormente, se incubó 2 horas a temperatura ambiente. A partir de dicha solución se generaron las concentraciones para la curva patrón con una lectura mínima de 1 μM / mL a 20 μM / mL para generar curvas con un límite de detección de 0.1 μM . Las muestras se homogeneizaron con PBS 0.1 M pH 7.4. Posterior a la homogeneización del tejido, se centrifugaron 2.5 mL a 500 rpm 4° C. para evitar interacciones con las bases de Schiff, estas se hidrolizaron con HCl pH 1.5 a 60° C. Se tomaron 200 μL del sobrenadante por triplicado. Tanto a las muestras empleadas en la generación de la curva patrón como a las muestras problema se les añadieron 650 μL de N - Metil-2-Fenilindol (NM - 2 - FL) 10 mM. La reacción se desencadenó al añadir 150 μM de ácido metano sulfónico, se incubó a 45° C 30 min. Se midió la absorbancia de la muestra a 570 nm.

5.11 Histoquímica de lectinas

Para realizar el reconocimiento específico de carbohidratos se emplearon las lectinas descritas en la Figura 9. Los cortes se colocaron en placas de 24 pozos de fondo plano. Se colocaron 200 μL de solución de lavado consistente en PBS (0.1 M.) Tween (0.2 %), se realizaron 3 lavados de 5 minutos en agitación constante y se reemplazó la solución de lavado en cada ocasión para eliminar residuos de la solución de criopreservación. Se utilizó solución PBS (0.1 M) con albúmina sérica bovina (BSA) libre de inmunoglobulinas (IgG) al 2 %. durante 1 hora agitación constante se bloquearon uniones inespecíficas. Se realizaron 3 lavados 5 min agitación constante con PBS [0.1 M] se reemplazó la solución en cada lavado para eliminar residuos de los pasos anteriores. La incubación con 200 μL de lectina a una concentración de 1:100 μg de proteína por mL durante 1 hora. Se realizaron 3 lavados con PBS [0.1 M] agitación constante. Posteriormente se incubó con 200 μL de Ficoeritrina Estreptavidina (PE) BioLegend NoCat:405203) a una concentración de 10 μg / mL 2 horas en oscuridad a temperatura ambiente. Se realizaron 3 lavados con PBS [0.1 M].

Los cortes histológicos se montaron en portaobjetos gelatinizados con grenetina, se utilizó DAPI de montaje para marcar núcleos celulares y facilitar la visualización al microscopio. Se colocó un cubreobjetos sobre las muestras y se sellaron con esmalte transparente para evitar la desecación de las muestras. Se tomaron 3 fotografías por región analizada para cada una de las muestras para un total de 12 fotografías por lectina analizada por región para cada condición experimental

Lectina biotinizada	Procedencia	Carbohidrato de reconocimiento específico	Carbohidrato reconocido	Fabricante y No. Catalogo
ALL	<i>Amaranthus leucocarpus</i>	β 1,3 - N-Acetil galactosamina	β - N - Acetil galactosamina	Biotinizada y filtrada mediante columna de afinidad
VVA/VVL	<i>Vicia villosa</i>	α / β - N -Acetil galactosamina	N - Acetil galactosamina total	Vector Laboratories, Inc. B-1235 Lot:ZJ1006
PNA	<i>Arachis hypogaea</i>	Galactosil (β -1,3) N -Acetil galactosamina no sialilados	Galactosa total	Vector Laboratories, Inc. B-1075 Lot:ZJ1103
JAA	<i>Artocarpus integrifolia</i>	Galactosil (β - 1,3) N-Acetil galactosamina O - Glicosilados	α - Galactosa	Vector Laboratories, Inc. Cat. Num:B-1155-5
MAA-II	<i>Maackia amurensis</i>	Galactosil (β -1,4) N - Acetil lactosamina y Ac. siálico en la posición 3 de galactosa	Ac. siálico total Galactosa / Lactosa	E Y Laboratories, Inc. Lot: 300302-2
LTL	<i>Lotus tetragonolobus</i>	L - Fucosa	Fucosa / Arabinosa	Vector Laboratories, Inc. B-1325 Lot:ZH0409
GS-II	<i>Griffonia simplicifolia</i>	α / β -N-Acetil Glucosamina	N-Acetil Glucosamina	E Y Laboratories, Inc. Cat. Num:BA-2402-2 Lot:390316-2
Con A	<i>Canavalia ensiformis</i>	α - Manosa	α - Manosa / Glucosa	

Figura 8.- Tabla descriptiva de lectinas empleadas por procedencia, reconocimiento de carbohidrato específico y fabricante.

mediante microscopía de láser con un microscopio Leica DM2000 en canal de 488 nm y 575 nm. En aumento de 20 x. Las regiones se determinaron mediante los lineamientos del atlas de anatomía de Paxinos & Watson, (2013). El área positiva para lectinas se cuantificó en el software Image J. versión 1.53t F.I.J.I. Se utilizó la herramienta “split channels”, se seleccionó el canal rojo para reducir cuantificaciones por interferencia de luz o inespecífica. Se dividieron las imágenes en cuatro regiones idénticas y se seleccionó el área cuantificable con el comando set

Auto Threshold (“MinError dark no-reset”) se aplicó la selección mediante el comando //run (“Threshold...”) y se cuantificaron los píxeles positivos en las áreas seleccionadas con el comando run (“Measure”, Todas las imágenes se cuantificaron mediante el mismo proceso mediante el uso de una Macro para estandarizar el procedimiento. La media de píxeles por área se colocó en tablas de Excel para organizar los datos, por lectina y tratamiento que permita generar una matriz de condiciones experimentales y detección de fluorescencia. Con base en la media de píxeles por área obtenida se realizó la estadística descrita en el apartado estadístico. Además, se generó un mapa de calor general por regiones para visualizar los datos de manera global.

5.12 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos y gráficas se realizaron con el programa GraphPad PRISM versión 9.1.2. Se realizó el análisis de las pruebas conductuales, nitritos, lipoperoxidación y patrón glicosídico con la finalidad de determinar si había diferencias entre los grupos experimentales. Los datos se expresaron como la media \pm error estándar de la media (ESM) de cada grupo utilizado. Los valores de $P < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos en todas las pruebas. En las pruebas conductuales, para la prueba de campo abierto, se cuantificó el número de detecciones por cuadrante como método para localizar la ubicación espacio - temporal de las ratas. Se analizó mediante una ANOVA de dos vías de medidas repetidas con un post test Dunnett. En la prueba de memoria, se analizó el reconocimiento de objetos y la discriminación de objetos conocidos de los novedosos, mediante T de student de una cola, seguido de un post-test. Los datos obtenidos de la detección de NO_2 por grupo experimental se analizaron mediante una ANOVA de una vía, seguido de post test Dunnet. Los datos obtenidos de la detección de MDA por grupo experimental se analizaron mediante una ANOVA de una vía, seguido de post test Dunnet. Los datos obtenidos de la detección de fluorescencia de PE se analizaron mediante una ANOVA de una vía, seguido de un post test Dunnet. Prueba de normalidad D' Agostino & Pearson.

6 Resultados

6.1 La microinyección del péptido $A\beta_{25-35}$ en ventrículos laterales modifica el comportamiento durante la prueba de campo abierto sin generar daño motor

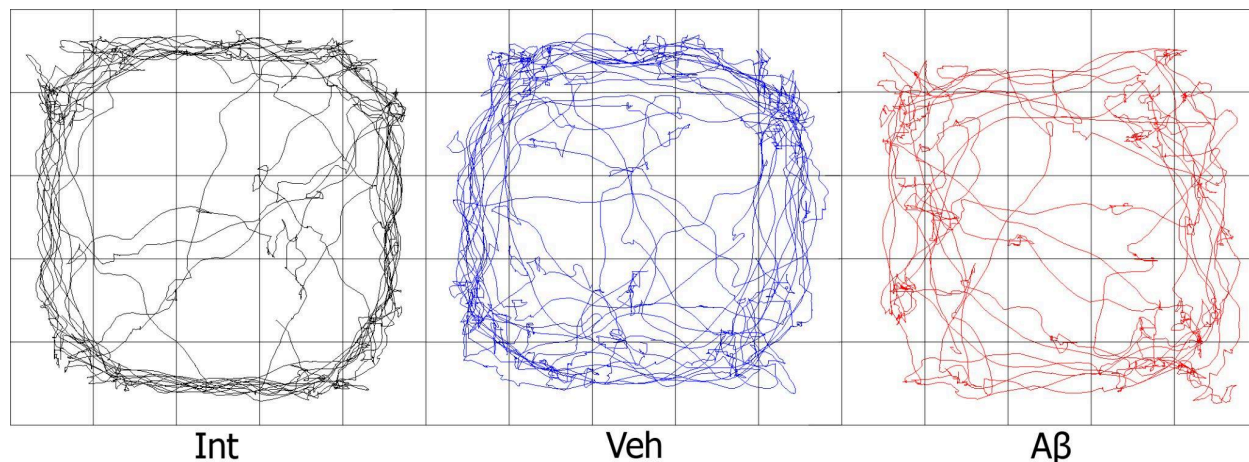


Figura 9.- Esquemas ilustrativos de comportamiento locomotor. Int.- Seguimiento de coordenadas para rata sin intervención. Veh.- Esquema de movimiento de rata con lesión por administración de solución salina. $A\beta$.- Esquema de movimiento de rata administrada con péptido $A\beta_{25-35}$.

El comportamiento y las estereotipias de movilidad se evaluaron mediante la prueba de campo abierto. En la Figura 9 se muestran trayectorias representativas para cada condición experimental, se representa la navegación en el campo de exploración (la totalidad de la base del cubo de acrílico en el que se realiza la prueba) durante un periodo de 5 minutos. Se observa en el grupo $A\beta_{25-35}$ la existencia de un desplazamiento de la periferia hacia el centro del campo de exploración. Además, no presenta una ruta tan marcada como los grupos Veh e Int en el desplazamiento de la periferia del campo de exploración.

6.2 La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en ventrículos laterales no afecta la movilidad de las ratas

Durante la prueba de campo abierto, se evaluó la tigmotaxis de los grupos experimentales y se analizó el desplazamiento basándose en la velocidad y la distancia recorrida para cada grupo experimental. Para representar de manera visual el desplazamiento general por condición experimental se dividió el campo de exploración de 50 x 50 cm en cuadrantes de 2.5 x 2.5 cm, a partir de estas divisiones se generó un mapa de calor al cuantificar el número promedio de detectadas de coordenadas por cuadrante como se muestra en la parte superior de la Figura 11 incisos. A partir de las coordenadas, se promedió el número de eventos de detección por región como se observa en la parte inferior de la Figura 10. Los mapas de calor por regiones permiten observar una tendencia de actividad mayor en regiones centrales para el grupo $A\beta_{25-35}$. Se evaluó

el tiempo transcurrido en cada cuadrante, así como la relación entre cuadrantes interiores y exteriores con base en el valor del porcentaje total de detecciones para cada región. Para descartar que los cambios en el desplazamiento locomotor sean debido a un daño generado por la inoculación en regiones cercanas a la corteza motora se comparó el resultado de los grupos grupo Int contra los grupos Veh y $A\beta_{25-35}$. Mediante los datos obtenidos de las coordenadas, se utilizó la herramienta de calibración de distancias del programa Tracker para determinar distancias y velocidades para cada prueba realizada.

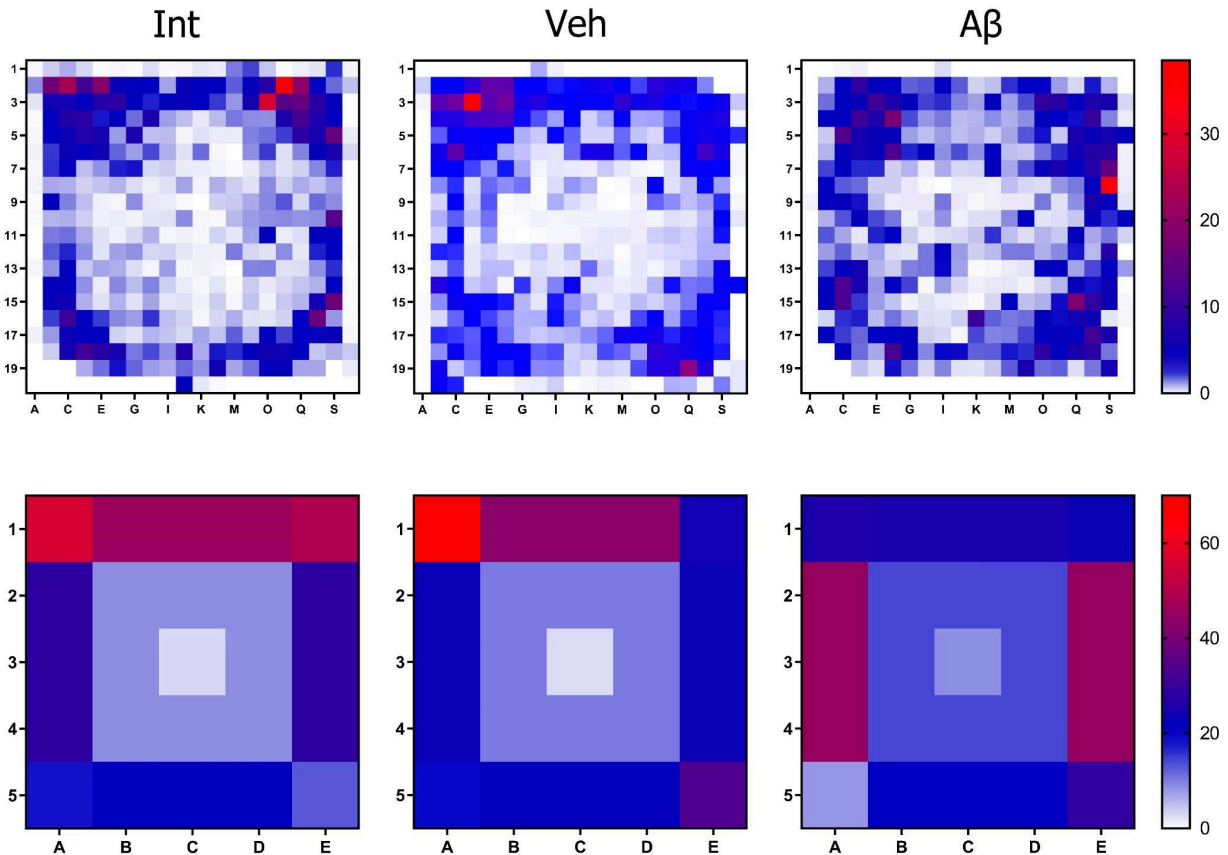


Figura 10. Mapas de calor generados a partir del promedio de coordenadas para cada condición experimental. En la parte superior: El campo fue dividido en 400 cuadrantes en una rejilla 20 x 20 de 2.5 x 2.5 cm por cuadrante para cada condición experimental. En la parte inferior, el campo fue dividido en regiones de interés: I esquinas, II pasillos, III región central y IV centro.

La suma de la distancia entre los puntos de detección de movimiento de las ratas por condición experimental se registró y analizó mediante ANOVA de una vía (Figura 11). Se realizaron los comparativos de las medias contra el grupo Int, la suma de las distancias entre los puntos se determinó como recorrido. Los recorridos registrados presentaron distancias entre los 13.24 a 22.5 m para el grupo Int, 16.41 a 30.14 m para el grupo Veh y 15.17 a 24.4 m para el grupo $A\beta_{25-35}$. No se observaron diferencias estadísticamente significativas para los grupos Int ni $A\beta_{25-35}$ (prueba post - hoc, Dunnett $p > 0.05$).

La velocidad promedio de los movimientos de las ratas se determinó con base en las velocidades promedio de desplazamiento entre cada punto. Las velocidades promedio registradas por condición experimental fueron; para el grupo Int de 0.0647 ± 0.00840 m / s para el grupo Int, de 0.0682 ± 0.0101 m / s para el grupo Veh y 0.0603 ± 0.00656 m / s para el grupo $A\beta_{25-35}$. Al realizar el análisis de la velocidad promedio por condición experimental del recorrido no se encontró diferencia estadísticamente significativa al realizar ANOVA de una vía (prueba post - hoc, Dunnett $p > 0.05$). Por lo que, se considera que no existe diferencia entre la movilidad de los diferentes grupos experimentales (Figura 11). De esta manera se determinó la ausencia de una lesión en corteza motora y premotora debido a los procedimientos de generación de modelo.

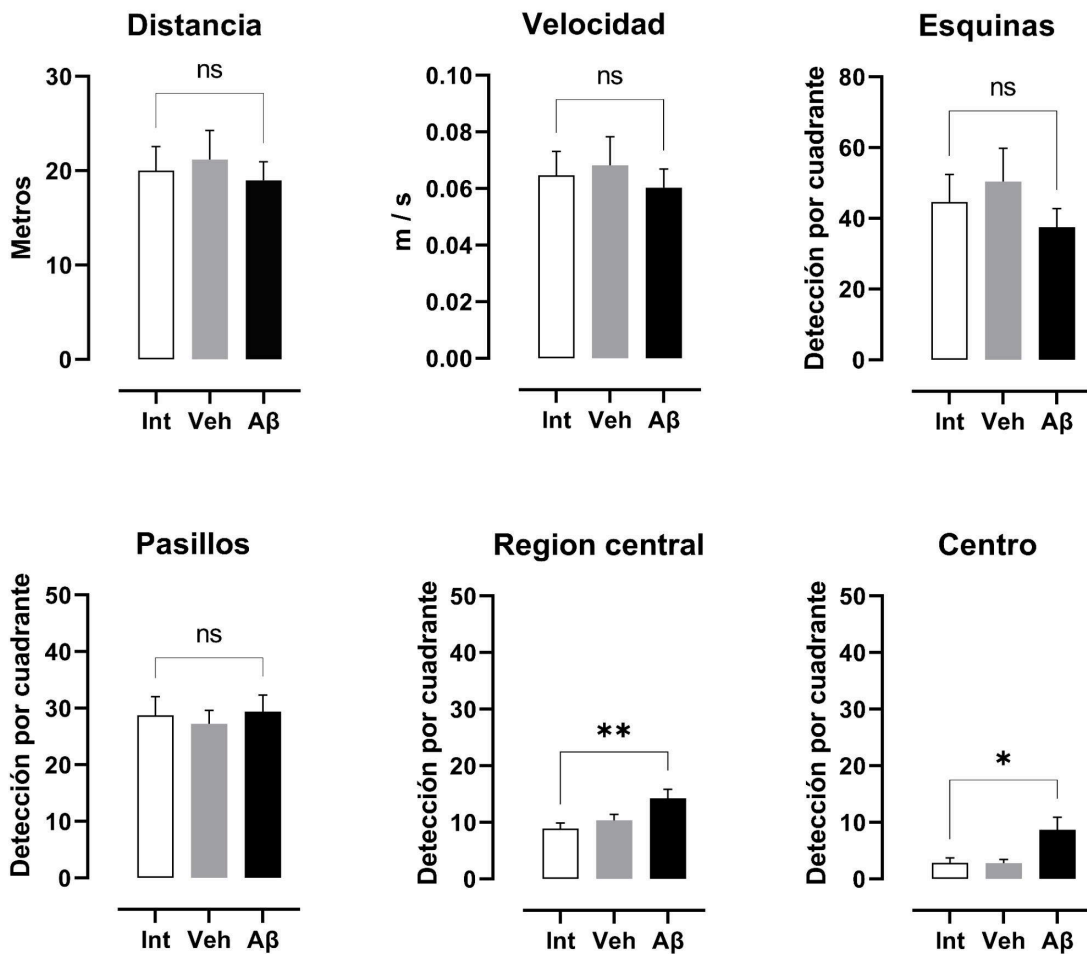


Figura 11.- La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en ventrículos laterales modifica el desplazamiento en la prueba de campo abierto. Panel superior: Distancia de recorrido en metros después de 5 minutos en campo abierto por condición experimental. Velocidad de recorrido en metros / segundo después de 5 minutos en campo abierto por condición experimental. Cuantificación por coordenada para cada condición en las diferentes regiones.

Para analizar el desplazamiento regional, las detecciones por región se analizaron mediante ANOVA de una vía. Para las regiones I y II correspondientes a los pasillos y esquinas, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (prueba post - hoc, Dunnett $p > 0.05$).

Con un promedio de detección en la región I; de 44.6 ± 7.79 para el grupo Int, de 50.4 ± 9.43 para el grupo Veh y de 37.4 ± 5.31 para el grupo $A\beta_{25-35}$. Región II; de 28.8 ± 3.28 para el grupo Int, de 27.3 ± 2.35 para el grupo Veh y de 29.4 ± 2.88 para el grupo $A\beta_{25-35}$. En las regiones III y IV representadas región central y centro respectivamente presentan un incremento de detección para el grupo $A\beta_{25-35}$ lo que indica diferencias estadísticamente significativas al realizar ANOVA de una vía (prueba post - hoc de Dunnett) con una $p < 0.01$ para la región III y $p < 0.05$ para la región IV. Región III; de 8.92 ± 0.979 para el grupo Int, de 10.3 ± 1.07 para el grupo Veh y de 14.3 ± 1.59 para el grupo $A\beta_{25-35}$. Región IV; de 2.86 ± 0.848 para el grupo Int, de 2.78 ± 0.645 para el grupo Veh y de 8.70 ± 2.21 para el grupo $A\beta_{25-35}$.

6.3 La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en ventrículos laterales genera daño sobre la memoria a largo plazo en la prueba de RON

El estudio de la memoria a largo plazo se analizó mediante la prueba de RON. En la Figura 12, se muestra el IP asociado a cada objeto para los diferentes grupos experimentales durante la etapa de aprendizaje y memoria. Al realizar la etapa de aprendizaje no se encontró variación estadísticamente significativa entre los IP de los objetos “a” y “b” (T de student de una cola $p > 0.05$) para ningún grupo experimental. Las medias de IP por grupo experimental durante la fase de aprendizaje fueron; 0.5136 para el objeto “a” y de 0.4864 para el objeto “b” ($ESM \pm 0.03590$) en el grupo Int, 0.5211 para el objeto “a” y de 0.4789 para el objeto “b” ($ESM \pm 0.04210$) en el grupo Veh y 0.5062 para el objeto “a” y de 0.4938 para el objeto “b” ($ESM \pm 0.02628$) en el grupo $A\beta_{25-35}$.

Durante la etapa de “Memoria” se espera que los ejemplares presenten un mayor interés por el objeto novedoso (“c”). Al realizar pruebas estadísticas (T de student de una cola). Las medias de IP por grupo experimental durante la fase de memoria fueron; 0.4198 para el objeto “a” y de 0.5802 para el objeto “c” ($ESM \pm 0.02507$ $p < 0.01$) en el grupo Int, 0.4713 para el objeto “a” y de 0.5287 para el objeto “c” ($ESM \pm 0.01915$ $p < 0.05$) en el grupo Veh y 0.4835 para el objeto “a” y de 0.5165 para el objeto “c” ($ESM \pm 0.02075$ $p > 0.05$) en el grupo $A\beta_{25-35}$. Los grupos Int y Veh presentaron un mayor reconocimiento del objeto novedoso, representado en una mayor interacción con el objeto “c”. Por el contrario, el grupo $A\beta_{25-35}$ no presentó diferencia estadísticamente significativa en su índice de IP. Este fallo en el reconocimiento de estructuras previamente presentadas a las ratas administradas con el péptido $A\beta_{25-35}$ indica el fallo de la memoria a largo plazo.

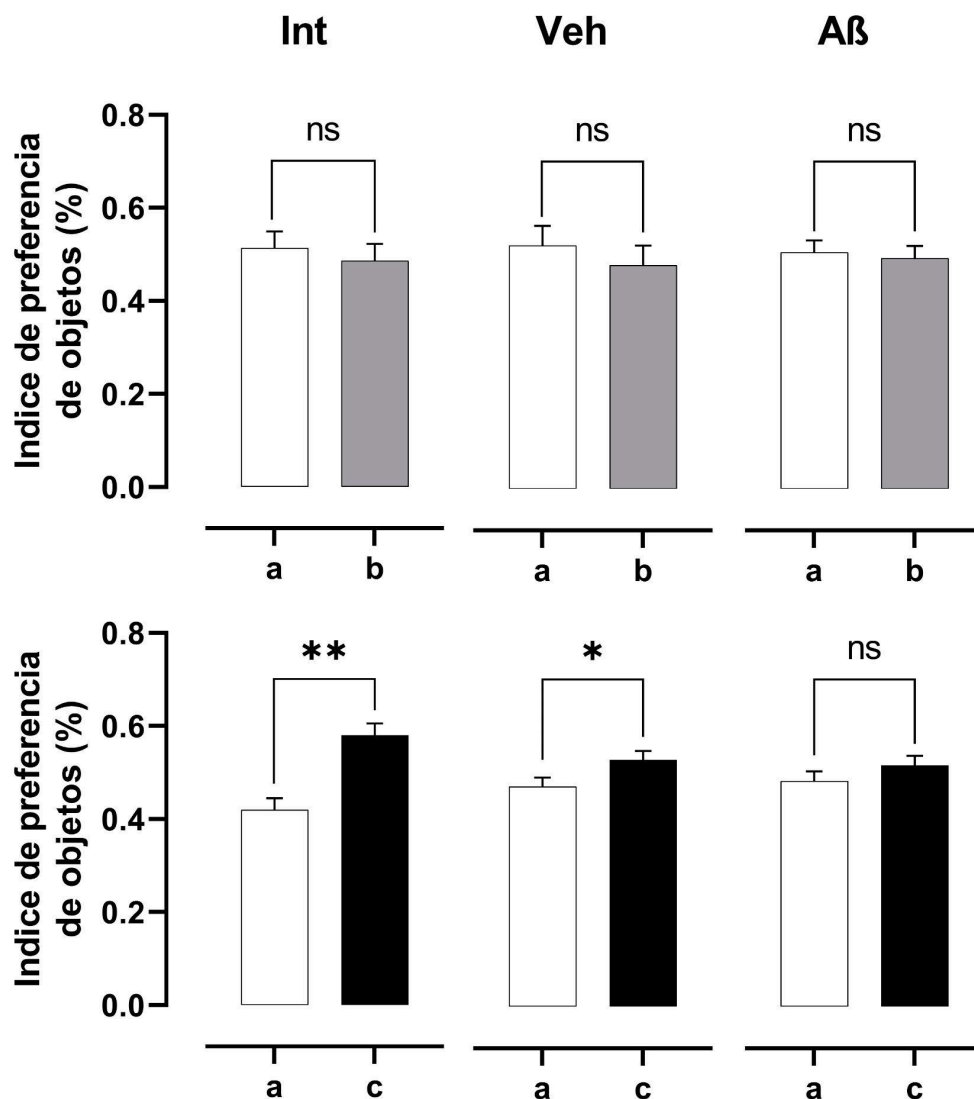


Figura 12.- La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en ventrículos laterales altera la memoria y reconocimiento de objetos en la prueba de RON. Parte superior resultados de IP durante la etapa de aprendizaje analizados. En la parte inferior se presentan los gráficos para los resultados de IP en la etapa de memoria (T de student una cola).

6.4 El péptido $A\beta_{25-35}$ incrementa el estrés oxidativo en el Hip, la CtxV y la CtxF

Mediante la técnica de Griess, se evaluaron los residuos de la actividad nitrificante de diversas ERNs mediante reacción de nitrato reductasa. En la Figura 13, se presenta el análisis estadístico de la evaluación de NO_2 en extractos citoplasmáticos del Hip, CtxV y CtxF. En ninguna región evaluada se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el grupo Veh respecto al Intacto ANOVA de una vía (prueba post - hoc, Dunnett $p > 0.05$).

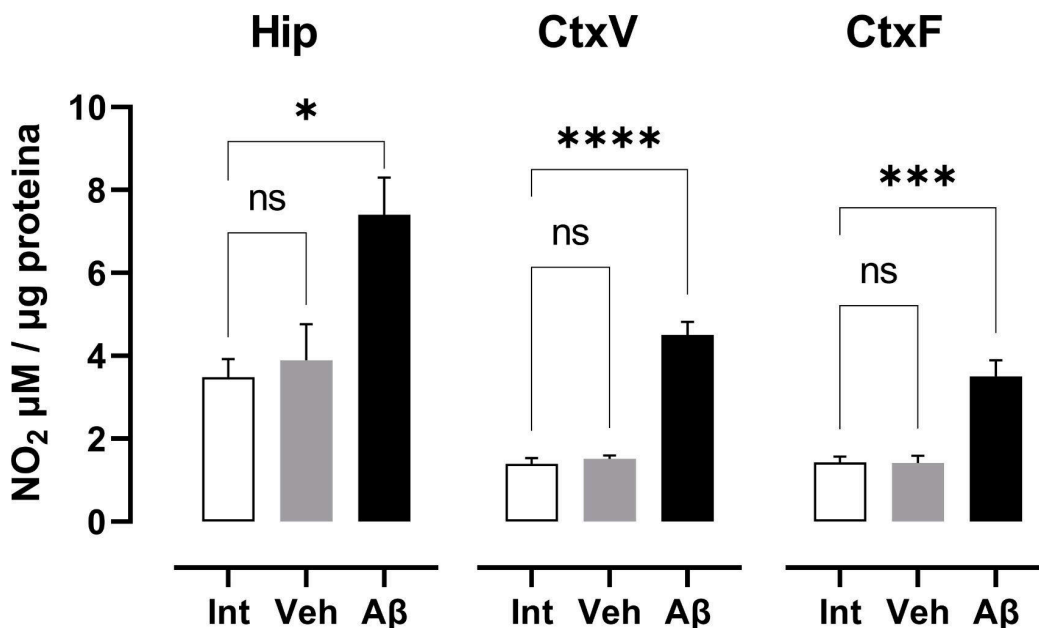


Figura 13.- El péptido A β_{25-35} incrementa la detección de NO₂ por μg de proteína en las regiones analizadas. Concentración de NO₂ por μg de proteína para cada región por condición experimental.

En la región hipocampal, el grupo Veh presentó una media de 3.891 μg NO₂ / μg proteína (ESM \pm 0.874) respecto al grupo Int con una media de 3.490 μg NO₂ / μg proteína (ESM \pm 0.436). Mientras que el grupo A β_{25-35} con una media de 7.400 μg NO₂ / μg proteína (ESM \pm 1.793) lo que indica un incremento en la concentración de NO₂ del 212.03 % respecto al grupo Int por lo que se considera que la concentración del grupo A β_{25-35} es diferente de forma estadísticamente significativa con una $p < 0.05$ mediante ANOVA de una vía (post - hoc Dunnett).

En CtxV, el grupo Veh presentó una media de 1.52 μg NO₂ / μg proteína (ESM \pm 0.0813) respecto al grupo Int con una media de 1.39 μg NO₂ / μg proteína (ESM \pm 0.143) evaluado mediante ANOVA de una vía (post - hoc Dunnett). Mientras que el grupo A β_{25-35} con una concentración de 4.51 μg NO₂ / μg proteína (ESM \pm 0.313) lo que indica un incremento en la concentración de NO₂ del 296.71 % respecto al grupo Int esencialmente 3 veces por lo que se considera que la concentración del grupo A β_{25-35} es diferente de forma estadísticamente significativa con una $p < 0.0001$ mediante ANOVA de una vía (post - hoc Dunnett) para la CtxV y $p < 0.001$.

En CtxF, el grupo Veh presentó una media de 1.41 μg NO₂ / μg proteína (ESM \pm 0.176) respecto al grupo Int con una media de 1.43 μg NO₂ / μg proteína (ESM \pm 0.144) evaluado mediante ANOVA de una vía (post - hoc Dunnett). Mientras que el grupo A β_{25-35} con una media de 3.50 μg NO₂ / μg proteína (ESM \pm 0.396) lo que indica un incremento en la concentración de NO₂ del 248.22 % respecto al grupo Int por lo que se considera que en CtxF la concentración del grupo

$A\beta_{25-35}$ es diferente de forma estadísticamente significativa con una $p < 0.0001$ mediante ANOVA de una vía (post - hoc Dunnett).

6.5 El péptido $A\beta_{25-35}$ incrementa la lipoperoxidación en el Hip, la CtxV y la CtxF

Se determinó el incremento de la lipoperoxidación en las distintas regiones cerebrales estudiadas mediante cuantificación de MDA. En la Figura 14, se puede observar la cuantificación de MDA / μg de proteína para cada condición experimental por región cerebral. En el Hip, se aprecia un incremento de la lipoperoxidación considerable tanto para el grupo Veh como $A\beta_{25-35}$ respecto al grupo Int. El promedio de detección de MDA; para el grupo Int $0.420 \pm 0.0214 \mu\text{g MDA} / \mu\text{g}$ proteína, para el grupo Veh $0.940 \pm 0.00590 \mu\text{g MDA} / \mu\text{g}$ proteína y para el grupo $A\beta_{25-35}$ $2.55 \pm 0.136 \mu\text{g MDA} / \mu\text{g}$ proteína. Al realizar ANOVA de una vía se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el grupo Veh en esta región con una $p < 0.01$ Int vs Veh (prueba post - hoc, Dunnett). En las cortezas a diferencia del Hip no se encontró variación estadísticamente significativa para los grupos Veh (prueba post - hoc, Dunnett $p > 0.05$). Por su parte, la cuantificación de MDA para los grupos $A\beta_{25-35}$ se vio incrementada en todas las regiones cerebrales analizadas. En Hip la cuantificación de MDA presentó un promedio de $2.55 \mu\text{g}$ por μg de proteína (ESM ± 0.136) que respecto a los $0.420 \mu\text{g}$ por μg de proteína del grupo Int presentó un incremento del 607.14 % que para el análisis realizado mediante ANOVA de una vía (prueba post - hoc Dunnett) difiere del grupo Int con una $p < 0.0001$.

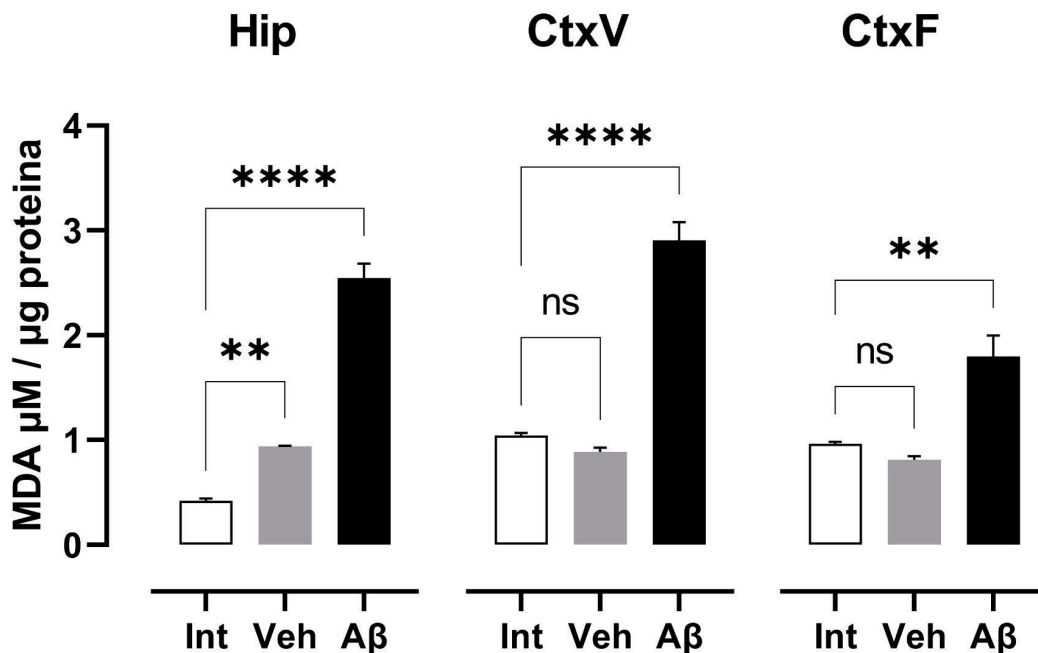


Figura 14.- El péptido $A\beta_{25-35}$ incrementa la lipoperoxidación en las regiones analizadas. Concentración de MDA por μg de proteína para cada región por condición experimental.

Para CtxF un incremento promedio en el grupo $A\beta_{25-35}$ de 1.80 μg de MDA por μg de proteína (ESM \pm 0.200) que respecto a los 0.964 μg de MDA por μg de proteína (ESM \pm 0.019) del grupo Int representa un incremento del 186.72 % con una $p < 0.01$ al realizar ANOVA de una vía (prueba post hoc Dunnett). En CtxV, se observó un incremento promedio en el grupo $A\beta_{25-35}$ de 2.91 μg de MDA por μg de proteína (ESM \pm 0.172) que respecto a los 1.04 μg de MDA por μg de proteína (ESM \pm 0.026) representan un incremento del 279.8 % con una $p < 0.01$ al realizar ANOVA de una vía (prueba post hoc Dunnett). Por los datos anteriores se considera la existencia de un incremento generalizado de la lipoperoxidación en encéfalo causado por la actividad del péptido $A\beta_{25-35}$.

6.6 La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en ventrículos laterales modifica los patrones de glicosilación en Hip, CtxV y CtxF

La inflamación y la lipoperoxidación generada por la administración del péptido $A\beta_{25-35}$, genera desequilibrio redox que modifica el metabolismo celular. La técnica de microscopía mediante lectinas biotiniladas unidas a PE permitió cuantificar la unión específica a carbohidratos de cada lectina empleada. En la Figura 15 se muestran los mapas de calor para la detección de lectinas en diferentes regiones del Hip y corteza cerebral.

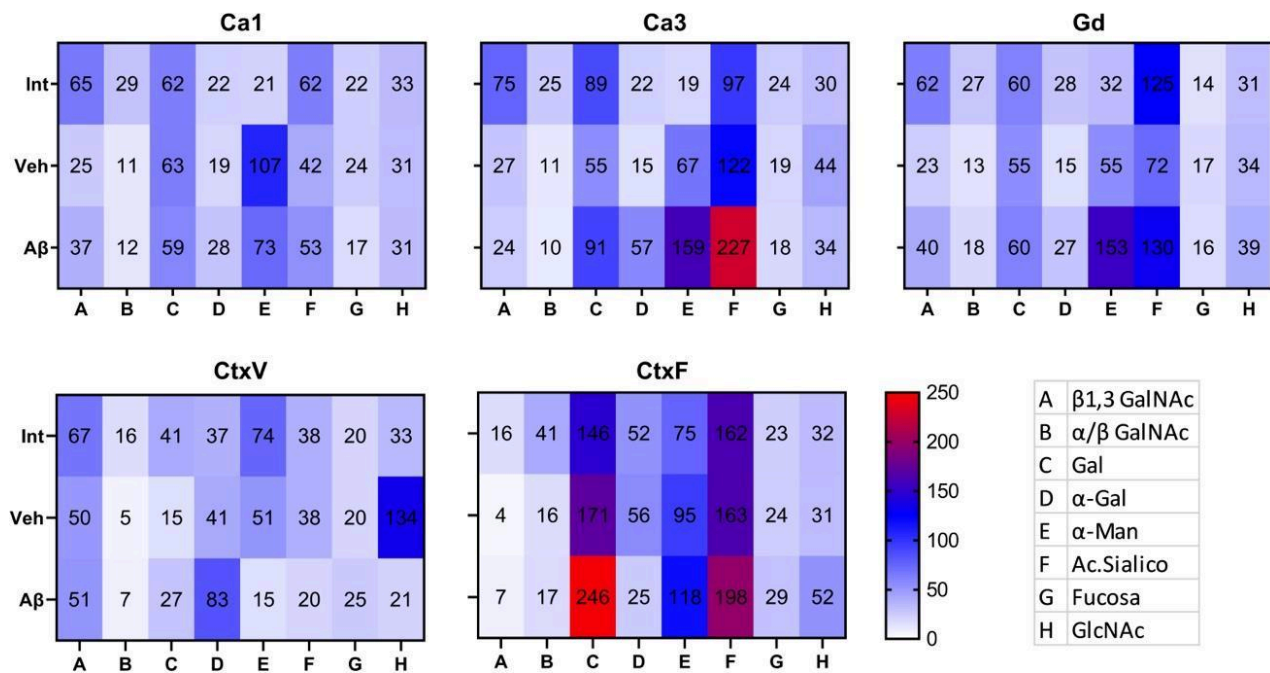


Figura 15.- La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ modifica los patrones de glicosilación por estructura cerebral. Parte superior muestra los promedios de detección de fluorescencia por grupo experimental, parte inferior promedios de detección de fluorescencia por grupo experimental para regiones corticales.

En la región CA1 del Hip resalta la reducción en la detección de fluorescencia para lectinas que reconocen GalNAc y el incremento en la fluorescencia de α -manosas tanto para el grupo Veh como para el grupo $A\beta_{25-35}$. Además, se aprecia una reducción en la detección de fluorescencia de lectinas que reconocen L - Fucosas en el grupo $A\beta_{25-35}$. La región CA3 presentó variaciones en los patrones de glicosilación similares a las anteriormente señaladas para la región CA1. Las tendencias en la reducción de fluorescencia para lectinas que reconocen GalNAc se ve reducida y aumenta la fluorescencia para α -manosas en los grupos Veh y $A\beta_{25-35}$. Además de las tendencias similares a las presentadas en la región CA1 en la región CA3 del Hip resalta un incremento en la detección de Ac. siálico 2,3 y α - galactosas para el grupo $A\beta_{25-35}$ en estas regiones. En la región del GD del Hip, la tendencia en la reducción de fluorescencia para las lectinas que reconocen GalNAc y aumento en la fluorescencia de lectinas que reconocen α - manosas en los grupos Veh y $A\beta_{25-35}$ se mantiene. Se observa además un aumento de fluorescencia asociada al reconocimiento de GlcNAc para el grupo $A\beta_{25-35}$.

Para las modificaciones a nivel de CtxV, se observa la reducción en el marcaje de lectinas asociadas al reconocimiento de GalNAc para los grupos Veh y $A\beta_{25-35}$, lo que se ve reforzado al comparar con la tendencia previamente descrita para las regiones hipocampales. Reducción generalizada en la detección de fluorescencia asociada a lectinas que reconocen α / β GalNAc, galactosas, manosas, Ac siálico 2,3 y GlcNAc. Mientras que para la detección de fluorescencia de CtxF presenta un incremento en la fluorescencia para las lectinas que reconocen galactosas y α - manosas en los grupos Veh y $A\beta_{25-35}$. Reducción en la fluorescencia de α - galactosas y un incremento de la detección de fluorescencia para lectinas que reconocen Ac. siálico 2,3 y GlcNAc para el grupo $A\beta_{25-35}$.

6.7 Los carbohidratos se modifican de forma distinta en función de la región y el carbohidrato analizado debido a la administración del péptido $A\beta_{25-35}$ y el procedimiento de administración

Empleando el mapa de calor de la Figura 15 se observaron diversas modificaciones en la detección de fluorescencia de PE por Lectina. Para determinar la existencia de cambios estadísticamente significativos entre los grupos experimentales se realizó ANOVA de una vía a las detecciones de fluorescencia de las micrografías analizadas por grupo experimental y por lectina. Se presentan las micrografías que ilustran las regiones analizadas.

6.7.1 La detección de GalNAc se regula a la baja por el procedimiento de administración

En las Figuras 16 y 17 se presentan las detecciones de fluorescencia para GalNAc en distintas conformaciones. Para la lectina de ALL en conformación Gal β 1,3 - GalNAc y para VVA las conformaciones α / β - GalNAc terminales.

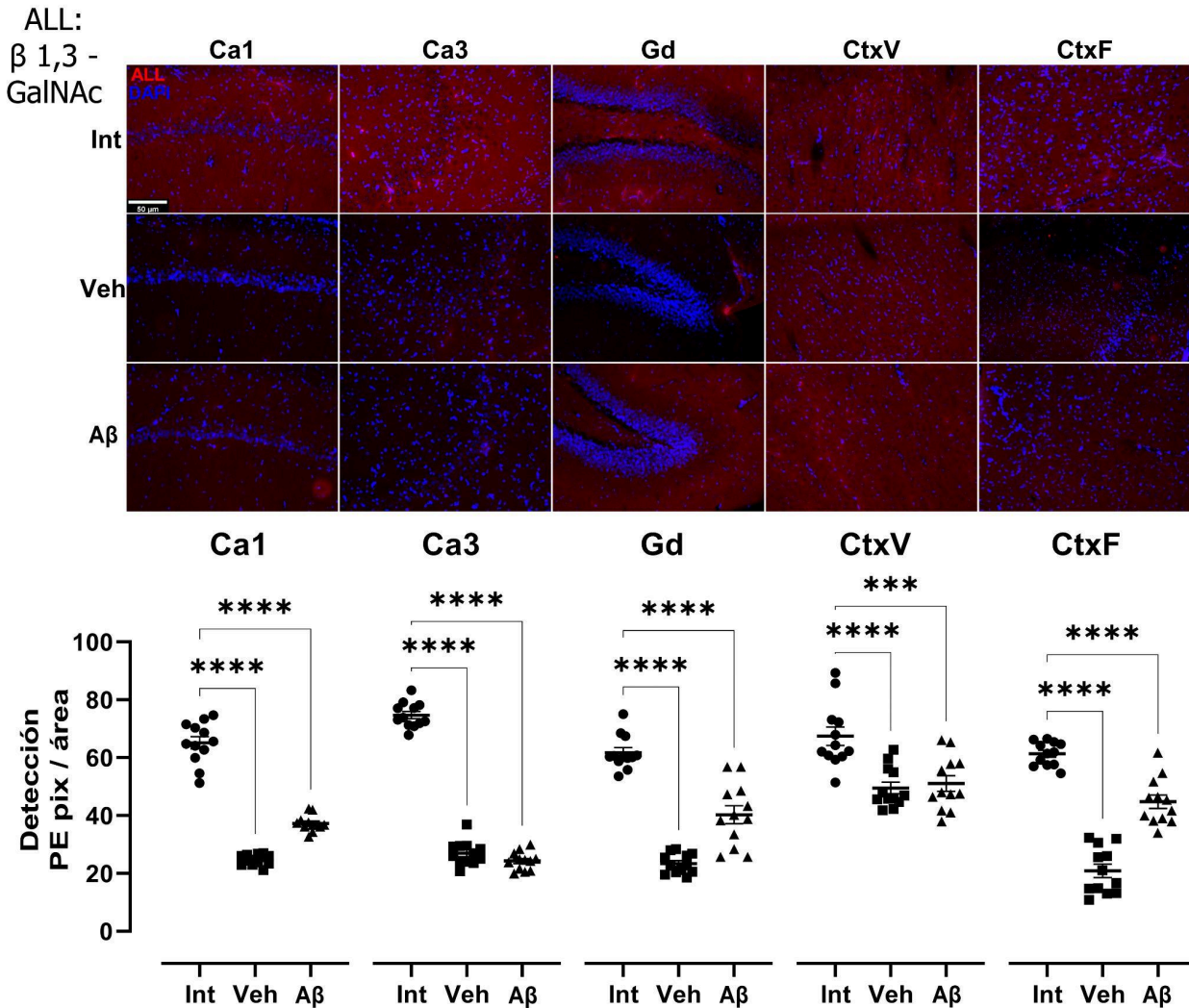


Figura 16. - El proceso de administración modifica la detección de β 1,3-GalNAc por ALL. Parte superior: micrografías 20x de las diferentes regiones analizadas por tratamiento. En rojo se presenta la fluorescencia de PE reconocimiento de la unión de ALL. En azul DAPI reconocimiento de núcleos celulares. Parte inferior: gráficas por regiones y condición experimental. ANOVA de una vía ± EEM.

En la región CA1 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 65.13 pix / a (± 2.092) para el grupo Int, 24.65 pix / a (± 0.5326) para el grupo Veh y 37.27 pix / a (± 0.7958) para el grupo A β_{25-35} . Esto representa tan solo el 36 % de la detección en el grupo Veh en esta región y del 56 % de la detección del grupo Int para el grupo A β_{25-35} . En la región CA3 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 74.68 pix / a (± 1.248) para el grupo Int, 27.02 pix / a (± 1.203) para el grupo Veh y 24.26 pix / a (± 0.9085) para el grupo A β_{25-35} . Esto representa tan solo el 36 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de ALL del para el grupo Veh en esta región y el 32 % de la detección del grupo Int para el grupo A β_{25-35} . En la región del GD del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 61.74 pix / a (± 1.694) para el grupo Int, 23.39 pix / a (± 0.9967) para el grupo Veh y 40.27 pix / a (± 3.130) para el grupo A β_{25-35} . Esto representa tan

solo el 37 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de ALL del para el grupo Veh en esta región y el 65 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$. En CtxV, las detecciones de fluorescencia fueron; 67.4 pix / a (± 3.19) para el grupo Int, 49.5 pix / a (± 2.02) para el grupo Veh y 51.1 pix / a (± 2.69) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa tan solo el 37 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de ALL del para el grupo Veh en esta región y el 65 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$. En CtxF, las detecciones de fluorescencia fueron; 61.36 pix / a (± 1.180) para el grupo Int, 20.90 pix / a (± 2.320) para el grupo Veh y 44.75 pix / a (± 2.318) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa tan solo el 32 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de ALL del para el grupo Veh en esta región y el 72 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$.

El comportamiento demostrado por la lectina de ALL es similar al observado para la lectina de VVA Figura 17. Si bien, de forma general ambas lectinas presentan una menor detección de fluorescencia los patrones en la reducción de estos son distintos entre regiones. En la región CA1 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 26.4 pix / a (± 0.634) para el grupo Int, 12.3 pix / a (± 0.774) para el grupo Veh y 16.7 pix / a (± 0.373) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa tan solo el 46 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de VVA del para el grupo Veh en esta región y del 61 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$. En la región CA3 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 24.9 pix / a (± 0.593) para el grupo Int, 11.5 pix / a (± 0.242) para el grupo Veh y 10.5 pix / a (± 0.613) para el grupo $A\beta_{25-35}$.

Esto representa tan solo el 45 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de VVA del para el grupo Veh en esta región y el 41 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$. En la región del GD del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 27.9 pix / a (± 0.772) para el grupo Int, 13.9 pix / a (± 0.407) para el grupo Veh y 16.7 pix / a (± 0.569) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa tan solo el 48% de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de VVA del para el grupo Veh en esta región y el 59 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$. En CtxV, las detecciones de fluorescencia fueron; 16.4 pix / a (± 0.660) para el grupo Int, 5.28 pix / a (± 0.669) para el grupo Veh y 6.65 pix / a (± 0.357) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa tan solo el 31 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de VVA del para el grupo Veh en esta región y el 37 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$. En CtxF, las detecciones de fluorescencia fueron; 40.7 pix / a (± 3.89) para el grupo Int, 16.1 pix / a (± 1.14) para el grupo Veh y 17.3 pix / a (± 2.68) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa tan solo el 40 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de VVA del para el grupo Veh en esta región y el 42 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$.

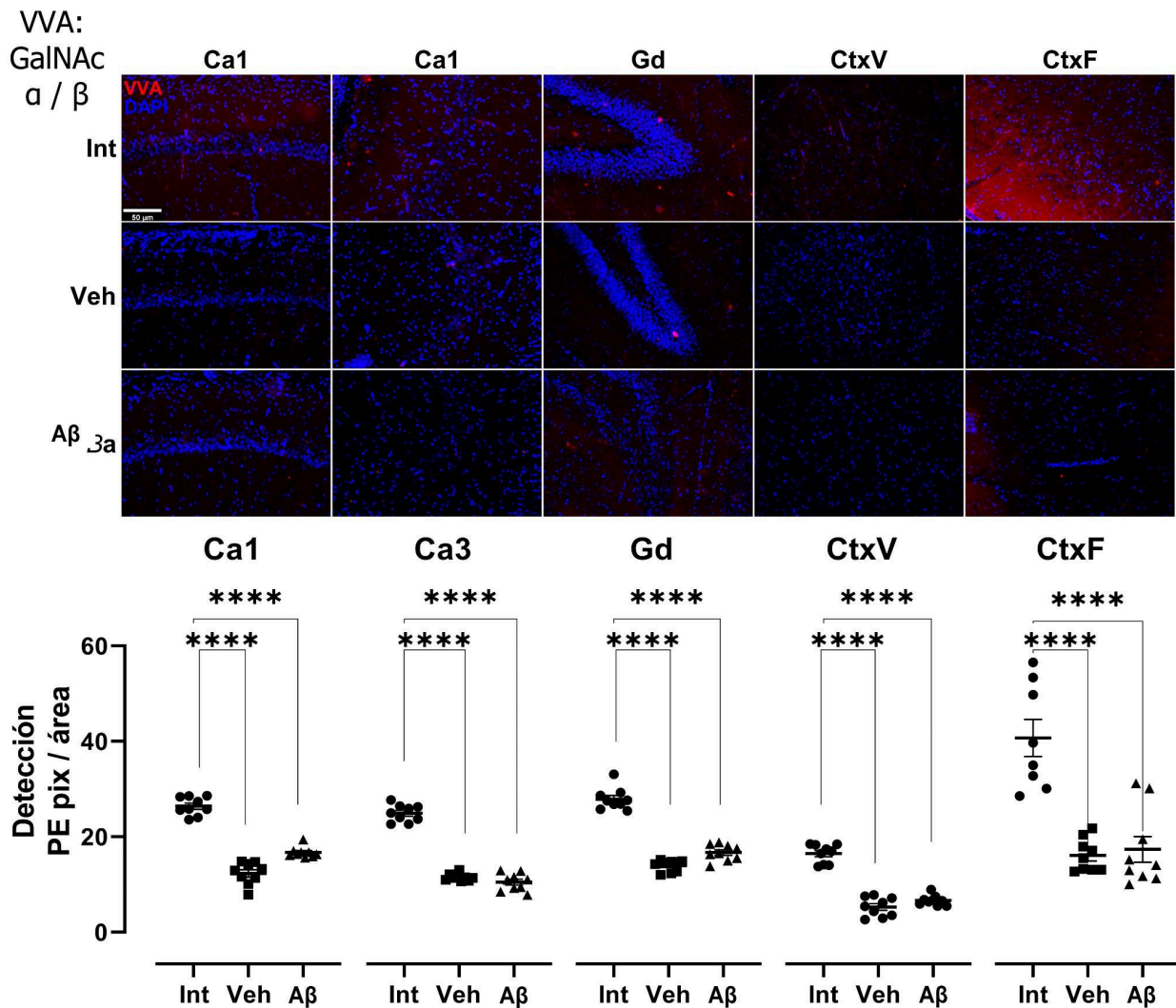


Figura 17.- El proceso de administración modifica la detección de GalNAc α / β por VVA. Parte superior: micrografías 20x de las diferentes regiones analizadas por tratamiento. En rojo se presenta la fluorescencia de PE reconocimiento de la unión de VVA. En azul DAPI reconocimiento de núcleos celulares. Parte inferior: gráficas por regiones y condición experimental. ANOVA de una vía \pm EEM.

6.7.2 Los patrones de galactosa se modifican de forma distinta por la administración del péptido A β_{25-35} en función a la lectina de reconocimiento

En la Figura 18, se observan las detecciones de fluorescencia de PE para la lectina de PNA que reconoce galactosil $\beta - 1,3$ N - Acetil galactosamina no sialilados. Por otro lado, en la Figura 19 se presenta la detección de fluorescencia para la lectina de JAA-I que reconoce galactosil ($\beta - 1,3$) N-Acetil galactosamina O - Glicosilados. Se observan comportamientos distintos en las modificaciones de los patrones de glicosilación dependientes de la lectina utilizada.

Para la lectina de PNA se analizaron mediante ANOVA de una vía (prueba post - hoc Dunnett) en la región CA1 , los reconocimientos por región fueron; 72.30 pix / a (\pm 5.222) para el grupo Int, 64.98 pix / a (\pm 2.713) para el grupo Veh y 55.19 pix / a (\pm 2.118) para el grupo A β_{25-35} . Esto

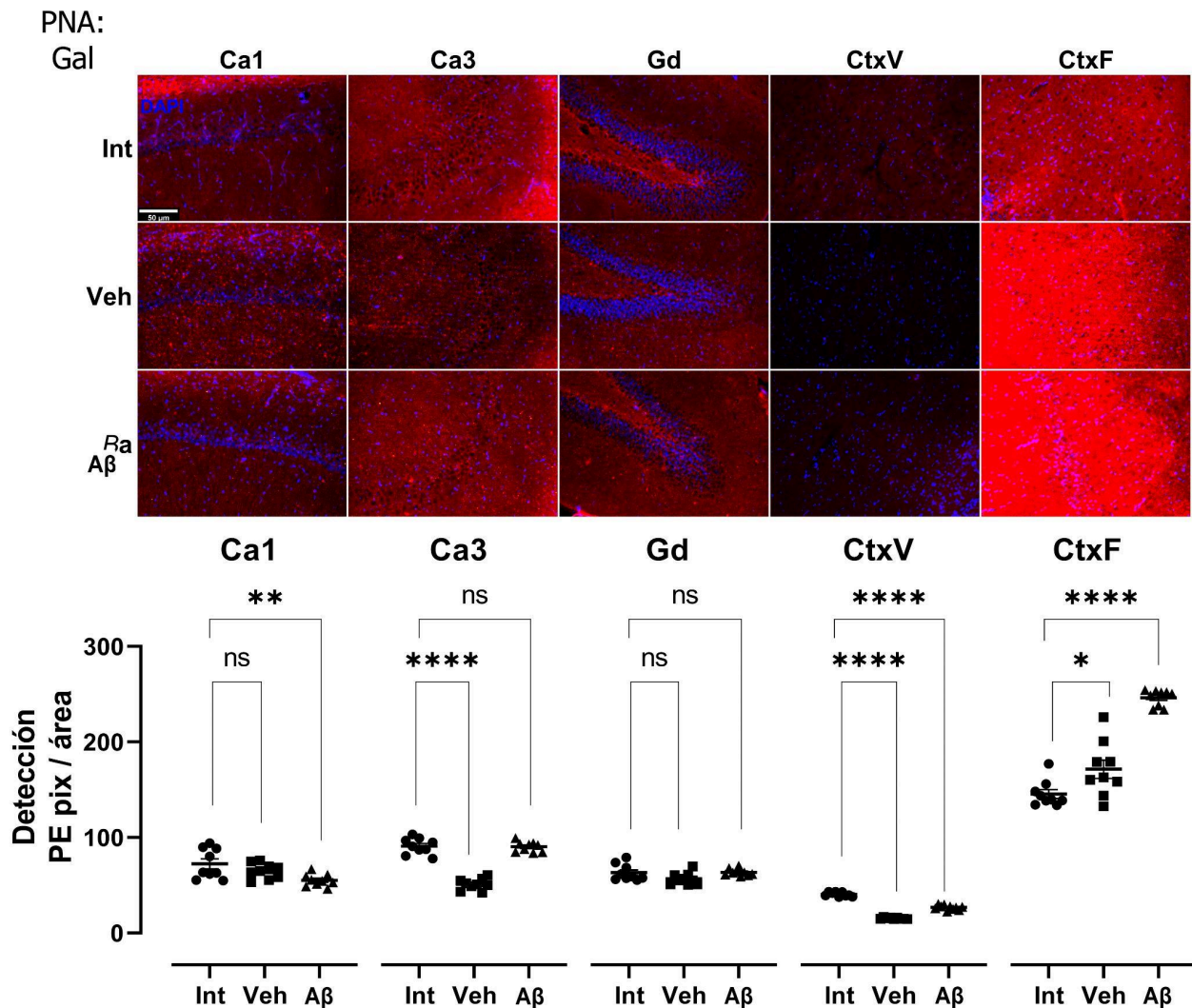


Figura 18.- La administración del péptido Aβ₂₅₋₃₅ reduce la detección de Galactosil β-1,3 N - Acetil galactosamina no sialilados en la región CA1 y aumenta en la región de la CtxF por PNA. Parte superior: micrografías 20x de las diferentes regiones analizadas por tratamiento. En rojo se presenta la fluorescencia de PE reconocimiento de la unión de PNA. En azul DAPI reconocimiento de núcleos celulares. Parte inferior: gráficas por regiones y condición experimental. ANOVA de una vía ± EEM.

representa el 88 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de PNA del para el grupo Veh en esta región ($p > 0.05$) y esto representa solo el 76 % de la detección del grupo Int para el grupo Aβ₂₅₋₃₅ ($p < 0.01$). En la región CA3 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 90.88 pix / a (± 2.819) para el grupo Int, 51.10 pix / a (± 1.972) para el grupo Veh y 90.32 pix / a (± 1.762) para el grupo Aβ₂₅₋₃₅. Esto representa tan solo el 56 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de PNA del para el grupo Veh en esta región ($p < 0.0001$) y el grupo Aβ₂₅₋₃₅ permaneció con la misma detección de fluorescencia que el grupo Int ($p > 0.05$). En la región del GD del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 63.1 pix / a (± 2.86) para el grupo Int, 56.7 pix / a (± 2.07) para el grupo Veh y 63.5 pix / a (± 1.21) para el grupo Aβ₂₅₋₃₅. Esto representa el 88 % de la detección en el grupo Int en la

detección de fluorescencia de PNA del para el grupo Veh en esta región y lo que representa la misma detección para el grupo A β 25-35 e Int ($p > 0.05$). En CtxV, las detecciones de fluorescencia fueron; 40.5 pix / a (± 0.753) para el grupo Int, 15.4 pix / a (± 0.267) para el grupo Veh y 26.8 pix / a (± 0.799) para el grupo A β 25-35. Esto representa tan solo el 37 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de PNA del para el grupo Veh en esta región ($p < 0.0001$) y el 65 % de la detección del grupo Int para el grupo A β 25-35 ($p < 0.0001$).

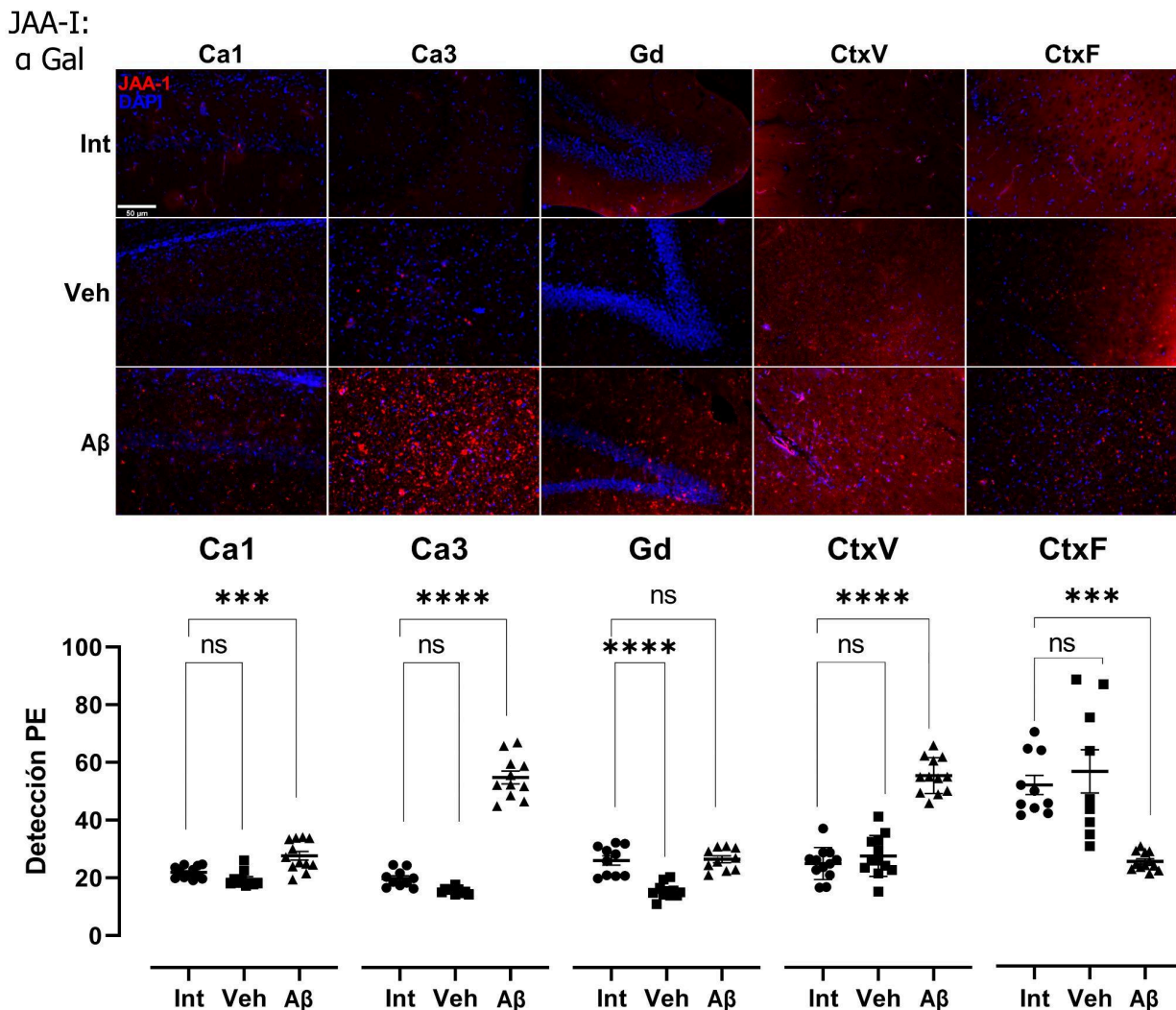


Figura 19.- El proceso de administración modifica la detección de galactosil ($\beta - 1,3$) N-Acetil galactosamina O - Glicosilados por JAA. Parte superior: micrografías 20x de las diferentes regiones analizadas por tratamiento. En rojo se presenta la fluorescencia de PE reconocimiento de la unión de JAA-I. En azul DAPI reconocimiento de núcleos celulares. Parte inferior: gráficas por regiones y condición experimental. ANOVA de una vía \pm EEM.

En CtxF, las detecciones de fluorescencia fueron; 146 pix / a (± 4.57) para el grupo Int, 171 pix / a (± 9.57) para el grupo Veh y 246 pix / a (± 2.84) para el grupo A β 25-35. Esto representa un incremento del 17 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de PNA del

para el grupo Veh en esta región ($p > 0.05$) y un incremento del 68 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$ ($p < 0.0001$).

El reconocimiento de fluorescencia de JAA-I se analizó mediante ANOVA de una vía (prueba post - hoc Dunnett). En la región CA1 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 21.9 pix / a (± 0.599) para el grupo Int, 19.5 pix / a (± 0.867) para el grupo Veh y 27.7 pix / a (± 1.50) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa el 90 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de JAA-I del para el grupo Veh en esta región ($p > 0.05$) y un incremento en el reconocimiento de fluorescencia del 28 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$ ($p < 0.001$). En la región CA3 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 19.7 pix / a (± 0.943) para el grupo Int, 15.5 pix / a (± 0.337) para el grupo Veh y 54.8 pix / a (± 2.20) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa tan solo el 78 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de JAA-I del para el grupo Veh en esta región y con un incremento en la detección de fluorescencia para el grupo $A\beta_{25-35}$ del 184 % respecto a la detección del grupo Int. En la región del GD del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 26.0 pix / a (± 1.61) para el grupo Int, 15.4 pix / a (± 0.784) para el grupo Veh y 26.4 pix / a (± 1.19) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa tan solo el 57 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de JAA-I del para el grupo Veh en esta región ($p < 0.0001$) y detección similar al grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$ ($p > 0.05$). En CtxV, las detecciones de fluorescencia fueron; 37.3 pix / a (± 2.40) para el grupo Int, 41.2 pix / a (± 3.08) para el grupo Veh y 82.9 pix / a (± 2.69) para el grupo $A\beta_{25-35}$. No se modificó de forma estadísticamente significativa el reconocimiento de fluorescencia entre el grupo Int y el grupo Veh en esta región ($p > 0.05$). Por su parte, el grupo $A\beta_{25-35}$ incrementó su reconocimiento de fluorescencia de JAA-I un 124 % respecto a la detección del grupo Int ($p < 0.0001$). En CtxF, las detecciones de fluorescencia fueron; 51.6 pix / a (± 3.34) para el grupo Int, 56.3 pix / a (± 7.49) para el grupo Veh y 25.1 pix / a (± 0.904) para el grupo $A\beta_{25-35}$. La detección de fluorescencia en el grupo Int y en el grupo Veh fue básicamente la misma para la en esta región ($p > 0.05$). Por otra parte, la detección de fluorescencia para el grupo $A\beta_{25-35}$ representó tan solo un 49 % de la detección del grupo Int ($p < 0.001$).

Al observar la detección de fluorescencia de PE para las lectinas PNA contra JAA-I se puede observar un desplazamiento en sentidos inversos. En la Figura 19 se aprecia la reducción de fluorescencia para el grupo $A\beta_{25-35}$. De forma contraria a lo observado para PNA, la detección de PE para el grupo $A\beta_{25-35}$ en JAA-I se vio incrementada. De forma similar, se observa este efecto espejo en el desplazamiento de detección de fluorescencia en las regiones CtxV y CtxF.

6.7.3 El procedimiento de administración del péptido $A\beta_{25-35}$ incrementa la detección de manosas en las regiones hipocampales y CtxF

En la Figura 20, se muestra la detección de fluorescencia de PE para la lectina ConA, la detección para esta lectina. En la región CA1 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia

fueron; 22.3 pix / a (± 1.06) para el grupo Int, 94.7 pix / a (± 10.5) para el grupo Veh y 79.3 pix / a (± 4.20) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa un incremento del 327 % de la de fluorescencia de ConA del para el grupo Veh respecto al grupo Int en esta región ($p < 0.0001$) y del 259 % para el grupo $A\beta_{25-35}$ ($p < 0.0001$). En la región CA3 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 19.6 pix / a (± 1.20) para el grupo Int, 62.4 pix / a (± 2.37) para el grupo Veh y 153 pix / a (± 5.98) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa un incremento del 226 % de la de fluorescencia de ConA del para el grupo Veh respecto al grupo Int en esta región ($p < 0.0001$) y del 705 % para el grupo $A\beta_{25-35}$ ($p < 0.0001$). En la región del GD del hipocampo, las detecciones de fluorescencia

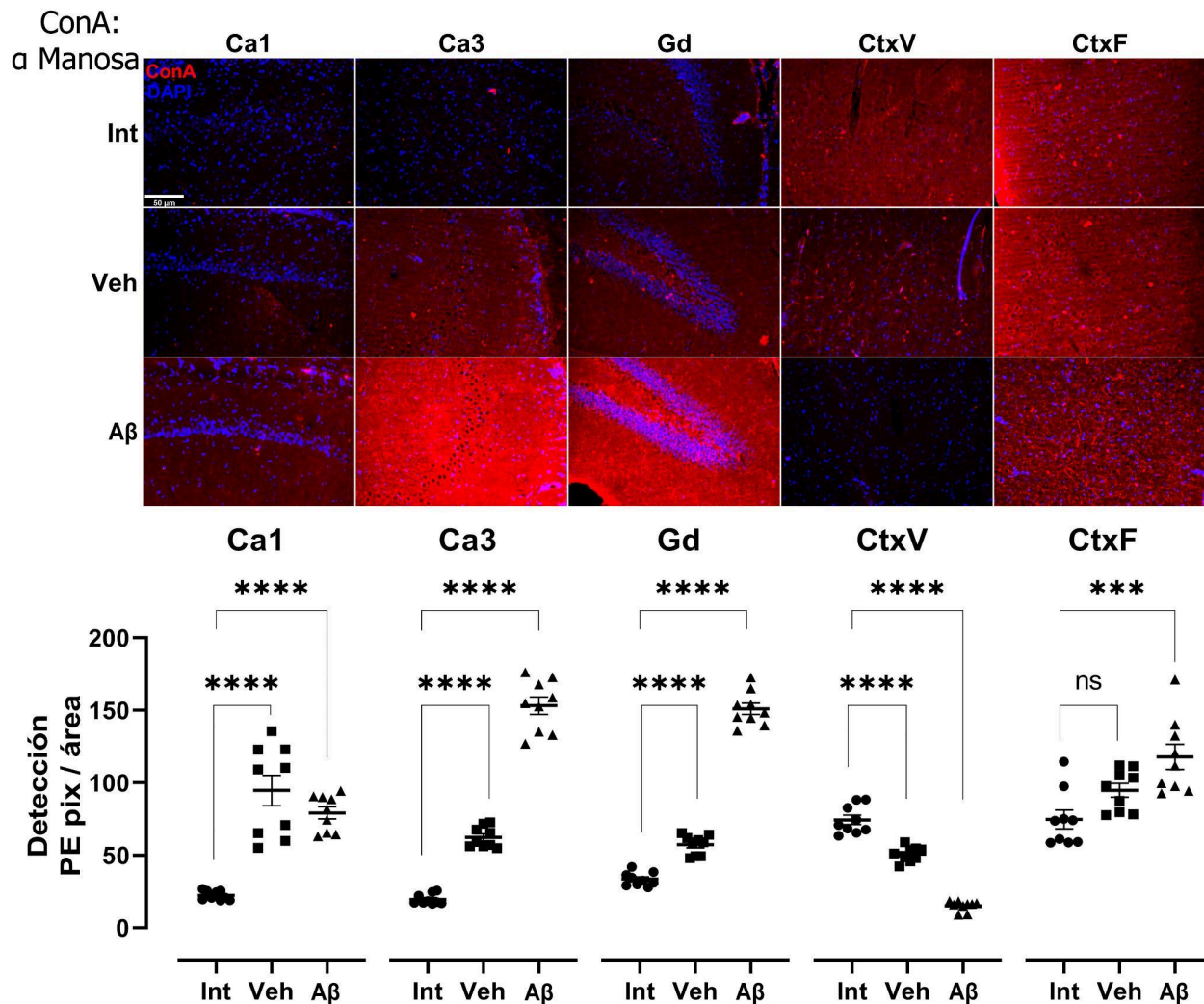


Figura 20.- El proceso de administración modifica la detección de α manosas por Con-A. Parte superior: micrografías 20x de las diferentes regiones analizadas por tratamiento. En rojo se presenta la fluorescencia de PE reconocimiento de la unión de Con-A. En azul DAPI reconocimiento de núcleos celulares. Parte inferior: gráficas por regiones y condición experimental. ANOVA de una vía \pm EEM.

fueron; 33.5 pix / a (± 1.55) para el grupo Int, 57.4 pix / a (± 2.23) para el grupo Veh y 151 pix / a (± 3.95) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa un incremento del 72 % de la de fluorescencia de ConA del para el grupo Veh respecto al grupo Int en esta región ($p < 0.0001$) y del 357 % para el

grupo $A\beta_{25-35}$ ($p < 0.0001$). En CtxV, las detecciones de fluorescencia fueron; 74.4 pix / a (± 3.23) para el grupo Int, 50.8 pix / a (± 1.70) para el grupo Veh y 15.1 pix / a (± 1.19) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa tan solo el 67 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de ConA del para el grupo Veh en esta región ($p < 0.0001$) y del 20 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$ ($p < 0.0001$). En CtxF, las detecciones de fluorescencia fueron; 74.7 pix / a (± 6.51) para el grupo Int, 94.7 pix / a (± 4.72) para el grupo Veh y 118 pix / a (± 8.75) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Sin modificaciones en la detección de fluorescencia de ConA del para el grupo Veh respecto al Int en esta región ($p > 0.05$) y reconocimiento del 65 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$ ($p < 0.001$). Si bien, la mayoría de los resultados arrojaron modificaciones de reconocimiento de manosas, se observa una tendencia a la alza para el grupo $A\beta_{25-35}$ para las regiones CA1, CA3, GD y Ctx F. en las que el reconocimiento de manosas se incrementa especialmente para las regiones CA3 y GD .

6.7.4 La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ incrementa la sialilación en CA3, GD y CtxF

En la Figura 21 se presentan las gráficas para la detección de fluorescencia de PE para Ac. siálico 2,3, se analizó empleando ANOVA de una vía (prueba post hoc Dunnett). En la región CA1 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 58.3 pix / a (± 1.71) para el grupo Int, 43.7 pix / a (± 1.85) para el grupo Veh y 50.4 pix / a (± 1.07) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Esto representa tan solo el 74 % de la detección en el grupo Int en la detección de fluorescencia de MAA del para el grupo Veh en esta región ($p < 0.0001$) y del 86 % de la detección del grupo Int para el grupo $A\beta_{25-35}$ ($p < 0.01$). En la región CA3 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 98.0 pix / a (± 3.81) para el grupo Int, 109 pix / a (± 7.66) para el grupo Veh y 237 pix / a (± 3.34) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int ($p > 0.05$) y un incremento del 141 % de la detección del grupo $A\beta_{25-35}$ respecto al grupo Int ($p < 0.0001$). En la región del GD del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 113 pix / a (± 7.75) para el grupo Int, 83.2 pix / a (± 4.63) para el grupo Veh y 149 pix / a (± 15.2) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int ($p > 0.05$) y un incremento del 31 % de la detección del grupo $A\beta_{25-35}$ respecto al grupo Int ($p < 0.05$). En CtxV, las detecciones de fluorescencia fueron; 38.1 pix / a (± 2.65) para el grupo Int, 37.5 pix / a (± 3.04) para el grupo Veh y 20.1 pix / a (± 0.474) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int ($p > 0.05$) y reconocimiento del 52 % de la detección del grupo $A\beta_{25-35}$ respecto al grupo Int ($p < 0.0001$). En CtxF, las detecciones de fluorescencia fueron; 162 pix / a (± 7.26) para el grupo Int, 163 pix / a (± 4.86) para el grupo Veh y 198 pix / a (± 4.41) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int ($p > 0.05$) y un incremento del 22 % de la detección del grupo $A\beta_{25-35}$ respecto al grupo Int ($p < 0.001$).

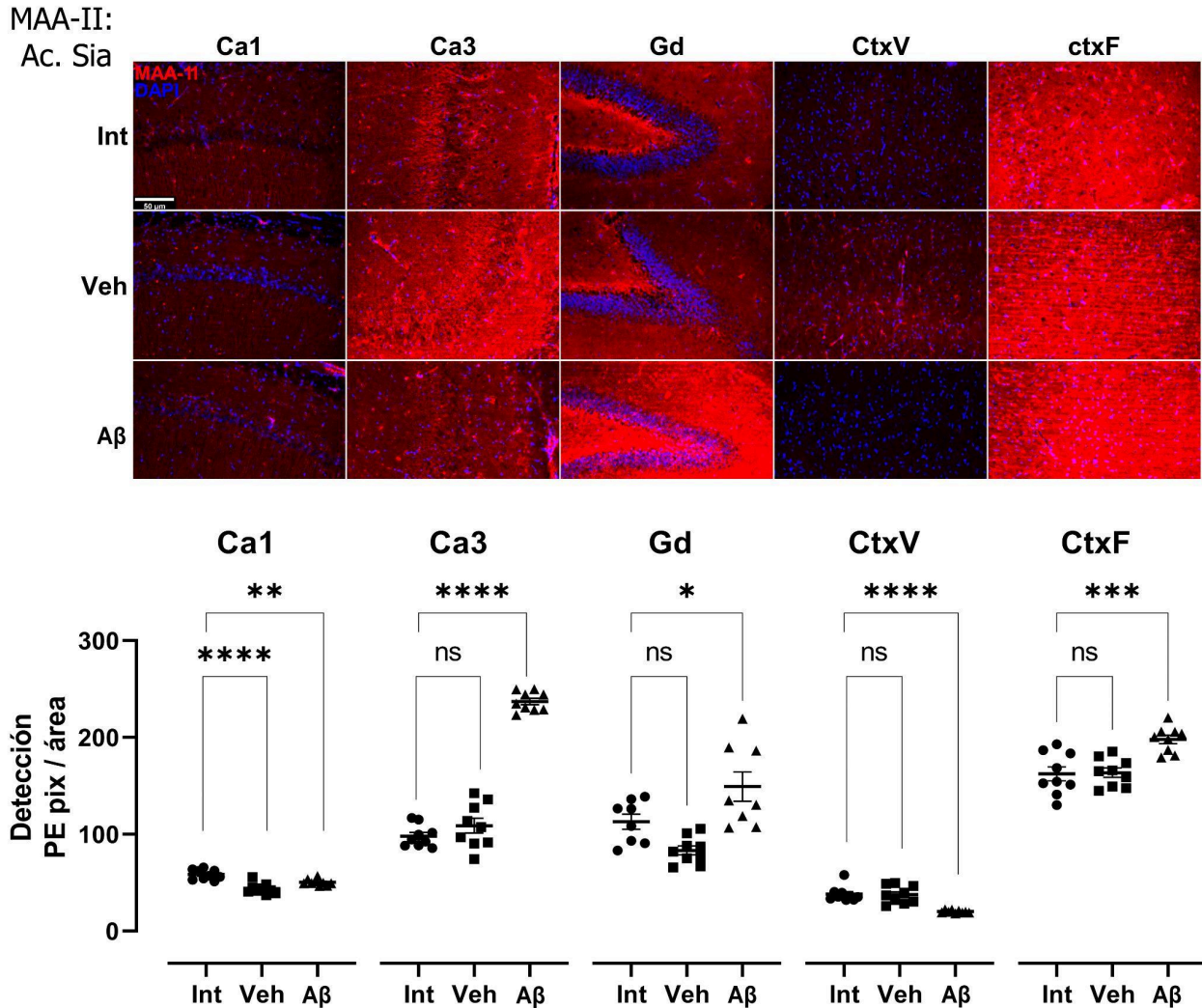


Figura 21.- El proceso de administración modifica la detección de Ac. siálico en la posición 3 de galactosa y galactosil (β -1,4) N - Acetil lactosamina por MAA. Parte superior: micrografías 20x de las diferentes regiones analizadas por tratamiento. En rojo se presenta la fluorescencia de PE reconocimiento de la unión de MAA. En azul DAPI reconocimiento de núcleos celulares. Parte inferior: gráficas por regiones y condición experimental. ANOVA de una vía \pm EEM.

6.7.5 La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ reduce la detección de LTL en regiones hipocampales y aumenta a nivel cortical

En la Figura 22 se presentan las gráficas de detección de fluorescencia de PE unida a LTL. La detección de fluorescencia se analizó mediante ANOVA de una vía (prueba post - hoc Dunnett) en regiones hipocampales (CA1, CA3 y GD) se redujo la detección respecto al grupo intacto de forma generalizada. En la región CA1 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 22.3 pix / a (± 0.298) para el grupo Int, 23.8 pix / a (± 0.853) para el grupo Veh y 14.5 pix / a (± 1.0).

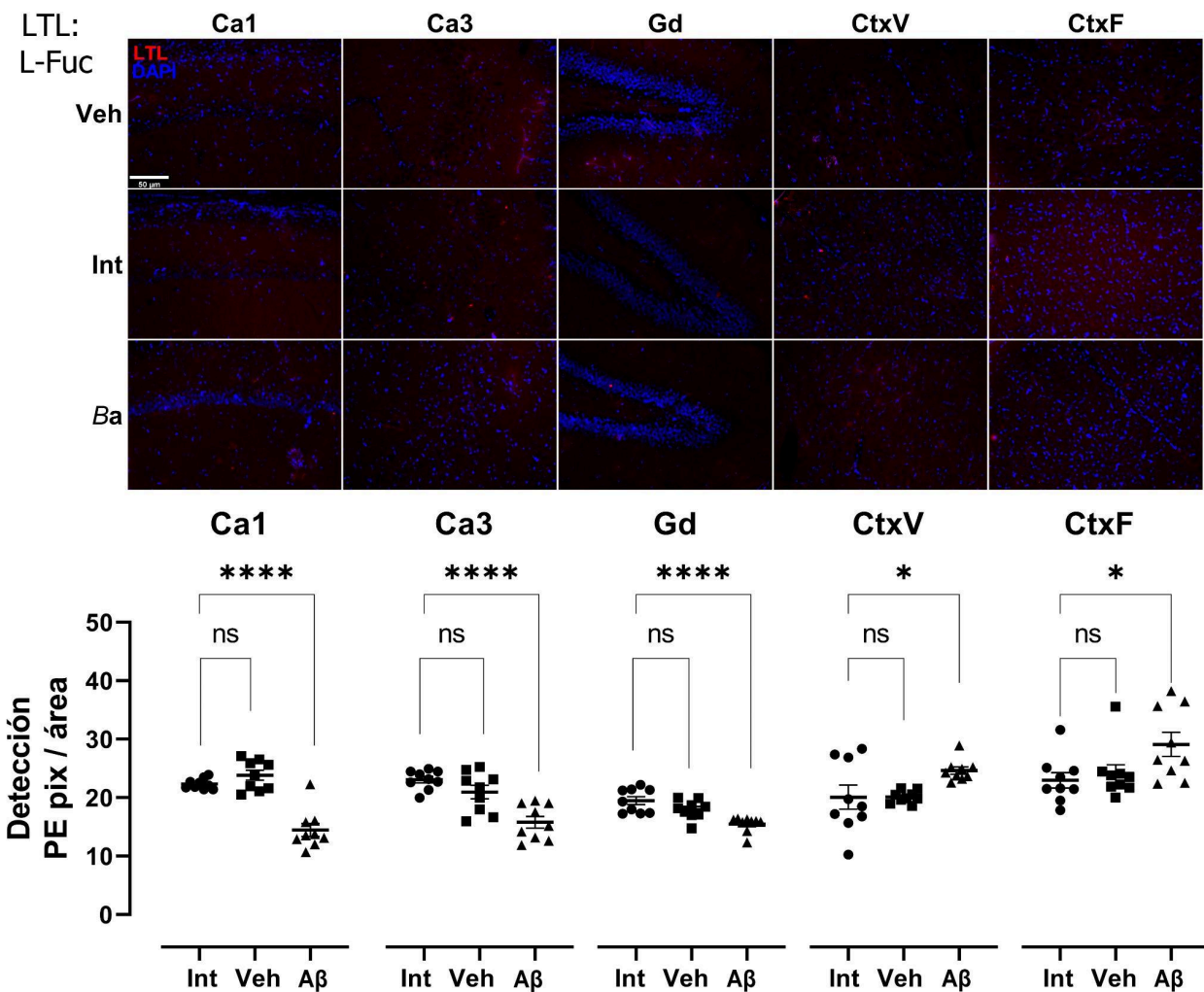


Figura 22.- El péptido A β_{25-35} reduce la detección de L - fucosas por LTL en regiones hipocámpales e incrementa en regiones corticales. Parte superior: micrografías 20x de las diferentes regiones analizadas por tratamiento. En rojo se presenta la fluorescencia de PE reconocimiento de la unión de LTL. En azul DAPI reconocimiento de núcleos celulares. Parte inferior: gráficas por regiones y condición experimental. ANOVA de una vía \pm EEM.

12) para el grupo A β_{25-35} . Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int ($p > 0.05$) y reconocimiento del 63 % de la detección del grupo A β_{25-35} respecto al grupo Int ($p < 0.0001$). En la región CA3 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 23.1 pix / a (± 0.543) para el grupo Int, 20.9 pix / a (± 1.15) para el grupo Veh y 15.8 pix / a (± 1.01) para el grupo A β_{25-35} . Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int ($p > 0.05$) y reconocimiento del 65 % de la detección del grupo A β_{25-35} respecto al grupo Int ($p < 0.0001$). En la región del GD del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 19.5 pix / a (± 0.689) para el grupo Int, 18.0 pix / a (± 0.539) para el grupo Veh y 15.5 pix / a (± 0.442) para el grupo A β_{25-35} . Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int ($p > 0.05$) y reconocimiento del 65 % de la detección del grupo A β_{25-35} respecto al grupo Int ($p < 0.0001$).

Las regiones corticales a diferencia de las hipocampales presentaron un incremento en la detección de fucosas. En CtxV, las detecciones de fluorescencia fueron; 20.1 pix / a (± 2.06) para el grupo Int, 20.1 pix / a (± 0.346) para el grupo Veh y 24.6 pix / a (± 0.613) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int ($p > 0.05$) y un incremento del 20 % de la detección del grupo $A\beta_{25-35}$ respecto al grupo Int ($p < 0.05$). En CtxF, las detecciones de fluorescencia fueron; 23.0 pix / a (± 1.32) para el grupo Int, 24.1 pix / a (± 1.50) para el grupo Veh y 29.1 pix / a (± 2.05) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int ($p > 0.05$) y un incremento del 26 % de la detección del grupo $A\beta_{25-35}$ respecto al grupo Int ($p < 0.05$).

6.7.6 La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ incrementa la detección de GlcNAc terminales en GD y CtxF

En la Figura 23 se presenta la detección de fluorescencia de PE asociada a GS-II para las diferentes condiciones experimentales. La detección de fluorescencia para las diferentes regiones se analizó mediante ANOVA de una vía (prueba post - hoc Dunnett) En la región CA1 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 31.4 pix / a (± 0.417) para el grupo Int, 34.7 pix / a (± 4.97) para el grupo Veh y 27.0 pix / a (± 1.55) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para los grupos Veh y $A\beta_{25-35}$ respecto al Int ($p > 0.05$). En la región CA3 del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 30.5 pix / a (± 1.39) para el grupo Int, 37.8 pix / a (± 2.75) para el grupo Veh y 37.3 pix / a (± 3.16) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para los grupos Veh y $A\beta_{25-35}$ respecto al Int ($p > 0.05$). En la región del GD del hipocampo, las detecciones de fluorescencia fueron; 31.1 pix / a (± 1.53) para el grupo Int, 29.8 pix / a (± 1.45) para el grupo Veh y 38.5 pix / a (± 1.26) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int ($p > 0.05$) e incremento en el reconocimiento de fluorescencia del 22 % de la detección del grupo $A\beta_{25-35}$ respecto al grupo Int ($p < 0.05$). En CtxV, las detecciones de fluorescencia fueron; 32.7 pix / a (± 1.81) para el grupo Int, 134 pix / a (± 11.5) para el grupo Veh y 21.2 pix / a (± 1.87) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Incremento en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int del 318 % ($p < 0.0001$) y sin modificación estadísticamente significativa de la detección del grupo $A\beta_{25-35}$ respecto al grupo Int ($p > 0.05$). En CtxF, las detecciones de fluorescencia fueron; 32.5 pix / a (± 0.781) para el grupo Int, 30.5 pix / a (± 1.61) para el grupo Veh y 52.3 pix / a (± 5.64) para el grupo $A\beta_{25-35}$. Sin modificación en el reconocimiento de fluorescencia para el grupo Veh respecto al Int ($p > 0.05$) y un incremento del 62 % de la detección del grupo $A\beta_{25-35}$ respecto al grupo Int ($p < 0.05$). La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ solo modificó las detecciones de fluorescencia de GS-II en las regiones del GD y CtxF. Sin embargo, el grupo Veh presentó incremento en la detección de fluorescencia para la CtxV.

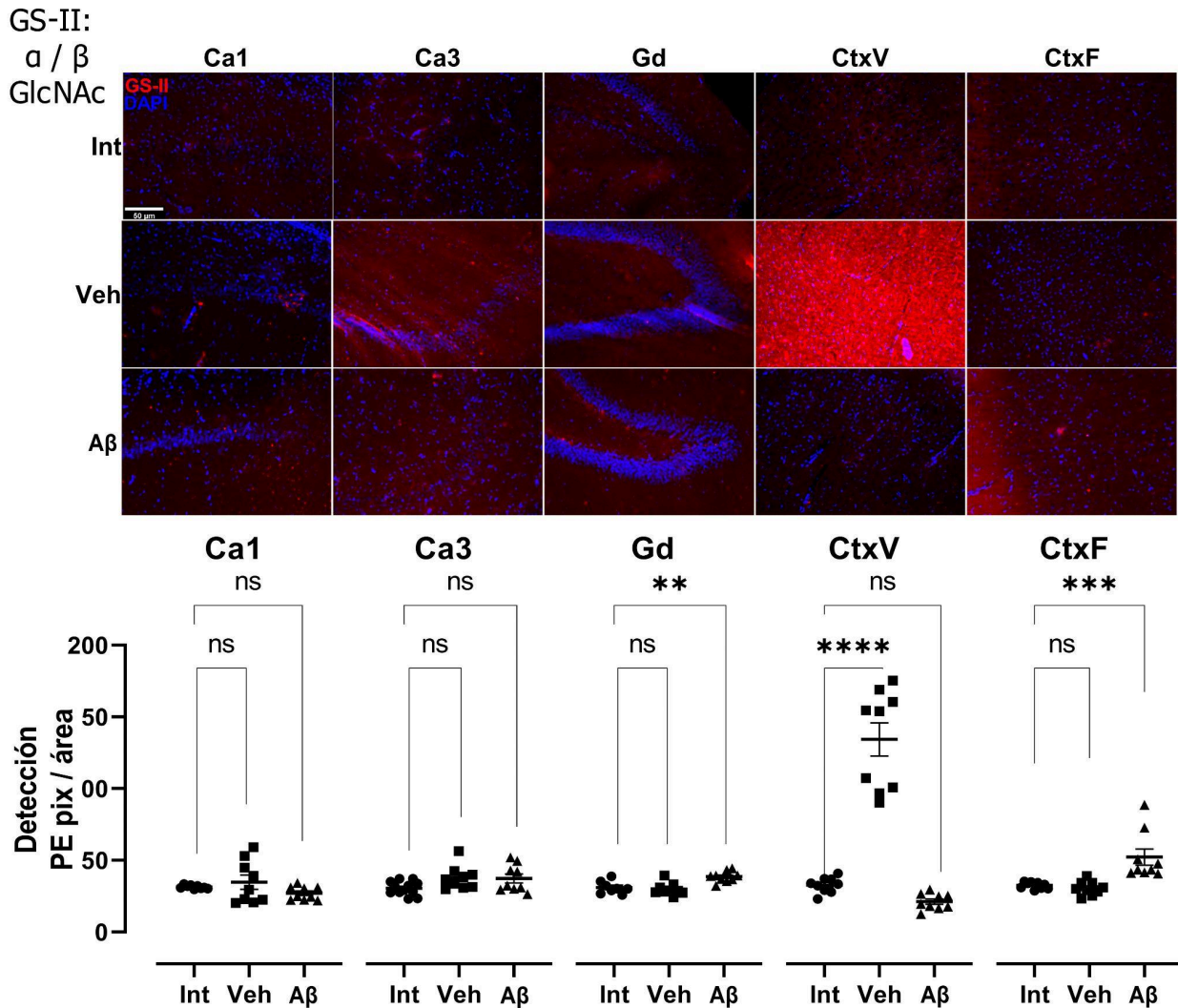


Figura 23.- El péptido A β_{25-35} incrementa la detección de α / β -N-Acetil Glucosamina por GS-II en GD y CtxF. Parte superior: micrografías 20x de las diferentes regiones analizadas por tratamiento. En rojo se presenta la fluorescencia de PE reconocimiento de la unión de GS-II. En azul DAPI reconocimiento de núcleos celulares. Parte inferior: gráficas por regiones y condición experimental. ANOVA de una vía \pm EEM.

6.7.7 La modificación en los patrones de glicosilación se relaciona espacialmente con regiones estructurales y es independiente para cada carbohidrato y región

El alto grado de modificaciones en los patrones de glicosilación observado en los mapas de calor de la Figura 15 permite visualizar de forma general las variaciones en los patrones de glicosilación existentes. Los datos obtenidos mediante el análisis con el programa Image J se analizaron mediante ANOVA de una vía se vaciaron en la tabla de la Figura 24. En esta tabla, se representan las variaciones estadísticas para el incremento o reducción de fluorescencia asociada a lectinas. Las flechas hacia arriba “ \uparrow ” indican un incremento en la fluorescencia de marcaje respecto al grupo Int y las flechas hacia abajo “ \downarrow ” la reducción de detección por fluorescencia

contra el grupo Int. Así mismo, la cantidad de flechas indica órdenes de magnitud de significancia estadística respecto a la prueba, con base en el valor de p reportado por la prueba post - hoc para cada caso particular. Se representa mediante “↑” o “↓” las variaciones asociadas a una $p < 0.05$, “↑↑” y “↓↓” asociados a un valor de $p < 0.01$ y así sucesivamente. Variaciones estadísticamente no significativas representadas con “ns”.

Además de la señalización con flechas para indicar la significancia estadística y el sentido de esta, se marcó con colores los recuadros para facilitar la visualización de los eventos de glicosilación se hace énfasis en primer término del color verde que indica la ausencia de variaciones estadísticamente significativas para el grupo Veh pero presentes para el grupo $A\beta_{25-35}$ en los que resalta la fucosa cuyas interacciones ya sean de incremento o decremento no presentan ninguna modificación para el grupo Veh de esta manera se descarta la posibilidad modificación se relacione con el procedimiento.

	CA1		CA3		GD		CtxV		CtxF	
	Veh	BA	Veh	BA	Veh	BA	Veh	BA	Veh	BA
Gal β 1,3 - GalNAc α 1,0	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓
α / β GalNAc terminales	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓
β Galactosa terminales	ns	↓↓	↓↓↓↓	ns	ns	ns	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↑	↑↑↑↑
α -Galactosa	ns	↑↑↑	ns	↑↑↑↑	↓↓↓↓	ns	ns	↑↑↑↑	ns	↓↓↓
α -Manosa	↑↑↑↑	↑↑↑↑	↑↑↑↑	↑↑↑↑	↑↑↑↑	↑↑↑↑	↓↓↓↓	↓↓↓↓	ns	↑↑↑
Ac. siálico 2,3	↓↓↓↓	↓↓	ns	↑↑↑↑	ns	↑	ns	↓↓↓↓	ns	↑↑↑
L-Fucosa	ns	↓↓↓↓	ns	↓↓↓↓	ns	↓↓↓↓	ns	↑	ns	↑
α / β GlcNAc terminales	ns	ns	ns	ns	ns	↑↑	↑↑↑↑	ns	ns	↑↑↑

Figura 24.- Relación de las modificaciones de glicosilación por regiones. Flechas indican una variación estadísticamente significativa. Se representan las variaciones estadísticamente significativas comparadas contra el grupo Intacto mediante ↑ $p = 0.05$, ↑↑ $p = 0.01$, ↑↑↑ $p = 0.001$ y ↑↑↑↑ $p = 0.0001$.

En color azul, modificaciones estadísticamente significativas tanto para el grupo Veh y $A\beta_{25-35}$ respecto al grupo Int. Color blanco modificación en similares en grupo Veh y $A\beta_{25-35}$ asociadas a la lesión principalmente y en rojo modificaciones únicamente en el grupo Veh que se asocian a la lesión donde el péptido $A\beta_{25-35}$ se mantiene sin modificaciones estadísticamente significativas.

7 Discusión

Se ha reportado que el β - amiloide tiene un papel crucial en el desarrollo de la EA, su presencia en SNC está asociada a procesos neurodegenerativos y pérdida de funcionalidad neuronal de diversas regiones cerebrales. Entre los principales mecanismos neurodegenerativos asociados a la concentración elevada del β - amiloide en el tejido cerebral se encuentran: la neuroinflamación y el estrés oxidativo (Allan Butterfield & Boyd-Kimball, 2018; Ramos-Martinez et al., 2018). Se sabe que la inflamación crónica y el estrés oxidativo se han descrito ampliamente en la patología de la EA considerándose como elementos que predisponen a la demencia. Algunas características patológicas de la EA son: la pérdida de la memoria, la pérdida de la capacidad de formación de nuevos recuerdos y su evocación. Se ha descrito que la disfunción cognitiva precede a la degeneración neuronal. En diversos estudios, se ha determinado que esta pérdida de cognición se debe a que las primeras estructuras afectadas suelen ser los sitios de sinapsis debido a la toxicidad generada por los oligómeros de $A\beta$ que en último término pueden llevar mediante diversos estresores a la muerte neuronal (Walsh y Selkoe, 2004; Cleary et al., 2005; Shankar et al., 2007; Reddy y Beal, 2008; Freir et al., 2011).

Múltiples estudios han demostrado que la muerte neuronal asociada a la toxicidad del péptido $A\beta_{25-35}$ modifica los patrones de O - glicosilación de tipo mucínico cuando el péptido es administrado directamente en la región CA1 del Hip. Estos estudios demostraron que la neuroinflamación por sí misma genera modificaciones en los patrones de glicosilación cerebral similares a los reportados durante la neuroinflamación de fase aguda y crónica (Limón et al., 2011; McCarthy et al., 2014; Ramos-Martinez et al., 2018). Como resultado de diversos estudios, se ha determinado que la activación microglial y astrocítica debido a la detección del péptido $A\beta$ mediante receptores de membrana TLR2, TLR4 y receptores scavenger puede modificar el glicoma celular. Esta activación propicia la liberación de citocinas proinflamatorias como IL-1, IL6, IL18 y TNF α que promueven un ambiente proinflamatorio e incremento de EROs y ERNs ambos ampliamente asociados a procesos neurodegenerativos (Glass et al., 2010; Heneka et al., 2014; Bronzuoli et al., 2016).

En el presente trabajo, se buscó brindar un panorama general que permita dilucidar las modificaciones en los patrones de glicosilación de estructuras cerebrales que se han reportado resultan afectadas durante la patología de la EA. Los cambios regionales específicos reportados mediante la detección por afinidad de unión de lectinas han permitido determinar la existencia de diversas modificaciones en los patrones de glicosilación. A continuación se profundiza de forma más detallada los resultados más relevantes.

7.1 La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ genera conductas asociadas a la demencia y pérdida de memoria en las pruebas de campo abierto y RON

En la prueba de campo abierto, se observaron modificaciones conductuales. Estos cambios se asociaron a la modificación en los patrones de desplazamiento e incremento de tiempo empleado en regiones centrales del campo de exploración. Las rutas de desplazamiento obtenidas mediante la detección de píxeles en los videos de las pruebas de campo abierto indican la pérdida de rutas establecidas. Esta pérdida conductual y desplazamiento hacia el centro se ha reportado anteriormente como una modificación en la conducta de exploración y valoración de riesgos. Esta pérdida de la capacidad de valoración de riesgos lleva al desplazamiento en campos centrales. Las conductas estereotípicas se han revisado en otros trabajos mediante el análisis de desplazamiento de ratones transgénicos como modelo de la EA (3xTg-AD) en los que se reportaron modificaciones motoras asociadas al deterioro cognitivo mediante la pérdida de neuronas motoras, el incremento de la activación astrocitaria y de fenotipo M1 microglial (Orta-Salazar et al., 2019).

Durante la prueba de RON, se observó la reducción en la capacidad de evocación de información previamente adquirida, demostrado mediante la incapacidad de diferenciar objetos presentados previamente a los individuos del grupo $A\beta_{25-35}$. La incapacidad para diferenciar entre objetos previamente conocidos y novedosos indica que el péptido $A\beta_{25-35}$ interfiere con la capacidad de evocación. Esta reducción en el reconocimiento de objetos se reportó en trabajos anteriores que asocian la reducción en número y longitud de espinas dendríticas en la región del GD con la presencia de péptidos de $A\beta$ en cerebro (Ramírez-Amaya et al., 2001; Bailey et al., 2004; Lamprecht y LeDoux, 2004).

Se ha demostrado que la consolidación de la memoria es sensible a las modificaciones metabólicas y señales externas a las neuronas. En trabajos anteriores, el péptido $A\beta_{25-35}$ ha demostrado modificar la formación de proteínas que forman parte de la estabilización de estructuras sinápticas como son las espinas dendríticas. La formación de proteínas estabilizadoras de sinapsis como psd95 y Tim3 es necesaria para que la información se establezca de manera física en el cerebro. Mismas que son sensibles a la presencia del péptido $A\beta_{25-35}$ (Ramírez-Hernández et al., 2023). Debido a la asociación de la poda sináptica con la lectina de reconocimiento de manosas, es probable que la pérdida de sinapsis existentes pueda ser la razón de la alteración en la capacidad de evocación de la memoria. Lo anteriormente expuesto se ve reforzado gracias a las asociaciones previas en las que se ha demostrado una relación entre el grado de lesión en el Hip y el bajo desempeño en las tareas de aprendizaje y memoria (Broadbent et al., 2010). En trabajos anteriores se ha demostrado el daño generado por la administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en regiones corticales y CA1, se ha visto tanto en procesos de activación e incremento en los niveles de caspasa 3 y citocromo C (Limón et al., 2009; Limón et al., 2011; Díaz et al., 2012). Si bien, en el presente trabajo la administración se realizó en

ventrículos laterales, las lesiones derivadas de la administración del péptido A β ₂₅₋₃₅ se asocian a sus propiedades neurotóxicas (Jucker, M., & Walker, L. C. 2013; Goedert, M. 2015).

7.2 La administración del péptido A β ₂₅₋₃₅ genera reducción de fucosas en enlaces α 1,3 en GD y aumento de fucosilación en regiones corticales

La glicosilación de fucosas se ha asociado principalmente como una modificación terminal. La fucosilación central en mamíferos se presenta de manera específica en enlace α 1,6 a la GlcNAc unida a asparagina en N - glicanos y se observa en N -glicanos tanto híbridos como complejos. Se ha visto que los enlaces α 1,3- y α 1,4 - fucosa en el contexto de las estructuras de Lewis, incluido el sialil - Lewis x, desempeñan un papel fundamental en los eventos inflamatorios asociados principalmente a procesos inmunológicos como es el ligando de selectina E (Munro et al., 1992).

Originalmente, LTL fue descrita como una lectina de reconocimiento de H(O) en fucosa (Kabat & Pereira, 1974). Sin embargo, se ha identificado que el principal motivo de reconocimiento de LTL se encuentra en la conformación sialil - Lewis ^x (Yan et al., 1997). Además, se han reportado asociaciones en la reducción en niveles de α 1,6 fucosiltransferasa con fenotipos asociados a demencia (Fukuda, T et al., 2011).

7.2.1 Reducción de α - L fucosas en regiones hipocampales fuertemente asociadas a la memoria.

La administración del péptido demostró generar la pérdida de α - L fucosas en la región del GD. Como se ha reportado en trabajos previos la reducción de α 1,6 fucosiltransferasas se ha visto ligada a las actitudes estereotípicas de demencia. Esta reducción regional puede explicar las actitudes erráticas y la pérdida de memoria observada en el grupo A β . El GD es la primera región en captar la información para generar la sinapsis de la vía tri-sináptica relacionada con el procesamiento de la información adquirida durante el aprendizaje para la formación de la memoria (Carasatorre et al., 2016). La circunvolución del GD dorsal cumple tres procesos principales: el procesamiento y captación de las múltiples entradas sensoriales, la separación del patrón espacial y la facilitación de la codificación de la información espacial basada en las proyecciones sobre la región CA3, que están asociadas con las representaciones espaciales métricas (Amaral y Witter, 1989; Kesner, 2007; Kesner, 2013). Por lo que la reducción de α - L fucosas en esta región podría explicar las conductas observadas durante las pruebas conductuales y la dificultad en la consolidación de memoria a largo plazo.

La asociación previa de otros trabajos entre la fucosilación y la inflamación ha demostrado modificaciones en los análisis de patrones de fucosilación, se ha visto un incremento de fucosilación en regiones inflamadas al administrar LPS intracerebralmente (Rebelo, A. L., et al., 2021). El incremento del reconocimiento de fucosas de las regiones de CtxV y CtxF en este

trabajo se puede asociar al incremento de fucosas ligadas a procesos inflamatorios. Sin embargo, en regiones hipocampales se puede apreciar una reducción significativa de la detección de LTL a diferencia de lo reportado por otros grupos. La reducción en el reconocimiento de LTL y el incremento de reconocimiento por parte de la lectina de Con A puede asociarse a las fucosas unidas mediante enlaces α 1,2 o α 1,3. Por lo que, la reducción en espejo de las fucosas en regiones hipocampales y el incremento de reconocimiento de α manosas se podría deberse a la pérdida de fucosas unidas mediante este tipo de enlace. El incremento del reconocimiento de α manosas por ConA podría indicar dos posibles eventos asociados a fucosas. La pérdida de fucosas facilita el reconocimiento de α manosas mediante ConA debido a la modificación en el tipo de enlace de fucosas (Bojar, D., et al., 2022).

Al considerar el tipo de enlace de fucosas como el causante del incremento del reconocimiento de manosas, se ha reportado además la pérdida de reconocimiento de LTL hacia α 1,3 - fucosa al existir enlace con la GlcNAc del núcleo de ramificación de carbohidrato (Bojar, D., et al., 2022). Con base en lo anteriormente mencionado, el incremento del reconocimiento de GS-II en la región del GD podría indicar un cambio conformacional de la unión de fucosas lo que modifica el tipo de enlace fucosídico de un α 1, 3 a un enlace α 1, 2 en el sitio de unión al núcleo de carbohidratos. Este cambio organizacional en el GD puede explicar la reducción del aprendizaje espacial ya que, el circuito hipocampal que promueve cambios a nivel neuronal y proporciona la base estructural para la memoria a largo plazo se ve afectado desde el punto de captación y distribución de la información que es el GD. La información obtenida y almacenada en nuestra memoria está representada en el sistema nervioso central por la actividad coordinada de un grupo de neuronas que desarrollan la capacidad de repetir patrones de actividad adquiridos a través de la experiencia (Makkar, S. R., et al., 2010).

7.3 El incremento de Ac. siálico 2,3 en regiones de CA3, GD y CtxF modifica el reconocimiento de GalNAc y galactosas

Los sialósidos son abundantes en el cerebro, modulan muchos procesos de inflamación y tanto el Ac. siálico como la sulfatación aportan una carga negativa a los glicanos (Bojar, D., et al., 2022). El Ac. siálico o N -Acetilneuramínico (Neu5Ac), se puede encontrar en una variedad de enlaces (α 2, 3, α 2, 6 y α 2, 8), es parte de N - y O - glicanos (Limón, I. D., et al., 2011). La lectina MAA-II reconoce preferentemente carbohidratos terminales de enlace 2, 3 sialilado en Gal β 1 - 3 GalNAc en O - glicanos con capacidad para tolerar la sustitución en posición 6' del GalNAc y en menor medida a 3' sulfatados unidos a galactosa β (Bojar, D., et al., 2022). El motivo de unión de los Ac. siálicos reconocidos por MAA-II incluye a galactosa y GalNAc, se comparte con motivos de carbohidratos reconocidos por JAA, ALL y PNA. PNA reconoce principalmente a Gal β 1,3 GalNAc y JAA reconoce específicamente núcleos de O - Glicanos Ga β 1-3 GalNAc y GlcNAc principalmente, además de reconocer en menor medida motivos GalNAc o Ac. siálico unidos a GalNAc como sustituyente en enlace α / β 3 (Sharma, V., et al.,

1998; Hernández, P., et al., 2004; Ramos-Martínez et al., 2018). Esta asociación en CtxF podría indicar procesos de sialilación asociados a la actividad del péptido $A\beta_{25-35}$, asociado a un aumento de O - glicosilación. Por otra parte, la pérdida de Ac. siálicos en regiones CA1, CA3 y CtxV indicaría que procesos inflamatorios generan la pérdida de Ac. siálicos en regiones hipocámpales y CtxV que permite el reconocimiento de galactosas terminales no sialidadas. El aumento de sialilación en diferentes regiones puede interferir con el reconocimiento de PNA lo que resulta en una modificación en la lectura no asociada a la pérdida o reducción de galactosas totales. El aumento de la detección por PNA y un incremento del reconocimiento por JAA en la región CA1 del Hip y CtxF podría coincidir con una migración en el tipo de manosilación presente en esta región o un desplazamiento del grupo OH de C4 a C3 o C2 reconocibles por JAA.

Este incremento de sialilación en cerebro debido a la administración del péptido $A\beta_{25-35}$, concuerda con estudios de cerebro de rata envejecidos en los cuales se analizó la NCAM y GFAP en los que se reportó un incremento de estructuras polisialidadas en asociación a NCAM (Linnemann & Skarsfelt, 1994). Este incremento de reconocimiento de Ac. siálico 2, 3 en Hip podría indicar un incremento de NCAM asociado a procesos de reparación o proliferación celular, ya que se ha descrito la actividad de células madre asociada a la circunvolución del GD. La asociación de polisialidadas a canales de sodio y NCAM podría indicar procesos de resiliencia a los procesos neurotóxicos. En pacientes con EA se ha visto asociado a la presencia de PS1 una reducción de Ac. siálico 2,3 en superficie celular asociado a la NCAM de forma intracelular (Linnemann, D., & Skarsfelt, T. 1994). Otro estudio implica la reducción de la sialiltransferasa en regiones corticales del lóbulo frontal, y temporal pero no en Hip lo que podría indicar una asociación a la reducción de la expresión en CtxF pero no en las regiones CA3 y GD del Hip lo que aporta una posible explicación a las modificaciones en patrones de glicosilación de forma regional. Otro factor que podría incrementar la actividad de Ac. siálico es la fosforilación de la proteína Tau asociada a regiones cercanas a la administración del péptido. Múltiples estudios han reportado aumento en la glicosilación de ácidos siálicos de tau fosforilada que no se presenta en pacientes con EA. Se ha reportado además que la O - GlcNAc protege contra la fosforilación y sialilación de la proteína Tau lo que ha llevado a creer que está O - GlcNAcsilación evita la unión de Ac. siálicos a Tau. Al no verse incrementada la GlcNAc en regiones CA1 y CA3 concordaría con el incremento visto en Hip para la sialilación de Tau. Este incremento de O-Glicanos concuerda con lo reportado por Ramos - Martinez et al., (2018) que mediante la inyección del péptido $A\beta_{25-35}$ demostró que este induce neuroinflamación y sobreexpresión de proteínas O - glicosiladas de tipo mucina. A pesar de que en el presente trabajo las lectinas de unión a N - AcetilGalactosamina no se ven afectadas únicamente por la administración del péptido.

7.4 La lesión modifica el patrón glicosídico de manosas

La nicastrina madura es un componente importante de la γ secretasa presenta glicosilaciones importantes de sialilación y manosilación mientras que la Nicastrina inmadura únicamente presenta manosilación dicha actividad manosilada en formas tanto maduras como inmaduras podría brindar explicación a los incrementos por lesión generados al momento de la administración vistos en el presente trabajo. La γ secretasa se ha visto asociada a lesiones así como en otros estudios donde se ha visto incremento de manosas en los hemisferios microinyectados en modelos de neuroinflamación inducida (Samal et al., 2020). Otro factor a considerar en el incremento de manosas podría ser lo reportado por quienes observaron un incremento de manosa asociada a Acetilcolinesterasa inmadura en pacientes con EA. Anteriormente se han reportado cambios en su concentración o propiedades, las cuales se presentan en algunas neuropatologías como el Alzheimer, Parkinson y miastenia gravis, aunque no son su causa (Jucker, M., Walker, L. C. 2013; Hoshi, K., et al., 2021). El deterioro por la EA y la vejez se asocia al daño progresivo de fibras colinérgicas que se observa en la hipótesis colinérgica de la EA (Orta-Salazar, E., et al., 2014; Chen, Z. R., et al., 2022). La invasión por vía septo hipocampal y regiones cercanas a CtxF lo que podría explicar porque únicamente en región de CtxV se observó una disminución de manosas asociada al daño. Si bien, se puede observar la tendencia al alza respecto a los grupos Veh e Int por parte del grupo A β . Se podría considerar que la inoculación representa un daño suficiente para generar la manosilación de ciertas proteínas debido a la inflamación generada por el procedimiento sin embargo el incremento presentado por el A β es mayor y estadísticamente significativo al menos en regiones hipocampales.

8 Conclusión

La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ en ventrículos laterales afecta la memoria a través de cambios en los patrones de glicosilación que limitan la formación de nuevas memorias. El uso del péptido $A\beta_{25-35}$ en modelos animales ha permitido comprender la relación entre la inflamación y el daño en el aprendizaje y la memoria (Limón et al., 2009; Limón et al., 2011; Ramírez et., al 2023). Los patrones de glicosilación asociados a la inoculación del péptido $A\beta_{25-35}$ que induce neuroinflamación y desequilibrio redox, brinda un nuevo enfoque a la investigación en el deterioro y pérdida de la memoria en la EA. La administración del péptido $A\beta_{25-35}$ genera reducción de fucosas en enlaces $\alpha 1, 3$ en GD y aumento de fucosilación en regiones corticales además de un incremento de Ac. siálico 2, 3 en regiones de CA3, GD y CtxF lo que lleva a los cambios drásticos en el glicoma cerebral asociado a la captación, distribución y consolidación de información para la formación de nuevas memorias y la remembranza de las mismas. De manera particular, la región de CtxV no presenta reducción en el reconocimiento de manosas por parte de JAA-I a diferencia del resto de regiones analizadas. Por lo que, el incremento de fucosas en este sitio no corresponde a la pérdida del enlace $\alpha 1, 3$ de fucosas y el incremento en la detección de manosas puede deberse a otra interacción con el péptido. Es necesario considerar que determinados elementos glicosídicos pueden verse alterados por el método de administración. Por lo que, se precisan de mayores estudios que permitan obtener información puntual que confirme las observaciones aquí presentes de manera puntual.

9 Perspectivas

- Estudiar el efecto del péptido $A\beta_{25-35}$ sobre el proceso de fucosilación y sialilación del GD empleando lectinas mediante citometría de flujo.
- Estudiar el efecto del péptido $A\beta_{25-35}$ sobre la expresión de manosas de espinas dendríticas y su efecto sobre la potenciación a largo plazo.
- Estudiar el efecto del péptido $A\beta_{25-35}$ en la glicosilación posterior a la activación microglial y astrocítica.
- Estudiar el efecto del péptido $A\beta_{25-35}$ sobre los patrones de glicosilación de ratones transgénicos.

10 Referencias

- Allan Butterfield, D., & Boyd-Kimball, D. (2018). Oxidative Stress, Amyloid- β Peptide, and Altered Key Molecular Pathways in the Pathogenesis and Progression of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62(3), 1345. <https://doi.org/10.3233/JAD-170543>
- Álvarez-Cisneros, T., Torres-Castro, S., Mena-Montes, B., Torres-Carrillo, N. M., Montes, B. M., Castro, S. T., Cisneros, T. Á., Rabaneda Bueno, R., Magdalena, N., Carrillo, T., Arlet, P., Rojas, R., Martínez Ruiz, A., Miguel, L., & Robledo, G. (2017). Género y salud en cifras Alzheimer: diferencias por género entre América Latina y otras regiones del mundo Factores de protección de las demencias: importancia para las mujeres Envejecimiento y Demencias en México desde una perspectiva de género. 15(3).
- Amaral, D. G., & Witter, M. P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data. *Neuroscience*, 31(3), 571-591. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90424-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90424-7)
- Amaral, D. G., Scharfman, H. E., & Lavenex, P. (2007). The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *Progress in brain research*, 163. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(07\)63001-5](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(07)63001-5)
- Apweiler, R., Hermjakob, H., & Sharon, N. (1999). On the frequency of protein glycosylation, as deduced from analysis of the SWISS-PROT database. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1473(1), 4-8. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(99\)00165-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(99)00165-8)
- Armstrong, R. A. (2011). The pathogenesis of alzheimer's disease: A reevaluation of the "amyloid cascade hypothesis". *International Journal of Alzheimer's Disease*. <https://doi.org/10.4061/2011/630865>
- Bailey, C. H., Kandel, E. R., & Si, K. (2004). The Persistence of Long-Term Memory: A Molecular Approach to Self-Sustaining Changes in Learning-Induced Synaptic Growth. *Neuron*, 44(1), 49-57. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2004.09.017>
- Bayes-Genis, A., Barallat, J., de Antonio, M., Domingo, M., Zamora, E., Vila, J., Subirana, I., Gastelurrutia, P., Pastor, M. C., Januzzi, J. L., & Lupón, J. (2017). Amiloide beta (1-40) en sangre, cognición y pronóstico en insuficiencia cardiaca. *Revista Española de Cardiología*, 70(11), 924-932. <https://doi.org/10.1016/J.RECESP.2017.02.006>
- Beyreuther, K., & Masters, C. L. (1991). Amyloid Precursor Protein (APP) and β ZA4 Amyloid in the Etiology of Alzheimer's Disease: Precursor-Product Relationships in the Derangement of Neuronal Function. *Brain Pathology*, 1(4), 241-251. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3639.1991.TB00667.X>
- Bojar, D., Meche, L., Meng, G., Eng, W., Smith, D. F., Cummings, R. D., & Mahal, L. K. (2022). A Useful Guide to Lectin Binding: Machine-Learning Directed Annotation of 57 Unique Lectin Specificities. *ACS Chemical Biology*, 17(11), 2993-3012. https://doi.org/10.1021/ACSCHEMBIO.1C00689/SUPPL_FILE/CB1C00689_SI_006.XLSX
- Bowman, C. R., & Zeithamova, D. (2018). Abstract memory representations in the ventromedial prefrontal cortex and hippocampus support concept generalization. *J. Neurosci.*, 38(10), 2605-2614. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2811-17.2018>

- Broadbent, N. J., Gaskin, S., Squire, L. R., & Clark, R. E. (2010). Object recognition memory and the rodent hippocampus. *Learning & Memory*, 17(1), 5–11. <https://doi.org/10.1101/LM.1650110>
- Bronzuoli, M. R., Iacomino, A., Steardo, L., & Scuderi, C. (2016). Targeting neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Journal of Inflammation Research*, 9, 199. <https://doi.org/10.2147/JIR.S86958>
- Bryan, K. J., Lee, H., Perry, G., Smith, M. A., & Casadesus, G. (2009). Transgenic Mouse Models of Alzheimer's Disease: Behavioral Testing and Considerations. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5231/>
- Butterfield, D. A., & Allan Butterfield, D. (2002). Amyloid β -peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: Implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain. A review. *Free Radical Research*, 36(12), 1307-1313. <https://doi.org/10.1080/1071576021000049890>
- Butterfield, D. A., Drake, J., Pocernich, C., & Castegna, A. (2001). Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role for amyloid β -peptide. *Trends in Molecular Medicine*, 7(12), 548-554. [https://doi.org/10.1016/S1471-4914\(01\)02173-6](https://doi.org/10.1016/S1471-4914(01)02173-6)
- Butterfield, D. A., Swomley, A. M., & Sultana, R. (2013). Amyloid β -Peptide (1-42)-Induced Oxidative Stress in Alzheimer Disease: Importance in Disease Pathogenesis and Progression. *Antioxidants & Redox Signaling*, 19(8), 823. <https://doi.org/10.1089/ARS.2012.5027>
- Calvillo, M., Diaz, A., Limon, D. I., Mayoral, M. A., Chánez-Cárdenas, M. E., Zenteno, E., Montañó, L. F., Guevara, J., & Espinosa, B. (2013). Amyloid- β 25-35 induces a permanent phosphorylation of HSF-1, but a transitory and inflammation-independent overexpression of Hsp-70 in C6 astrocytoma cells. *Neuropeptides*, 47(5), 339-346. <https://doi.org/10.1016/J.NPEP.2013.06.002>
- Campion, D., Dumanchin, C., Hannequin, D., Dubois, B., Belliard, S., Puel, M., Thomas-Anterion, C., Michon, A., Martin, C., Charbonnier, F., Raux, G., Camuzat, A., Penet, C., Mesnage, V., Martinez, M., Clerget-Darpoux, F., Brice, A., & Frebourg, T. (1999). Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum. *American journal of human genetics*, 65(3), 664-670. <https://doi.org/10.1086/302553>
- Cano Gutiérrez Carlos Alberto. (2014). Demencias Una visión panorámica. Temas derivados del V Simposio de Medicina Geriátrica, 63-73. <http://www.geriatria.salud.gob.mx/descargas/publicaciones/Demencia.pdf>
- Caramelo, U. (2009). La dulce vita: el papel de los azúcares en la biosíntesis de glicoproteínas. *Química Viva*, 8(2), 80-105. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86311783004>
- Carasatorre, M., Ramírez-Amaya, V., & Díaz Cintra, S. (2016). Plasticidad sináptica estructural en el hipocampo inducida por la experiencia espacial y sus implicaciones en el procesamiento de información. *Neurología*, 31(8), 543–549. <https://doi.org/10.1016/J.NRL.2012.12.005>

- Chan, S. L., Furukawa, K., & Mattson, M. P. (2002). Presenilins and APP in neuritic and synaptic plasticity. *NeuroMolecular Medicine* 2002 2:2, 2(2), 167-196. <https://doi.org/10.1385/NMM:2:2:167>
- Cheignon, C., Tomas, M., Bonnefont-Rousselot, D., Faller, P., Hureau, C., & Collin, F. (2018). Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biology*, 14, 450-464. <https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2017.10.014>
- Chen, G. F., Xu, T. H., Yan, Y., Zhou, Y. R., Jiang, Y., Melcher, K., & Xu, H. E. (2017). Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacologica Sinica* 2017 38:9, 38(9), 1205-1235. <https://doi.org/10.1038/aps.2017.28>
- Chen, Z. R., Huang, J. B., Yang, S. L., & Hong, F. F. (2022). Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*, 27(6). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27061816>
- Clancy, R. M., AMIN, A. R., & Abramson, S. B. (1998). THE ROLE OF NITRIC OXIDE IN INFLAMMATION AND IMMUNITY. *ARTHRITIS & RHEUMATISM*, 41(7), pp. <https://doi.org/10.1002/1529-0131>
- Cleary, J. P., Walsh, D. M., Hofmeister, J. J., Shankar, G. M., Kuskowski, M. A., Selkoe, D. J., & Ashe, K. H. (2005). Natural oligomers of the amyloid- β protein specifically disrupt cognitive function. *Nature Neuroscience* 2004 8:1, 8(1), 79–84. <https://doi.org/10.1038/nn1372>
- Cotman, C. W., Poon, W. W., Rissman, R. A., & Blurton-Jones, M. (2005). The Role of Caspase Cleavage of Tau in Alzheimer Disease Neuropathology. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 64(2), 104-112. <https://doi.org/10.1093/JNEN/64.2.104>
- Davis, K. L., Martin, E., Turko, I. v, & Murad, F. (2001). NOVEL EFFECTS OF NITRIC OXIDE. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 41, 203–239.
- Diaz-Hernandez, J. I., Gomez-Villafuertes, R., León-Otegui, M., Hontecillas-Prieto, L., del Puerto, A., Trejo, J. L., Lucas, J. J., Garrido, J. J., Gualix, J., Miras-Portugal, M. T., & Diaz-Hernandez, M. (2012). In vivo P2X7 inhibition reduces amyloid plaques in Alzheimer's disease through GSK3 β and secretases. *Neurobiology of Aging*, 33(8), 1816–1828. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2011.09.040>
- Directrices de la OMS para la reducción de los riesgos de deterioro cognitivo y demencia - NCBI Bookshelf. (2020). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK583455/>
- Ennaceur, A., & Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural Brain Research*, 31(1), 47-59. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(88\)90157-X](https://doi.org/10.1016/0166-4328(88)90157-X)
- Ersoy, Y., Özerol, E., Baysal, O., Temel, I., MacWalter, R. S., Meral, U., & Altay, Z. E. (2002). Serum nitrate and nitrite levels in patients with rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, and osteoarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 61(1), 76. <https://doi.org/10.1136/ARD.61.1.76>
- Eshghi, S. T., Yang, S., Wang, X., Shah, P., Li, X., & Zhang, H. (2014). Imaging of N-Linked glycans from formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections using MALDI mass spectrometry. *ACS Chemical Biology*, 9(9), 2149-2156. https://doi.org/10.1021/CB500405H/SUPPL_FILE/CB500405H_SI_001.PDF

- Freir, D. B., Nicoll, A. J., Klyubin, I., Panico, S., Mc Donald, J. M., Risse, E., Asante, E. A., Farrow, M. A., Sessions, R. B., Saibil, H. R., Clarke, A. R., Rowan, M. J., Walsh, D. M., & Collinge, J. (2011). Interaction between prion protein and toxic amyloid β assemblies can be therapeutically targeted at multiple sites. *Nature Communications*, 2(1), 336. <https://doi.org/10.1038/NCOMMS1341>
- Forest, K. H., Taketa, R., Arora, K., Todorovic, C., & Nichols, R. A. (2021). The Neuroprotective Beta Amyloid Hexapeptide Core Reverses Deficits in Synaptic Plasticity in the 5xFAD APP/PS1 Mouse Model. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 14, 50. <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2021.576038/BIBTEX>
- Fraschilla, I., & Pillai, S. (2017). Viewing Siglecs through the lens of tumor immunology. *Immunol. Rev.*, 276(1), 178-191. <https://doi.org/10.1111/imr.12526>
- Freeze, H. H., Eklund, E. A., Ng, B. G., & Patterson, M. C. (2015). Neurological aspects of human glycosylation disorders. *Annu. Rev. Neurosci.*, 38, 105-125. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071714-034019>
- Fukuda, T., Hashimoto, H., Okayasu, N., Kameyama, A., Onogi, H., Nakagawasai, O., Nakazawa, T., Kurosawa, T., Hao, Y., Isaji, T., Tadano, T., Narimatsu, H., Taniguchi, N., & Gu, J. (2011). α 1,6-Fucosyltransferase-deficient Mice Exhibit Multiple Behavioral Abnormalities Associated with a Schizophrenia-like Phenotype: IMPORTANCE OF THE BALANCE BETWEEN THE DOPAMINE AND SEROTONIN SYSTEMS*. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(21), 18434. <https://doi.org/10.1074/JBC.M110.172536>
- Gauthier S., Webster C., Servaes S., Morais JA., & Rosa-Neto P. (2022). Life after diagnosis: Navigating treatment, care and support. London, England: Alzheimer's Disease International. <https://www.alzint.org/u/World-Alzheimer-Report-2022.pdf>
- Gilson, V., Mbebi-Liegeois, C., Sellal, F., & De Barry, J. (2015). Effects of Low Amyloid- β ($A\beta$) Concentration on $A\beta$ 1-42 Oligomers Binding and GluN2B Membrane Expression. *Journal of Alzheimer's Disease*, 47(2), 453. <https://doi.org/10.3233/JAD-142529>
- Glass, C. K., Saijo, K., Winner, B., Marchetto, M. C., & Gage, F. H. (2010). Mechanisms Underlying Inflammation in Neurodegeneration. *Cell*, 140(6), 918. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2010.02.016>
- Goedert, M. (2015). Alzheimer's and Parkinson's diseases: The prion concept in relation to assembled $A\beta$, tau, and α -synuclein. *Science*, 349(6248). https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1255555/ASSET/913ABD0F-5892-4C0E-BB86-369F48D38A6B/ASSETS/GRAPHIC/349_1255555_FA.JPEG
- Greenwald, J., & Riek, R. (2010). Biology of Amyloid: Structure, Function, and Regulation. *Structure*, 18(10), 1244-1260. <https://doi.org/10.1016/J.STR.2010.08.009>
- Griess, P. (1858), Preliminary notice of the reaction of nitrous acid with picramic acid and aminonitrophenol. *Ann. Chem. Pharm.* 106, 123-125
- Haass, C., & Selkoe, D. J. (2007). Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid β -peptide. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2007 8:2, 8(2), 101-112. <https://doi.org/10.1038/nrm2101>

- Hammonds, J. E., Beeman, N., Ding, L., Takushi, S., Francis, A. C., Wang, J. J., Melikyan, G. B., & Spearman, P. (2017). Siglec-1 initiates formation of the virus-containing compartment and enhances macrophage-to-T cell transmission of HIV-1. *PLOS Pathog.*, 13(1). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006181>
- Heneka, M. T., Kummer, M. P., & Latz, E. (2014). Innate immune activation in neurodegenerative disease. *Nature Reviews Immunology* 2014 14:7, 14(7), 463–477. <https://doi.org/10.1038/nri3705>
- Hernández Espinosa, D. R., Barrera Morín, V., Briz Tena, O., González Herrera, E. A., Laguna Maldonado, K. D., Jardínez Díaz, A. S., Sánchez Olivares, M., Matuz Mares, D., Hernández Espinosa, D. R., Barrera Morín, V., Briz Tena, O., González Herrera, E. A., Laguna Maldonado, K. D., Jardínez Díaz, A. S., Sánchez Olivares, M., & Matuz Mares, D. (2019). El papel de las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno en algunas enfermedades neurodegenerativas. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 62(3), 6-19. <https://doi.org/10.22201/FM.24484865E.2019.62.3.03>
- Hernández, P., Tetaert, D., Vergoten, G., Debray, H., del Carmen Jimenez, M., Alvarez, G., Agundis, C., Degand, P., & Zenteno, E. (2004). Specificity of *Amaranthus leucocarpus* syn. *hypocondriacus* lectin for O-glycopeptides. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2004.07.008>
- Hernández-Zimbrón, L. F., Ucharima-Corona, L. E., Tlapanco-Beltrán, C., Ferreyra-Severo, E., Ramirez-Hernandez, E., & Catorce-Nava, M. (2021). Relation between amino-truncated amyloid beta peptide (AβN3-42 and AβN11-42) mitochondrial deposition and the activation of inflammation-oxidative mechanisms in the lens epithelium in age-related cataract from diabetic patients. *Alzheimer's & Dementia*, 17, e057868. <https://doi.org/10.1002/ALZ.057868>
- Hippius, H., & Neundörfer, G. (2003). The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 5(1), 101. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2003.5.1/HHIPPIUS>
- Hoshi, K., Ito, H., Abe, E., Fuwa, T. J., Kanno, M., Murakami, Y., Abe, M., Murakami, T., Yoshihara, A., Ugawa, Y., Saito, T., Saido, T. C., Matsumoto, K., Yamaguchi, Y., Furukawa, K., Arai, H., Kanai, M., Miyajima, M., Arai, H., ... Hashimoto, Y. (2021). Transferrin biosynthesized in the brain is a novel biomarker for alzheimer's disease. *Metabolites*, 11(9), 616. <https://doi.org/10.3390/METABO11090616/S1>
- Insausti, R., & Amaral, D. G. (2003). Hippocampal Formation. *The Human Nervous System: Second Edition*, 871-914. <https://doi.org/10.1016/B978-012547626-3/50024-7>
- Hernández Ortega Karina, Arias Álvarez Clorinda, & Quiroz Baez Ricardo David. (2012). ASPECTOS MOLECULARES DEL ENVEJECIMIENTO. Instituto de Geriatria de los Estados Unidos Mexicanos http://www.geriatria.salud.gob.mx/descargas/publicaciones/aspectos_moleculares.pdf
- Ji, I. J., Hua, S., Shin, D. H., Seo, N., Hwang, J. Y., Jang, I. S., Kang, M. G., Choi, J. S., & An, H. J. (2015). Spatially-resolved exploration of the mouse brain glycome by tissue glyco-capture (TGC) and nano-LC/MS. *Analytical chemistry*, 87(5), 2869-2877. <https://doi.org/10.1021/AC504339T>

- Ji, Z., Liu, C., Zhao, W., Soto, C., & Zhou, X. (2019). Systematically understanding the key roles of microglia in AD development. *BioRxiv*, 601054. <https://doi.org/10.1101/601054>
- Jucker, M., & Walker, L. C. (2013). Self-propagation of pathogenic protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nature* 2013 501:7465, 501(7465), 45–51. <https://doi.org/10.1038/nature12481>
- Kabat, E. A., & Pereira, M. E. A. (1974). Specificity of Purified Hemagglutinin (Lectin) from *Lotus tetragonolobus*. *Biochemistry*, 13(15), 3184-3192. https://doi.org/10.1021/BI00712A029/ASSET/BI00712A029.FP.PNG_V03
- Kesner, R. P. (2007). Behavioral functions of the CA3 subregion of the hippocampus. *Learning & Memory* (Cold Spring Harbor, N.Y.), 14(11), 771–781. <https://doi.org/10.1101/LM.688207>
- Kesner, R. P. (2013). An analysis of the dentate gyrus function. *Behavioural Brain Research*, 254, 1–7. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2013.01.012>
- Kim, J., Choi, Y., Ahn, M., Jung, K., & Shin, T. (2018). Olfactory Dysfunction in Autoimmune Central Nervous System Neuroinflammation. *Molecular Neurobiology* 2018 55:11, 55(11), 8499-8508. <https://doi.org/10.1007/S12035-018-1001-4>
- Koller, E. J., & Chakrabarty, P. (2020). Tau-Mediated Dysregulation of Neuroplasticity and Glial Plasticity. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 13, 151. <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2020.00151/BIBTEX>
- Kovács, R. A., Vadász, H., Bulyáki, E., Török, G., Tóth, V., Mátyás, D., Kun, J., Hunyadi-Gulyás, E., Fedor, F. Z., Csincsi, A., Medzihradzky, K., Homolya, L., Juhász, G., Kékesi, K. A., Józsi, M., Györffy, B. A., & Kardos, J. (2021). Identification of Neuronal Pentraxins as Synaptic Binding Partners of C1q and the Involvement of NP1 in Synaptic Pruning in Adult Mice. *Frontiers in Immunology*, 11, 3792. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.599771/BIBTEX>
- Krenz, V., Alink, A., Sommer, T., Rooszendaal, B., & Schwabe, L. (2023). Time-dependent memory transformation in hippocampus and neocortex is semantic in nature. *Nature Communications* 2023 14:1, 14(1), 1-17. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41648-1>
- Laine, R. A. (1994). A calculation of all possible oligosaccharide isomers both branched and linear yields 1.05×10^{12} structures for a reducing hexasaccharide: the Isomer Barrier to development of single-method saccharide sequencing or synthesis systems. *Glycobiology*, 4(6), 759-767. <https://doi.org/10.1093/glycob/4.6.759>
- Lamprecht, R., & LeDoux, J. (2004). Structural plasticity and memory. *Nature Reviews Neuroscience* 2004 5:1, 5(1), 45–54. <https://doi.org/10.1038/nrn1301>
- Larriva-Sahd, J. A. (2014). Some predictions of rafael lorente de no 80 years later. *Frontiers in Neuroanatomy*, 8(DEC), 123350. <https://doi.org/10.3389/FNANA.2014.00147/BIBTEX>
- Lavenex, P., & Amaral, D. G. (2000). Hippocampal-Neocortical Interaction: A Hierarchy of Associativity. <https://doi.org/10.1002/1098-1063>
- Lazcano, Z., Solis, O., Bringas, M. E., Limón, D., Diaz, A., Espinosa, B., García-Peláez, I., Flores, G., & Guevara, J. (2014). Unilateral injection of A β 25-35 in the hippocampus reduces

- the number of dendritic spines in hyperglycemic rats. *Synapse*, 68(12), 585-594. <https://doi.org/10.1002/SYN.21770>
- Le Duigou, C., Simonnet, J., Teleńczuk, M. T., Fricker, D., & Miles, R. (2014). Recurrent synapses and circuits in the CA3 region of the hippocampus: An associative network. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7(JAN), 74371. <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2013.00262/BIBTEX>
- Lee, M. M., Nasirikenari, M., Manhardt, C. T., Ashline, D. J., Hanneman, A. J., Reinhold, V. N., & Lau, J. T. Y. (2014). Platelets support extracellular sialylation by supplying the sugar donor substrate. *J. Biol. Chem.*, 289(13), 8742-8748. <https://doi.org/10.1074/jbc.c113.546713>
- Limón, I. D., Díaz, A., Mendieta, L., Chamorro, G., Espinosa, B., Zenteno, E., & Guevara, J. (2009). Amyloid- β 25–35 impairs memory and increases NO in the temporal cortex of rats. *Neuroscience Research*, 63(2), 129–137. <https://doi.org/10.1016/J.NEURES.2008.11.006>
- Limón, I. D., Ramírez, E., Díaz, A., Mendieta, L., Mayoral, M. Á., Espinosa, B., Guevara, J., & Zenteno, E. (2011). Alteration of the sialylation pattern and memory deficits by injection of A β (25-35) into the hippocampus of rats. *Neuroscience Letters*, 495(1), 11-16. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2011.03.006>
- Linnemann, D., & Skarsfelt, T. (1994). Regional changes in expression of NCAM, GFAP, and S100 in aging rat brain. *Neurobiology of Aging*, 15(5), 651-655. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(94\)00060-3](https://doi.org/10.1016/0197-4580(94)00060-3)
- Liu, J., Huang, S., & Lu, F. (2018). Galectin-3 and Galectin-9 May Differently Regulate the Expressions of Microglial M1/M2 Markers and T Helper 1/Th2 Cytokines in the Brains of Genetically Susceptible C57BL/6 and Resistant BALB/c Mice Following Peroral Infection With *Toxoplasma gondii*. *Frontiers in Immunology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01648>
- Lozano, L., Guevara, J., Lefebvre, T., Ramos-Martinez, I., Limón, D., Díaz, A., Cerón, E., & Zenteno, E. (2017). Effect of amyloid- β (25-35) in hyperglycemic and hyperinsulinemic rats, effects on phosphorylation and O-GlcNAcylation of tau protein. *Neuropeptides*, 63, 18-27. <https://doi.org/10.1016/J.NPEP.2017.04.001>
- Luna-Viramontes, N. I., Campa-Córdoba, B. B., Ontiveros-Torres, M. A., Harrington, C. R., Villanueva-Fierro, I., Guadarrama-Ortíz, P., Garcés-Ramírez, L., de la Cruz, F., Hernandez-Alejandro, M., Martínez-Robles, S., González-Ballesteros, E., Pacheco-Herrero, M., & Luna-Muñoz, J. (2020). PHF-Core Tau as the Potential Initiating Event for Tau Pathology in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14, 557238. <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2020.00247/BIBTEX>
- Marr, D. (1971). Simple memory: a theory for archicortex. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 262(841), 23-81. <https://doi.org/10.1098/rstb.1971.0078>
- Matsubara, N., Imamura, A., Yonemizu, T., Akatsu, C., Yang, H., Ueki, A., Watanabe, N., Abdu-Allah, H., Numoto, N., Takematsu, H., Kitazume, S., Tedder, T. F., Marth, J. D., Ito, N., Ando, H., Ishida, H., Kiso, M., & Tsubata, T. (2018). CD22-binding synthetic sialosides regulate B Lymphocyte proliferation through CD22 ligand-dependent and independent

- pathways, and enhance antibody production in mice. *Front. Immunol.*, 9(APR), 820. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00820>
- McCarthy, C., Saldiva, R., Wormald, M. R., Rudd, P. M., McElvaney, N. G., & Reeves, E. P. (2014). The role and importance of glycosylation of acute phase proteins with focus on alpha-1 antitrypsin in acute and chronic inflammatory conditions. *Journal of Proteome Research*, 13(7), 3131-3143. https://doi.org/10.1021/PR500146Y/ASSET/IMAGES/LARGE/PR-2014-00146Y_0004.JPG
- Makkar, S. R., Zhang, S. Q., & Cranney, J. (2010). Behavioral and Neural Analysis of GABA in the Acquisition, Consolidation, Reconsolidation, and Extinction of Fear Memory. *Neuropsychopharmacology* 2010 35:8, 35(8), 1625–1652. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.53>
- Miguel Gutiérrez-Robledo, L., Arrieta-Cruz, I., Luis, *, Gutiérrez, M., & Dirección, R. (2015). Demencias en México: la necesidad de un Plan de Acción GACETA MÉDICA DE MÉXICO SIMPOSIO Correspondencia. www.anmm.org.mx
- Miranda, K. M., Espey, M. G., & Wink, D. A. (2001). A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. *Nitric Oxide*, 5(1), 62–71. <https://doi.org/10.1006/NIOX.2000.0319>
- Miwa, H. E., Song, Y., Alvarez, R., Cummings, R. D., & Stanley, P. (2012). The bisecting GlcNAc in cell growth control and tumor progression. *Glycoconjugate Journal*, 29(8-9), 609-618. <https://doi.org/10.1007/S10719-012-9373-6>
- Monnier, G. D., Erdelmeier, I., Régnard, K., Moze-Henry, N., Yadan, J. C., & Chaudière, J. (1998). Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4- hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chemical Research in Toxicology*, 11(10), 1176–1183. <https://doi.org/10.1021/TX9701790/ASSET/IMAGES/LARGE/TX9701790F00007.JPEG>
- Montreuil, J. (1995). Chapter 1 The History of Glycoprotein Research, a Personal View. *New Comprehensive Biochemistry*, 29(PA), 1-12. [https://doi.org/10.1016/S0167-7306\(08\)60584-0](https://doi.org/10.1016/S0167-7306(08)60584-0)
- Morris, R. G. M. (2006). Elements of a neurobiological theory of hippocampal function: the role of synaptic plasticity, synaptic tagging and schemas. *Eur. J. Neurosci.*, 23(11), 2829-2846. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04888.x>
- Moshage, H. (1997). Nitric Oxide Determinations: Much Ado About NO•-Thing? *Clinical Chemistry*, 43(4), 553–556. <https://doi.org/10.1093/CLINCHEM/43.4.553>
- Munro, J. M., Lo, S. K., Corless, C., Robertson, M. J., Lee, N. C., Barnhill, R. L., Weinberg, D. S., & Bevilacqua, M. P. (1992). Expression of sialyl-Lewis X, an E-selectin ligand, in inflammation, immune processes, and lymphoid tissues. *The American Journal of Pathology*, 141(6), 1397. [/pmc/articles/PMC1886750/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14609568/)
- Murrell, G. A. C., Jang, D., & Williams, R. J. (1995). Nitric Oxide Activates Metalloprotease Enzymes in Articular Cartilage. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 206(1), 15–21. <https://doi.org/10.1006/BBRC.1995.1003>

- Ohkawa, N., Saitoh, Y., Suzuki, A., Tsujimura, S., Murayama, E., Kosugi, S., Nishizono, H., Matsuo, M., Takahashi, Y., Nagase, M., Sugimura, Y. K., Watabe, A. M., Kato, F., & Inokuchi, K. (2015). Artificial association of pre-stored information to generate a qualitatively new memory. *Cell Rep.*, 11(2), 261-269. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.03.017>
- Orta-Salazar, E., Cuellar-Lemus, C. A., Díaz-Cintra, S., & Feria-Velasco, A. I. (2014). Cholinergic markers in the cortex and hippocampus of some animal species and their correlation to Alzheimer's disease. *Neurología (English Edition)*, 29(8), 497-503. <https://doi.org/10.1016/J.NRLENG.2012.10.010>
- Orta-Salazar, E., Feria-Velasco, A. I., & Díaz-Cintra, S. (2019). Alteraciones en la corteza motora primaria en la enfermedad de Alzheimer: estudio en el modelo 3xTg-AD. *Neurología*, 34(7), 429-436. <https://doi.org/10.1016/J.NRL.2017.02.016>
- Ortega, L., Calvillo, M., Luna, F., Pérez-Severiano, F., Rubio-Osornio, M., Guevara, J., & Limón, I. D. (2014). 17-AAG improves cognitive process and increases heat shock protein response in a model lesion with A β 25-35. *Neuropeptides*, 48(4), 221-232. <https://doi.org/10.1016/J.NPEP.2014.04.006>
- Park, C., Kim, J., Ahn, M., Choi, Y., & Shin, T. (2020). Glycan changes in the olfactory mucosa of rats with experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Research*, 1732, 146649. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2020.146649>
- Parra, I., Martínez, I., Ramírez-García, G., Tizabi, Y., & Mendieta, L. (2019). Differential Effects of LPS and 6-OHDA on Microglia's Morphology in Rats: Implications for Inflammatory Model of Parkinson's Disease. *Neurotoxicity Research* 2019 37:1, 37(1), 1-11. <https://doi.org/10.1007/S12640-019-00104-Z>
- Patricio-Martínez, A., Sánchez-Zavaleta, R., Angulo-Cruz, I., Gutierrez-Praxedis, L., Ramírez, E., Martínez-García, I., & Limón, I. D. (2019). The Acute Activation of the CB1 Receptor in the Hippocampus Decreases Neurotoxicity and Prevents Spatial Memory Impairment in Rats Lesioned with β -Amyloid 25-35. *Neuroscience*, 416, 239-254. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2019.08.001>
- Paxinos, G., & Watson, C. (2013). Rat brain in stereotaxic coordinates. 472.
- Pérez-Severiano, F., Salvatierra-Sánchez, R., Rodríguez-Pérez, M., Cuevas-Martínez, E. Y., Guevara, J., Limón, D., Maldonado, P. D., Medina-Campos, O. N., Pedraza-Chaverrí, J., & Santamaría, A. (2004). S-Allylcysteine prevents amyloid- β peptide-induced oxidative stress in rat hippocampus and ameliorates learning deficits. *European Journal of Pharmacology*, 489(3), 197-202. <https://doi.org/10.1016/J.EJP.2004.03.001>
- Potapenko, I. O., Haakensen, V. D., Lüders, T., Helland, Å., Bukholm, I., Sørli, T., Kristensen, V. N., Lingjærde, O. C., & Børresen-Dale, A. L. (2010). Glycan gene expression signatures in normal and malignant breast tissue; possible role in diagnosis and progression. *Molecular Oncology*, 4(2), 98-118. <https://doi.org/10.1016/J.MOLONC.2009.12.001>
- Pradhan, A. K., Shi, Q., Tartler, K. J., & Rammes, G. (2022). Quantification of astrocytic synaptic pruning in mouse hippocampal slices in response to ex vivo A β treatment via

- colocalization analysis with C1q. *STAR Protocols*, 3(4), 101687. <https://doi.org/10.1016/J.XPRO.2022.101687>
- Ralston, S. H. (1997). The Michael Mason Prize Essay 1997. Nitric oxide and bone: what a gas! *Rheumatology*, 36(8), 831–838. <https://doi.org/10.1093/RHEUMATOLOGY/36.8.831>
- Ramírez-Amaya, V., Balderas, I., Sandoval, J., Escobar, M. L., & Bermúdez-Rattoni, F. (2001). Spatial long-term memory is related to mossy fiber synaptogenesis. *Journal of Neuroscience*, 21(18), 7340–7348. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-18-07340.2001>
- Ramírez, E., Mendieta, L., Flores, G., & Limón, I. D. (2018). Neurogenesis and morphological-neural alterations closely related to amyloid β -peptide (25-35)-induced memory impairment in male rats. *Neuropeptides*, 67, 9-19. <https://doi.org/10.1016/J.NPEP.2017.11.001>
- Ramírez, E., Sánchez-Maldonado, C., Mayoral, M. A., Mendieta, L., Alatríste, V., Patricio-Martínez, A., & Limón, I. D. (2019). Neuroinflammation induced by the peptide amyloid- β (25-35) increase the presence of galectin-3 in astrocytes and microglia and impairs spatial memory. *Neuropeptides*, 74, 11-23. <https://doi.org/10.1016/J.NPEP.2019.02.001>
- Ramírez Hernández, E., Alanis Olvera, B., Carmona González, D., Guerrero Marín, O., Pantoja Mercado, D., Valencia Gil, L., Hernández-Zimbrón, L. F., Sánchez Salgado, J. L., Limón, I. D., & Zenteno, E. (2022). Neuroinflammation and galectins: a key relationship in neurodegenerative diseases. *Glycoconjugate Journal* 2022 39:5, 39(5), 685-699. <https://doi.org/10.1007/S10719-022-10064-W>
- Ramírez Hernández, E., Sánchez-Maldonado, C., Mayoral Chávez, M. A., Hernández-Zimbrón, L. F., Patricio Martínez, A., Zenteno, E., & Limón Pérez de León, I. D. (2020). The therapeutic potential of galectin-1 and galectin-3 in the treatment of neurodegenerative diseases. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 20(5), 439-448. <https://doi.org/10.1080/14737175.2020.1750955>
- Ramírez-Hernández, E., Sánchez-Maldonado, C., Patricio-Martínez, A., & Limón, I. D. (2023). Amyloid- β (25-35) induces the morphological alteration of dendritic spines and decreases NR2B and PSD-95 expression in the hippocampus. *Neuroscience Letters*, 795, 137030. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2022.137030>
- Ramos-Martínez, I., Martínez-Loustalot, P., Lozano, L., Issad, T., Limón, D., Díaz, A., Pérez-Torres, A., Guevara, J., & Zenteno, E. (2018). Neuroinflammation induced by amyloid β 25-35 modifies mucin-type O-glycosylation in the rat's hippocampus. *Neuropeptides*, 67, 56-62. <https://doi.org/10.1016/J.NPEP.2017.11.008>
- Reddy, P. H., & Beal, M. F. (2008). Amyloid beta, mitochondrial dysfunction and synaptic damage: implications for cognitive decline in aging and Alzheimer's disease. *Trends in Molecular Medicine*, 14(2), 45–53. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2007.12.002>
- Rebelo, A. L., Gubinelli, F., Roost, P., Jan, C., Brouillet, E., Van Camp, N., Drake, R. R., Saldova, R., & Pandit, A. (2021). Complete spatial characterisation of N-glycosylation upon striatal neuroinflammation in the rodent brain. *Journal of Neuroinflammation*, 18(1), 1-19. <https://doi.org/10.1186/S12974-021-02163-6/FIGURES/6>

- Reily, C., Stewart, T. J., Renfrow, M. B., & Novak, J. (2019). Glycosylation in health and disease. *Nature Reviews Nephrology* 2019 15:6, 15(6), 346-366. <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0129-4>
- Roy, D. S., Arons, A., Mitchell, T. I., Pignatelli, M., Ryan, T. J., & Tonegawa, S. (2016). Memory retrieval by activating engram cells in mouse models of early Alzheimer's disease. *Nature*, 531(7595), 508-512. <https://doi.org/10.1038/nature17172>
- Roy, D. S., Park, Y. G., Kim, M. E., Zhang, Y., Ogawa, S. K., DiNapoli, N., Gu, X., Cho, J. H., Choi, H., Kamentsky, L., Martin, J., Mosto, O., Aida, T., Chung, K., & Tonegawa, S. (2022). Brain-wide mapping reveals that engrams for a single memory are distributed across multiple brain regions. *Nature Communications* 2022 13:1, 13(1), 1-16. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29384-4>
- Samal, J., Saldova, R., Rudd, P. M., Pandit, A., & O'Flaherty, R. (2020). Region-Specific Characterization of N-Glycans in the Striatum and Substantia Nigra of an Adult Rodent Brain. *Analytical Chemistry*, 92(19), 12842-12851. https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.0C01206/ASSET/IMAGES/LARGE/AC0C01206_0004.JPEG
- Scarlsbrick, I. A., & Jones, E. G. (1993). NCAM immunoreactivity during major developmental events in the rat maxillary nerve-whisker system. *Developmental Brain Research*, 71(1), 121-135. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(93\)90113-O](https://doi.org/10.1016/0165-3806(93)90113-O)
- Schedin-Weiss, S., Winblad, B., & Tjernberg, L. O. (2014). The role of protein glycosylation in Alzheimer disease. *The FEBS Journal*, 281(1), 46-62. <https://doi.org/10.1111/FEBS.12590>
- Scott, D. W., Vallejo, M. O., & Patel, R. P. (2013). Heterogenic endothelial responses to inflammation: role for differential N-glycosylation and vascular bed of origin. *J. Am. Heart Assoc.*, 2(4). <https://doi.org/10.1161/jaha.113.000263>
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 20(1), 11-21. <https://doi.org/10.1136/jnnp.20.1.11>
- Sehar, U., Rawat, P., Reddy, A. P., Kopel, J., & Reddy, P. H. (2022). Amyloid Beta in Aging and Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21). <https://doi.org/10.3390/IJMS232112924>
- Selkoe, D. J. (1991). The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron*, 6(4), 487-498. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90052-2](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90052-2)
- Selkoe, D. J. (1997). Alzheimer's Disease--Genotypes, Phenotype, and Treatments. *Science*, 275(5300), 630-631. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.275.5300.630>
- Selkoe, D. J. (2001). Alzheimer's disease: Genes, proteins, and therapy. *Physiological Reviews*, 81(2), 741-766. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.2001.81.2.741/ASSET/IMAGES/LARGE/9J0210134004.JPEG>
- Serge Gauthier, Claire Webster, Stijn Servaes, José A. Morais, & Pedro Rosa-Neto. (2022). World Alzheimer Report 2022 - Life after diagnosis: Navigating treatment, care and support. *Alzheimer's Disease International*. <https://www.alzint.org/u/World-Alzheimer-Report-2022.pdf>

- Sharma, V., Srinivas, V. R., Adhikari, P., Vijayan, M., & Surolia, A. (1998). Molecular basis of recognition by Gal/GalNAc specific legume lectins: influence of Glu 129 on the specificity of peanut agglutinin (PNA) towards C2-substituents of galactose. *Glycobiology*, 8(10), 1007–1012. <https://academic.oup.com/glycob/article/8/10/1007/602428>
- Shankar, G. M., Bloodgood, B. L., Townsend, M., Walsh, D. M., Selkoe, D. J., & Sabatini, B. L. (2007). Natural Oligomers of the Alzheimer Amyloid- β Protein Induce Reversible Synapse Loss by Modulating an NMDA-Type Glutamate Receptor-Dependent Signaling Pathway. *Journal of Neuroscience*, 27(11), 2866–2875. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4970-06.2007>
- Shimizu, H., Ochiai, K., Ikenaka, K., Mikoshiba, K., & Hase, S. (1993). Structures of N-Linked Sugar Chains Expressed Mainly in Mouse Brain. *The Journal of Biochemistry*, 114(3), 334-338. <https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.JBCHEM.A124177>
- Silvia Gra Menéndez, Noel Padrón Pérez, & Juan de Jesús Llibre Rodríguez. (2002). Péptido beta amiloide, proteína Tau y enfermedad de Alzheimer. *Rev Cubana Invest Bioméd*, 21(4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002002000400006
- Smith, M. A., Rudnicka-Nawrot, M., Richey, P. L., Praprotnik, D., Mulvihill, P., Miller, C. A., Sayre, L. M., & Perry, G. (1995). Carbonyl-Related Posttranslational Modification of Neurofilament Protein in the Neurofibrillary Pathology of Alzheimer's Disease. *Journal of Neurochemistry*, 64(6), 2660-2666. <https://doi.org/10.1046/J.1471-4159.1995.64062660.X>
- Spiro, R. G. (2002). Protein glycosylation: nature, distribution, enzymatic formation, and disease implications of glycopeptide bonds. *Glycobiology*, 12(4), 43R-56R. <https://doi.org/10.1093/glycob/12.4.43r>
- Spreng, D., Sigrist, N., Schweighauser, A., Busato, A., & Schawalder, P. (2001). Endogenous Nitric Oxide Production in Canine Osteoarthritis: Detection in Urine, Serum, and Synovial Fluid Specimens. *Veterinary Surgery*, 30(2), 191–199. <https://doi.org/10.1053/JVET.2001.21397>
- Takeuchi, T., Duzskiewicz, A. J., Sonneborn, A., Spooner, P. A., Yamasaki, M., Watanabe, M., Smith, C. C., Fernández, G., Deisseroth, K., Greene, R. W., & Morris, R. G. M. (2016). Locus coeruleus and dopaminergic consolidation of everyday memory. *Nature* 2016 537:7620, 537(7620), 357-362. <https://doi.org/10.1038/nature19325>
- Thomas Carazo, E., & Nadal Blanco, M. (2001). Abordaje diagnóstico y terapéutico de la demencia en atención primaria. *Medicina de Familia. SEMERGEN*, 27(11), 575-586. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-familia-semergen-40-articulo-abordaje-diagnostic-o-terapeutico-demencia-atencion-13023105>
- Tomita, M., Sato, E. F., Nishikawa, M., Yamano, Y., & Inoue, M. (2001). Nitric Oxide Regulates Mitochondrial Respiration and Functions of Articular Chondrocytes. *ARTHRITIS & RHEUMATISM*, 44(1), 96–104. <https://doi.org/10.1002/1529-0131>
- Trudy McKee, & James R. McKee. (2016). Carbohidratos: Vol. Bioquímica (McKee T. & McKee J.R, Eds.; 5a ed.). McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1960§ionid=148095255>

- Tung, J. T., Venta, P. J., & Caron, J. P. (2002). Inducible nitric oxide expression in equine articular chondrocytes: effects of antiinflammatory compounds. *Osteoarthritis and Cartilage*, 10(1), 5–12. <https://doi.org/10.1053/JOCA.2001.0476>
- Tuppo, E. E., & Arias, H. R. (2005). The role of inflammation in Alzheimer's disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37(2), 289-305. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCEL.2004.07.009>
- Tyan, S. H., Shih, A. Y. J., Walsh, J. J., Maruyama, H., Sarsoza, F., Ku, L., Eggert, S., Hof, P. R., Koo, E. H., & Dickstein, D. L. (2012). Amyloid precursor protein (APP) regulates synaptic structure and function. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 51(1-2), 43-52. <https://doi.org/10.1016/J.MCN.2012.07.009>
- Vandersteen, A., Hubin, E., Sarroukh, R., De Baets, G., Schymkowitz, J., Rousseau, F., Subramaniam, V., Raussens, V., Wenschuh, H., Wildemann, D., & Broersen, K. (2012). A comparative analysis of the aggregation behavior of amyloid- β peptide variants. *FEBS Letters*, 586(23), 4088-4093. <https://doi.org/10.1016/J.FEBSLET.2012.10.022>
- Varki, A. (2017). Biological roles of glycans. *Glycobiology*, 27(1), 3. <https://doi.org/10.1093/GLYCOB/CWW086>
- Von Rechenberg, B., Guenther, H., McIlwraith, C. W., Leutenegger, C., Frisbie, D. D., Akens, M. K., & Auer, J. A. (2000). Fibrous Tissue of Subchondral Cystic Lesions in Horses Produce Local Mediators and Neutral Metalloproteinases and Cause Bone Resorption in Vitro. *Veterinary Surgery*, 29(5), 420–429. <https://doi.org/10.1053/JVET.2000.7538>
- Walsh, D. M., & Selkoe, D. J. (2004). Deciphering the Molecular Basis of Memory Failure in Alzheimer's Disease. *Neuron*, 44(1), 181–193. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2004.09.010>
- World Health Organization. (2017). Global action plan on the public health response to dementia 2017 - 2025. Geneva: World Health Organization. <http://apps.who.int/bookorders>.
- World Health Organization. (2022, septiembre 20). Dementia. Dementia. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
- Yan, L., Wilkins, P. P., Alvarez-Manilla, G., Do, S. Il, Smith, D. F., & Cummings, R. D. (1997). Immobilized lotus tetragonolobus agglutinin binds oligosaccharides containing the Le(x) determinant. *Glycoconjugate Journal*, 14(1), 45-55. <https://doi.org/10.1023/A:1018508914551/METRICS>
- Yang, W. H., Aziz, P. V., Heithoff, D. M., Mahan, M. J., Smith, J. W., & Marth, J. D. (2015). An intrinsic mechanism of secreted protein aging and turnover. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(44), 13657-13662. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1515464112/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Zhang, G., & Stackman, R. W. (2015). The role of serotonin 5-HT_{2A} receptors in memory and cognition. *Frontiers in Pharmacology*, 6(OCT). <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2015.00225>