



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO  
POLITÉCNICO NACIONAL

SEDE SUR

Departamento de farmacobiología

Caracterización de la excitabilidad neuronal en corteza prefrontal de ratón en  
un modelo agudo de activación inmune sistémica.

Tesis que presenta

**Q.F.B. Guadalupe Santiago Jiménez**

Para obtener el grado de

**Maestra en Ciencias en**

**Neurofarmacología y Terapéutica Experimental**

**Director de la tesis:** Dr. Emilio Javier Galván Espinosa

*“Es preciso sacudir enérgicamente el bosque de las neuronas cerebrales adormecidas; es menester hacerlas vibrar con la emoción de lo nuevo e infundirles nobles y elevadas inquietudes”*

**-Santiago Ramón y Cajal**

Este trabajo se realizó en el Laboratorio 9 del departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Contó con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del proyecto de investigación CB-2016-281617 para el Dr. Emilio Javier Galván Espinosa y la beca número 718589 a Guadalupe Santiago Jiménez.

# Índice

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>I</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>II</b>
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>III</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>V</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VI</b>
<b>1. NEUROINFLAMACIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1 SISTEMA INMUNOLÓGICO E INFLAMACIÓN.....	1
1.1.1 LIPOPOLISACÁRIDO .....	2
1.2 LIPOPOLISACÁRIDO Y NEURO INFLAMACIÓN .....	4
1.2.1 <i>Astrocitos</i> .....	5
1.2.2 <i>Microglía</i> .....	7
1.2.3 <i>Mediadores inflamatorios</i> .....	11
<b>2. CORTEZA PREFRONTAL</b> .....	<b>12</b>
2.1 PROPIEDADES INTRÍNSECAS DE LAS NEURONAS .....	15
2.1.1 <i>Potencial de membrana</i> .....	15
2.1.2 <i>Potencial de acción</i> .....	16
2.1.3 <i>Propiedades pasivas</i> .....	18
2.1.4 <i>Propiedades activas</i> .....	19
<b>3. EFECTOS DE LA ACTIVACIÓN INMUNE SISTÉMICA EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL</b> .....	<b>20</b>
<b>4. EL USO DE LPS COMO MODELO DE NEUROINFLAMACIÓN</b> .....	<b>21</b>
<b>5. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>24</b>
<b>6. HIPÓTESIS</b> .....	<b>26</b>
<b>7. OBJETIVOS</b> .....	<b>26</b>
7.1 OBJETIVO GENERAL .....	26
7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
<b>8. MATERIAS Y MÉTODOS</b> .....	<b>26</b>
8.1 DECLARACIÓN ÉTICA .....	26
8.2 ANIMALES .....	26

8.3	DISEÑO EXPERIMENTAL .....	27
8.4	OBTENCIÓN DE REBANADAS EX VIVO DE CORTEZA PREFRONTAL.....	27
8.5	REGISTRO DE PATCH-CLAMP EN MODALIDAD DE CÉLULA COMPLETA.....	28
8.6	DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES INTRÍNSECAS .....	28
8.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	29
<b>9.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>31</b>
9.1	LA ACTIVACIÓN INMUNE SISTÉMICA MODIFICA PROPIEDADES INTRÍNSECAS DE LAS NEURONAS PRELÍMBICAS DE LA CORTEZA MEDIA PREFRONTAL .....	32
9.2	LA ACTIVACIÓN INMUNE SISTÉMICA MODIFICA EL UMBRAL DE ACTIVACIÓN DE LOS POTENCIALES DE ACCIÓN EN LAS NEURONAS PRELÍMBICAS DE LA CORTEZA MEDIA PREFRONTAL .....	34
9.3	LA ACTIVACIÓN INMUNE SISTÉMICA NO AUMENTA LA FRECUENCIA DE DISPARO, PERO MODIFICA LA CINÉTICA DE DISPARO DE LAS NEURONAS PRELÍMBICAS DE LA CORTEZA PREFRONTAL .....	37
9.4	LA ADMINISTRACIÓN DE LPS MODIFICA LA AMPLITUD DE LOS PA DE LAS NEURONAS PRELÍMBICAS.....	38
9.5	LA DESPOLARIZACIÓN SOSTENIDA REVELA ALTERACIONES EN EL PATRÓN DE DISPARO DE LAS NEURONAS PRELÍMBICAS EXPUESTAS A LPS .....	40
9.6	LA ADMINISTRACIÓN SISTÉMICA DE LPS DISMINUYE EL POSTPOTENCIAL HIPERPOLARIZANTE Y LAS CORRIENTES DE REPOLARIZACIÓN QUE SIGUEN A UN POTENCIAL DE ACCIÓN.....	42
<b>10.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>46</b>
<b>11.</b>	<b>CONCLUSIÓN .....</b>	<b>50</b>
<b>12.</b>	<b>PERSPECTIVAS .....</b>	<b>50</b>
<b>13.</b>	<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>51</b>

## Índice de figuras

Figura 1. Representación esquemática de los tres dominios principales de la molécula LPS

Figura 2. Activación de la señalización inmune por lipopolisacárido

Figura 3. Activación de la microglía

Figura 4. Inflamación sistémica, neuroinflamación y vías específicas

Figura 5. Conexiones anatómicas principales de la corteza prefrontal

Figura 6. Fases del potencial de acción

Figura 7. Patrón de disparo

Figura 8. Propiedades intrínsecas de la neurona

Figura 9. Umbral de activación y cinética del potencial de acción

Figura 10. Frecuencia de disparo

Figura 11. Cinética de potenciales de acción

Figura 12. Características de disparo de neuronas piramidales de la corteza medial prefrontal

Figura 13. Corriente post hiperpolarizante

Figura 14. Post potencial hiperpolarizante.

## Índice de tablas

Tabla 1. Funciones de algunas citocinas participantes en procesos neuroinflamatorios

Tabla 2. Organización histológica de capas moleculares en corteza prefrontal

Tabla 3. Tipos de canales iónicos

Tabla 5. Parámetros de cinética de disparo de potenciales de acción

## Abreviaturas

<b>4AP</b>	4-aminopiridina
<b>ATP</b>	Trifosfato de adenosina
<b>Ba<sup>2+</sup></b>	Bario
<b>BDNF</b>	Factor neurotrófico derivado del cerebro
<b>C1q</b>	Complemento 1q
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Calcio
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Cloruro de calcio
<b>CCL</b>	Proteína quimiotáctica de monocitos
<b>CD14</b>	Grupo de diferenciación 14
<b>CD18</b>	Grupo de diferenciación 18
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>COX-2</b>	Prostaglandina-endoperóxido sintasa 2
<b>CSF1</b>	Factor estimulante de colonias de macrófagos
<b>FGF</b>	Factor de crecimiento de fibroblastos
<b>GABA</b>	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
<b>GDNF</b>	Factor neurotrófico derivado de la glía
<b>GFAP</b>	Proteína glial fibrilar ácida
<b>i.p</b>	Intraperitoneal
<b>i.v</b>	Intravenosa
<b>I<sub>AHP</sub></b>	Corriente post hiperpolarizante
<b>IB</b>	Ráfaga de disparo
<b>Iba-1</b>	Adaptador de unión a calcio ionizado molécula 1
<b>IGF-1</b>	Factor de crecimiento insulínico tipo 1
<b>IKK</b>	Quinasa K
<b>IKK<math>\alpha</math></b>	Quinasa $\alpha$
<b>IKK<math>\beta</math></b>	Quinasa $\beta$
<b>IKK<math>\gamma</math></b>	Quinasa gama
<b>IL</b>	Infralímbica
<b>IL-10</b>	Interleucina 10
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Interleucina 1 $\beta$
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>iNOS</b>	Óxido nítrico sintasa
<b>IRAK4</b>	Cinasa 4 asociada al receptor de IL-1
<b>I<math>\kappa</math>B</b>	Inhibidor del potenciador génico de la cadena ligera $\kappa$ en las células B
<b>I<math>\kappa</math>B</b>	Cinasa I $\kappa$ B
<b>K<sup>+</sup></b>	Potasio



<b>KCl</b>	Cloruro de calcio
<b>LBP</b>	Proteína de unión a lípidos
<b>LPS</b>	Lipopolisacárido
<b>LTP</b>	Potenciación a largo plazo
<b>MAPK</b>	Proteína quinasa activada por mitógeno
<b>MD2</b>	Factor de diferenciación mieloide 2
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	Cloruro de magnesio
<b>mPFC</b>	Corteza medial prefrontal
<b>MyD88</b>	Gen de respuesta primaria de diferenciación mieloide 88
<b>Na<sup>+</sup></b>	Sodio
<b>NaCl</b>	Cloruro de Sodio
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	Difosfato de sodio
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	Bicarbonato de sodio
<b>NF-κB</b>	Factor nuclear kappa B
<b>NGF</b>	Factor de crecimiento nervioso
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno
<b>pA</b>	pico amperio
<b>PA</b>	Potencial de acción
<b>PAMP</b>	Patrón molecular asociado a patógeno
<b>PFC</b>	Corteza prefrontal
<b>PI3K</b>	Proteína cinasa 3-fosfatidilinositol
<b>PL</b>	Prelímbica
<b>PMR</b>	Potencial de membrana en reposo
<b>Rn</b>	Resistencia de entrada
<b>RS</b>	Disparo regular
<b>SK</b>	Canales de potasio activados por calcio de pequeña conductancia
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>TAK1</b>	Cinasa activada por mitógeno quinasa 7
<b>Tau</b>	Constante de tiempo
<b>TEA</b>	Tetraetilamonio
<b>TGF-β</b>	Factor de crecimiento transformante β
<b>TLR4</b>	Receptor toll like tipo 4
<b>TNF-α</b>	Factor de necrosis tumoral α
<b>TRAF6</b>	Factor 6 asociado al receptor de TNF
<b>TTX</b>	Tetrodotoxina
<b>UBC13</b>	Enzima conjugadora de ubiquitina 13
<b>UEV1A</b>	Variante de enzima conjugadora de ubiquitina 1A

## Resumen

Las infecciones sistémicas son aquellas causadas por patógenos donde el agente causal penetra en el huésped y se esparce a órganos de diferentes aparatos o sistemas. Las infecciones conducen al pródromo y posterior desarrollo característico de las enfermedades. Estos síntomas característicos tras un desafío inflamatorio periférico, demuestra la comunicación de la inflamación sistémica con el cerebro.

Se ha reportado extensivamente que la inflamación sistémica tiene consecuencias perjudiciales en diversas funciones cerebrales, cuando la inflamación es lo suficientemente grave o el cerebro muestra vulnerabilidades debido a predisposición genética, envejecimiento o a enfermedades neurodegenerativas.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar las alteraciones electrofisiológicas en neuronas piramidales de corteza medial prefrontal de ratón, veinticuatro horas posteriores a una infección aguda ocasionada por LPS. Dando como resultados cambios significativos en diferentes parámetros intrínsecos de la neurona, así como cambios en la excitabilidad neuronal, al aumentar transitoriamente del número de potenciales de acción para su posterior adaptación o silenciamiento, con protocolos de disparo prolongado. En conclusión, nuestros resultados muestran cambios en las propiedades intrínsecas de la membrana celular en los animales administrados con LPS, así como cambios en la excitabilidad neuronal, los cuales podrían estar mediados por conductancias de activación tardía.

## Abstact

Systemic infections are those caused by pathogens whose causative agent penetrates the host and spreads to organs in different apparatus or systems. Infections lead to the prodrome and the subsequent development of diseases. These characteristic symptoms following a peripheral inflammatory challenge demonstrate the communication of systemic inflammation with the brain.

Systemic inflammation has been extensively reported to have detrimental consequences on various brain functions, when the inflammation is severe enough or the brain shows vulnerabilities due to genetic predisposition, aging or neurodegenerative diseases.

The aim of the present work was to evaluate the electrophysiological alterations in prefrontal medial cortex pyramidal neurons of mice, twenty-four hours after an acute infection caused by LPS. Resulting in significant changes in different intrinsic parameters of the neuron, as well as changes in neuronal excitability, by temporarily increasing the number of action potentials for subsequent adaptation or silencing, with extended trigger protocols. In conclusion, our results show changes in intrinsic cell membrane properties in animals administered with LPS, as well as changes in neuronal excitability, which could be mediated by late activation conductance's.

# 1. Neuroinflamación

## 1.1 Sistema inmunológico e inflamación

El sistema inmunológico se define como el conjunto de células y órganos encargados de proteger al organismo contra infecciones y otras enfermedades (van Aerde y Feldmeyer, 2015); además, contribuye con la homeostasis al contener o eliminar amenazas a la integridad del organismo (Hagen y Derudder, 2019). De acuerdo con el tipo de respuesta del huésped ante alguna etiología, las respuestas inmunológicas se dividen en innatas y adaptativas. Mientras que la primera evoluciona a partir de un linaje mieloide, la segunda tiene un origen linfoide (Abbas et al., 2018). La respuesta inmune innata es rápida y consisten en la activación y participación de mecanismos preexistentes, incluidas las barreras naturales (piel y mucosa), células fagocíticas y otras células linfocíticas innatas. La respuesta inmune adaptativa es lenta y se dirige contra un microorganismo o antígeno específico previamente reconocido (Aristizábal y González, 2013). La inmunidad innata está codificada en la línea germinal, sus receptores no son clónicos, lo que da lugar a una mayor capacidad para reconocer una amplia gama de patrones moleculares asociados a patógenos (*Pathogen-associated molecular pattern*, por sus siglas en inglés, PAMPs) tales como virus y bacterias (Janeway et al., 2001; Dustin, 2012; Janeway y Medzhitov, 2002). De la misma manera el sistema inmunológico es capaz de distinguir entre células sanas y células dañinas (células dañadas por agentes no infecciosos) mediante el reconocimiento de moléculas endógenas liberadas por las células dañadas mediante patrones moleculares asociados a daño (*Damage-associated molecular pattern*, por sus siglas en inglés, DAMPs). La inmunidad innata es la primera en responder ante alguna agresión o infección. Cuando el organismo reconoce alguna infección, el sistema inmune utiliza citocinas y quimiocinas para inducir respuestas inflamatorias que promueven la entrada de anticuerpos y linfocitos efectores al sitio de infección (Abbas et al., 2018; Justiz Vaillant y Jan, 2019).

La inflamación es un tipo de respuesta producida por estímulos y afecciones nocivas, como infecciones y lesiones tisulares (Medzhitov, 2008). Por su tipo de respuesta y duración la inflamación puede dividirse en 1) inflamación aguda y 2) inflamación crónica. La primera se

caracteriza por desencadenar respuestas graves y rápidas las cuales duran solo algunos días. La segunda se caracteriza por ser lenta y con períodos prolongados que puede durar varios meses o inclusive años (Fleit, 2014).

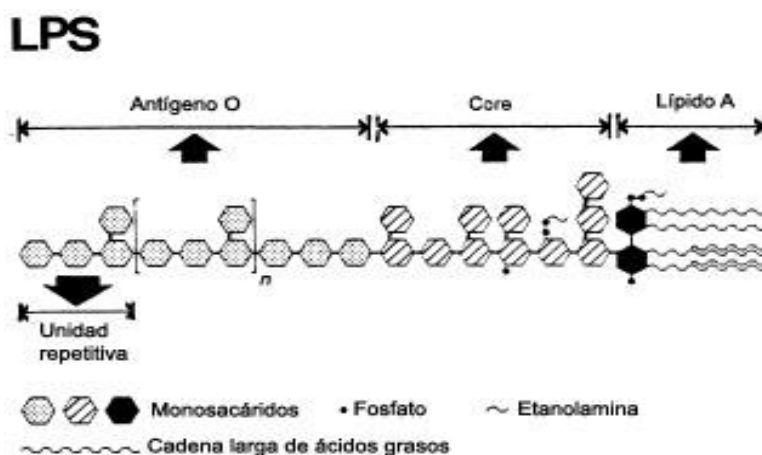
Los procesos inflamatorios pueden ser inducidos por PAMPs presentes en diferentes patógenos, tales como el LPS, un componente de la pared celular de bacterias Gram negativas (Lopes, 2016; da Cunha Franceschi et al., 2017). La acción inflamatoria del LPS es crucial para frenar las infecciones bacterianas, pero las respuestas excesivas del huésped al LPS pueden provocar afecciones inflamatorias sistémicas (Płóciennikowska et al., 2015).

Los eventos inflamatorios sistémicos como sepsis, periodontitis, infecciones, fracturas óseas y traumatismos postoperatorios pueden dar lugar a altos niveles sostenidos de citocinas proinflamatorias circulantes y han sido asociados con un deterioro cognitivo a largo plazo (Sheppard et al., 2019). En este sentido, se ha observado que la inflamación sistémica exagera los procesos de algunas enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, la esclerosis múltiple y la esclerosis lateral amiotrófica (Qin et al., 2007; Sheppard et al., 2019).

### 1.1.1 Lipopolisacárido

En 1892, Richard Pfeiffer definió por primera vez la endotoxina como una sustancia tóxica estable al calor que se liberaba al romper las envolturas microbianas (Sampath, 2018). El LPS es una endotoxina presente en la membrana externa de las bacterias Gram negativas (Lopes, 2016; Cochet y Peri, 2017). La estructura general del LPS consta de lípidos y carbohidratos, por ello se nombran como "*Lipopolisacáridos*" (Erridge et al., 2002).

El LPS consta de tres fracciones principales: una porción de glucolípido llamada lípido A, el oligosacárido central, y una región antígeno O (figura 1) (Cochet y Peri, 2017). El lípido A es el componente hidrofílico, es la porción de anclaje a la membrana y está asociado con la toxicidad de este componente. La región O es hidrofílica, compuesta por un polímero de unidades repetidas que consta de 1 a 8 residuos glicosídicos altamente variable entre especies bacterianas. La región O está directamente relacionada con la inmunogenicidad (Lu et al., 2008; Sampath, 2018). El oligosacárido central está compuesto por una serie corta de aproximadamente 10 a 15 glúcidos, media la unión de los linfocitos T activados y es esencial para las propiedades de permeabilidad de la membrana (Moran, 2001; Erridge et al., 2002; Cochet y Peri, 2017). En cada cepa bacteriana, la estructura del lípido A está altamente conservada, mientras que la del núcleo de oligosacárido y la región O puede ser muy variables.



*Figura 1 Representación esquemática de los tres dominios principales de la molécula LPS (modificado de Moran, 2001).*

El LPS estimula las respuestas inmunes y mejora las reacciones inmunes celulares (Sampath, 2018). Sin embargo, puede inducir inflamación sistémica y sepsis si se producen señales excesivas (Lu et al., 2008; Skelly et al., 2013; da Cunha Franceschi et al., 2017).

El LPS desencadena respuestas inflamatorias sobre las células de mamíferos a través de los receptores para LPS, es decir, CD14-MD2 (proteína de diferenciación mielóide-2) -TLR4 (receptor tipo Toll 4), moléculas CD11 / CD18 y receptores captadores para moléculas lipídicas) (Lu et al., 2008; Wang et al., 2009). La principal vía de interacción y la más

estudiada del LPS, es su unión con el receptor TLR4 la cual conduce a la activación del factor nuclear kappa-B (NF-κB). Lo anterior desencadena la liberación de citocinas proinflamatorias y por lo tanto a procesos inflamatorios.

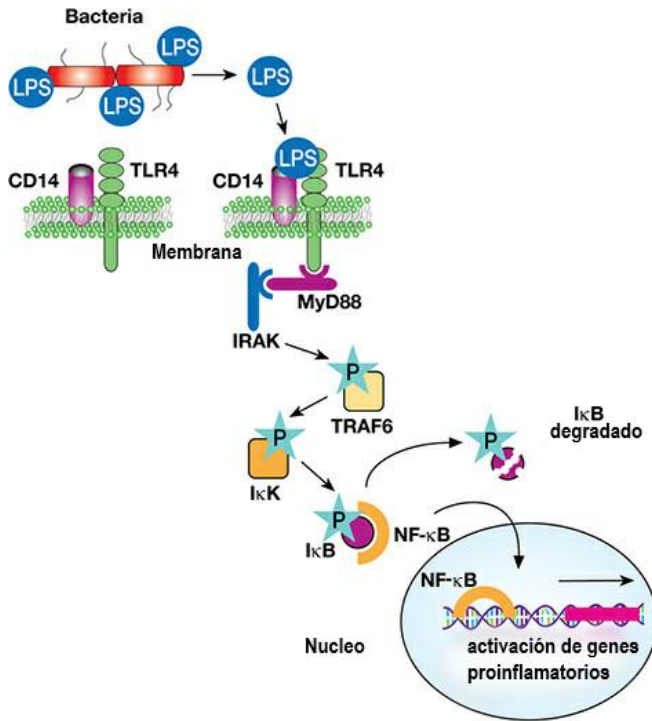
## 1.2 Lipopolisacárido y neuroinflamación

La neuroinflamación y, en general todo tipo de inflamación es una respuesta inmune fundamental para resguardar el organismo ante algún daño. Este tipo de respuesta surge de fuentes tanto endógenas como exógenas (Cherry et al., 2014).

En general la neuroinflamación es una respuesta que involucra a todos las células presentes dentro del sistema nervioso central (SNC), incluidas las neuronas, macroglía y microglía (Schain y Kreisl, 2017). La activación de la microglía es el componente principal de la neuroinflamación en el SNC y esta representa la primera línea de defensa cuando existe una lesión o enfermedad (Tang y Le, 2016).

El LPS periférico puede inducir neuroinflamación indirectamente mediante varias vías neuronales y humorales tales como: por el estado de la actividad neuronal y la permeabilidad barrera hematoencefálica, que posteriormente induce liberación de citocinas dentro del cerebro o, recluta células inmunes; y la activación por los receptores TLR de órganos circunventriculares (Brown, 2019; Sheppard et al., 2019). La propuesta que la inflamación fuera del SNC aumenta la señalización inflamatoria dentro del SNC, promoviendo la activación de microglía y su transición a un estado activo M1 (Schain y Kreisl, 2017).

La respuesta inmune M1 de la microglía desencadena la neuroinflamación por la activación del receptor TLR4 que se expresa en microglía y astrocitos en el SNC (Shabab et al., 2017). Lo anterior a través PAMPs o proteínas intracelulares liberadas de las neuronas dañadas (Hoogland et al., 2015). El TLR4 al reconocer la molécula de LPS se une secuencialmente a la proteína de unión a lípidos (LBP), al grupo de diferenciación 14 (CD14), y finalmente al factor de diferenciación mielóide 2 (MD-2), promoviendo la formación del receptor multimérico (TLR4 / MD-2 LPS) en la membrana plasmática (Sestito et al., 2017). Lo anterior inicia la respuesta primaria de MyD88 dependiente de señalización intracelular (Cochet y



**Figura 2 Activación de la señalización inmune por lipopolisacárido bacteriano (LPS).** El LPS de la pared celular de las bacterias Gramnegativas está unido a la molécula de reconocimiento de patrón Toll-like receptor 4 (TLR4) junto con el receptor de superficie celular CD14. La unión de LPS conduce al reclutamiento de las proteínas adaptadoras MyD88 e IRAK al dominio citoplasmático de TLR4. Este complejo inicia una cascada de señalización de eventos de fosforilación a través de TRAF6 y la cinasa IκK. Finalmente, IκK fosforila a IκB, un inhibidor unido al factor de transcripción NF-κB. El IκB fosforilado se degrada, liberando NF-κB, que migra al núcleo donde activa la transcripción de genes proinflamatorios (modificado de Varki, et al 2015)

Peri, 2017). Tras la estimulación con LPS, MyD88 recluta y activa la cinasa 4 asociada al receptor de IL-1 (IRAK-4), la cual recluta y activa IRAK-1 para formar un complejo multimolecular (Lu et al., 2008). Este complejo multimolecular fosforila a la proteína adaptadora TRAF6, que a su vez forma un complejo con UBC13 y UEV1A y activa TAK1. Posteriormente TAK1 fosforila a IKK. IKKα, IKKβ e IKKγ forman un complejo y fosforilan las proteínas IκB, lo cual conduce a su degradación y a la posterior translocación al núcleo del factor de transcripción NF-κB (Varki et al., 2015; Varki et al, 2015; Brown, 2019). La translocación de NF-κB al núcleo de la célula, conduce a la activación de genes proinflamatorios

como: el factor de necrosis tumoral α (TNF-α), interleucina-6 (IL-6) e IL-10, iNOS y COX-2 (Lu et al., 2008; Płóciennikowska et al., 2015; Shabab et al., 2017; Brown, 2019).

### 1.2.1 Astrocitos

Los astrocitos son la población más grande de la macroglía dentro del SNC. De origen ectodérmico y neuroepitelial son esencial para el desarrollo normal y homeostasis fisiológicas dentro del SNC (Neal y Richardson, 2018; Verkhatsky y Nedergaard, 2018). Además, su apariencia morfológica es altamente heterogénea. Expresan una multitud de receptores, canales y transportadores de membrana. En condiciones fisiológicas participan en la formación de sinapsis en el desarrollo, la poda neuronal a través de múltiples factores y el contacto directo con la sinapsis. Además, tienen un rol importante en la transmisión



glial y la señalización a través de la liberación y la captura de  $\text{Ca}^{2+}$  (Verkhratsky y Nedergaard, 2018; Neal y Richardson, 2018). Los astrocitos también desempeñan un papel en el mantenimiento de la integridad de la barrera hematoencefálica, al formar pies terminales astrocíticos alrededor de las células endoteliales, contribuyendo así al mantenimiento de esta (Karve et al., 2016). Lo anterior posiciona a los astrocitos como el conducto principal para las interacciones neurona-glía.

Un aumento en la reactividad de los astrocitos en respuesta a la lesión o infección se denomina astrogliosis. La astrogliosis puede ocasionar una morfología hipertrófica, lo que implica la extensión de los procesos inflamatorios de los cuerpos celulares (Karve et al., 2016). Los astrocitos reactivos aumentan el tamaño de su cuerpo celular y el grosor de los procesos astrocíticos (Chun y Lee, 2018). Esta respuesta implica cambios en la morfología de las proteínas del filamento intermedio, la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) y la vimentina; además de proliferación y secreción de mediadores inflamatorios y factores de crecimiento (Karve et al., 2016; Neal y Richardson, 2018).

La astrogliosis es una reacción compleja, de múltiples etapas y específica de la patología generalmente dirigida a la neuroprotección y recuperación del tejido neural (Heneka et al., 2015; Verkhratsky y Nedergaard, 2018). La astrogliosis puede ser inducida, regulada o modulada por una amplia variedad de moléculas extracelulares como proteínas séricas, citocinas u hormonas esteroides que son producidas por células fuera del SNC, incluidas las endotoxinas microbianas, como el LPS (Sofroniew, 2015). Su proliferación difiere según el grado de reactividad: los astrocitos con alta reactividad, también llamados A1, tienen una mayor proliferación, presentan hipertrofia celular y están ocasionados a infecciones, lesiones graves y neurodegeneración. Mientras que los astrocitos levemente reactivos no proliferan en regiones distantes del sitio de la lesión, generalmente se asocia con traumas leves no penetrantes y no contusivos (Anderson et al., 2014; Chun y Lee, 2018).

Los astrocitos reactivos reaccionan a desencadenantes moleculares específicos, los cuales pueden afectar la función neuronal a través de la regulación baja de glutamina sintasa asociada con corrientes sinápticas inhibitorias reducidas en las neuronas locales (Ortinski et al., 2010), el aumento de la expresión de xCT (Slc7a11), un transportador de cisteína-

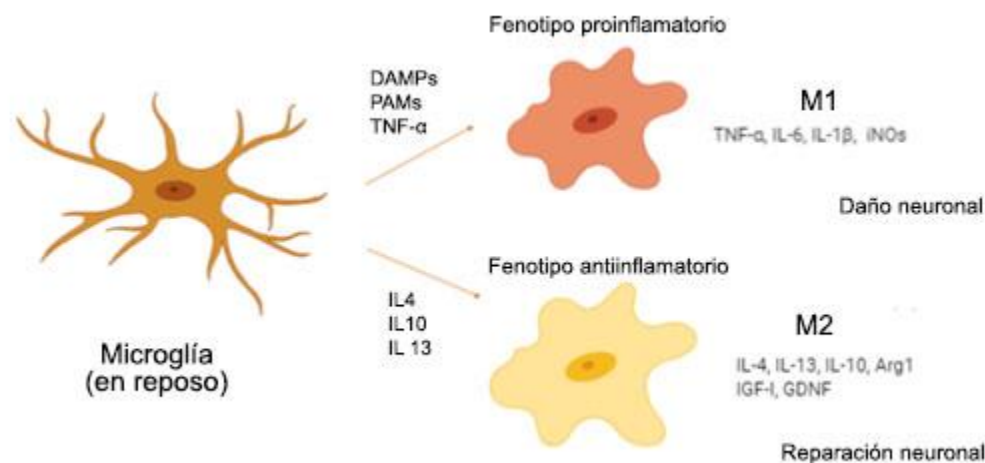
glutamato asociado con una mayor señalización de glutamato (Jackman et al., 2010), y cambios en la expresión de múltiples GPCR y proteínas G y señalización de calcio evocada por sus ligandos (Hamby et al., 2012).

### 1.2.2 Microglía

La microglía son células inmunes innatas residentes del SNC y representan aproximadamente el 10% de las células dentro del SNC, siendo los fagocitos mononucleares más abundantes dentro del cerebro (Schain y Kreisl, 2017). Se originan a partir de progenitores mieloides de manera temprana en el saco vitelino embrionario (Wolf et al., 2017). Posteriormente, en el desarrollo migran al tubo neural donde proliferan, colonizan el parénquima y subsisten a lo largo de la vida del organismo. Además, son capaces de autorrenovarse independientemente de las células madre hematopoyéticas (Wolf et al., 2017; Hickman et al., 2018).

En condiciones fisiológicas, la microglía media una variedad de funciones cerebrales como la homeostasis, poda neuronal y remodelación sináptica (Waisman et al., 2015; Ho, 2019). Además, la microglía es responsable de la fagocitosis, eliminación y secreción de factores solubles como: citocinas, quimioatrayentes y factores neurotrópicos que contribuyen a varios aspectos de la respuesta inmune y reparación de tejidos en el SNC (Colonna y Butovsky, 2017).

La microglía puede encontrarse en dos estados principales distinguibles por su morfología, en reposo (ramificada) tiene múltiples ramas que se extienden desde los somas y terminaciones bulbosas. En su forma activada (amoeboides) los cuerpos celulares se agrandan mientras que los procesos celulares se acortan y cubren áreas más limitadas (Colonna y Butovsky, 2017). Las microglías no responden de forma aislada, sino que forman parte de redes complejas de células que se influyen entre sí, están en movimiento continuo, sobresaliendo y retrayéndose para cubrir largas distancias y examinar grandes áreas del cerebro (Kabba et al., 2018) (Figura 3).



**Figura 3 Activación de la microglía.** La microglía es activada por diversos estímulos que definen el estado de polarización de la célula. Mientras que el IFN- $\gamma$  / LPS promueven el estado proinflamatorio M1, IL-4 / IL-10 o TGF- $\beta$  inducen el estado antiinflamatorio.

Se ha demostrado que la microglía está involucrada en la vigilancia ambiental, una vez que encuentra una sustancia que percibe como extraña o indicativa de daño, entra en un estado “activado” e inicia respuestas que dan como resultado, la inflamación (Cherry et al., 2014). Estas células, pueden activarse en fenotipos proinflamatorios M1 o antiinflamatorios M2 mediante estímulos apropiados (Wolf et al., 2017; Kabba et al., 2018).

#### *Activación a estado M1*

La activación de la microglía a su forma M1 ocurre al activarse los TLR de su superficie celular a través de PAMPs o proteínas intracelulares liberadas de las neuronas dañadas. De igual manera el estado M1 puede activarse por el complemento 1q (C1q) y el ATP liberados por los astrocitos en respuesta a la lesión neuronal (Hoogland et al., 2015). Los efectos funcionales de la forma M1 están orientados hacia la presentación de antígenos y la destrucción de patógenos intracelulares (Cherry et al., 2014). La microglía M1 produce citocinas y quimiocinas proinflamatorias, como TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-23, IL-12, CCL2, IFN $\gamma$  e iNOS (Goldmann y Prinz, 2013; Colonna y Butovsky, 2017). Por lo tanto, el estado M1 induce inflamación y neurotoxicidad, y ha sido relacionado con procesos de neurodegeneración (Nayak et al., 2014).

### *Activación a estado M2*

El estado M2 de la microglía, puede identificarse por la expresión de mediadores o receptores con la capacidad de regular, reparar o proteger el cuerpo de la inflamación (Cherry et al., 2014).

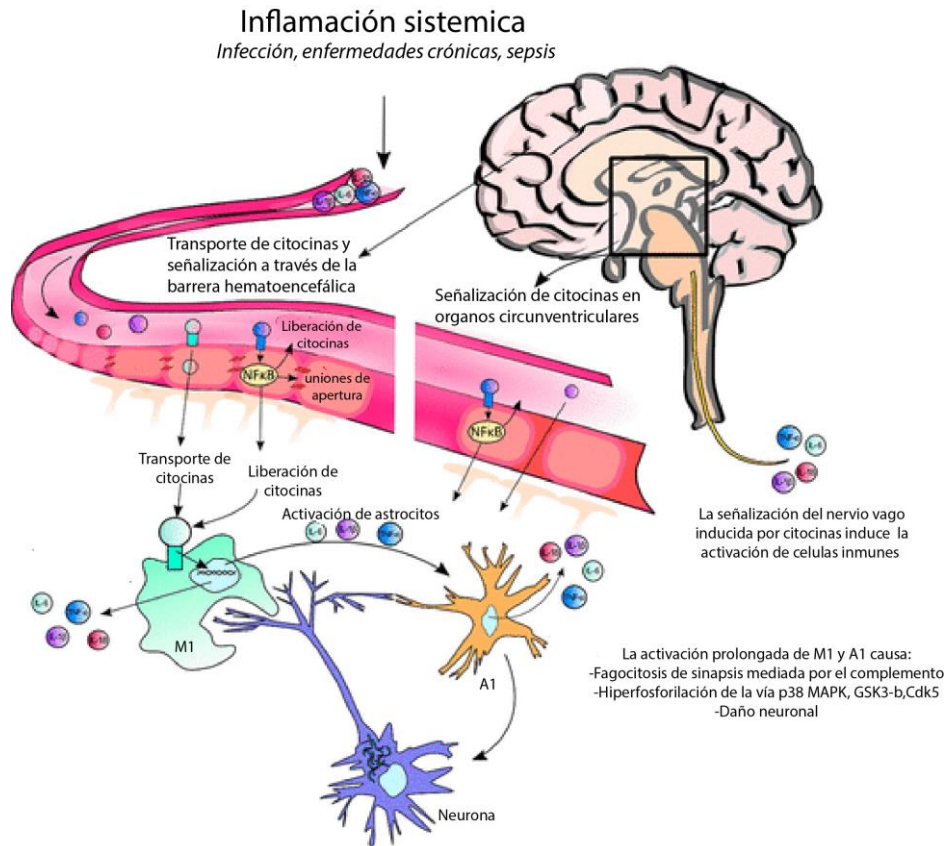
La activación a la forma M2 de la microglía puede ser inducida por: IL-4, IL-13, IL-10, la ligadura de receptores Fc por inmunocomplejos o por células apoptóticas. La activación de M2 promueve la liberación de citocinas antiinflamatorias, como IL-10 y TGF- $\beta$ , e induce la arginasa 1. De la misma manera, M2 secreta factores de crecimiento como IGF-I, FGF y CSF1, así como factores neurotróficos como NGF, BDNF, neurotrófica 4/5 y factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF) (Goldmann y Prinz, 2013; Yin et al., 2017; Colonna y Butovsky, 2017). El estado M2 se ha sido relacionado con la reparación de tejidos y la cicatrización de heridas.

La interacción de la microglía con los astrocitos está implicada en la homeostasis, la inflamación y posiblemente la neurodegeneración (Figura 4). Un desbalance en la activación de la microglía puede provocar neuroinflamación y lesiones al SNC (Hickman et al., 2018).

Diversos estudios sugieren que la activación de la microglía está implicada en diferentes enfermedades neurodegenerativas, tales como, Parkinson, Alzheimer, esclerosis múltiple, entre otras (Schain y Kreisl, 2017; Colonna y Butovsky, 2017; Ho, 2019). También se ha observado su participación en enfermedades por priones (Hickman et al., 2018), y algunos padecimientos psiquiátricos como depresión, esquizofrenia, entre otros (Dantzer et al., 2008; Brites y Fernandes, 2015; Fulenwider et al., 2018).

Se sabe poco sobre cómo los factores proinflamatorios derivados de la microglía influyen en el equilibrio de los aportes excitadores e inhibidores en el cerebro. Sin embargo, distintas líneas de evidencia sugieren firmemente que estos factores están fuertemente involucrados en el control de la fisiología neuronal, incluyendo la fuerza de la transmisión glutamatérgica y GABAérgica (Chugh et al., 2013; Riazi et al., 2015), la inducción de la potenciación a largo plazo (Riazi et al., 2015), depresión (Jingfei Zhang et al., 2014) y el control de diferentes

cascadas de señales en diversos tipos neuronales del SNC (Blank y Prinz, 2013; Kettenmann et al., 2013).



**Figura 4 Inflamación sistémica, neuroinflamación y vías específicas. Inflamación sistémica, neuroinflamación y sus vías asociadas.** La inflamación sistémica, causada por eventos como infección, enfermedad crónica y sepsis, se caracteriza por un aumento de las citocinas proinflamatorias circulantes (por ejemplo, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-18). Estas citocinas pueden enviar señales al sistema nervioso central y cruzar la barrera hematoencefálica, a través de la barrera glial en órganos circunventriculares como el área postrema y estimulando el nervio vago para inducir la señalización dentro del cerebro. Además, estas citocinas pueden unirse a los receptores de las células endoteliales y causar una cascada de señalización en tres direcciones: liberación de citocinas en el torrente sanguíneo, apertura de uniones estrechas entre las células endoteliales y liberación de citocinas en el cerebro. Las citocinas proinflamatorias y las endotoxinas en la periferia también pueden estimular el nervio vago, que se comunica a través de la formación reticular medular, el locus coeruleus y el hipotálamo para estimular el eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal (HPA) (Modificado de Walker et al., 2019).

### 1.2.3 Mediadores inflamatorios

Los mediadores proinflamatorios pueden ser de origen plasmático o celular, y están encargados de regular la respuesta inicial ante alguna infección o agresión al organismo. En procesos neuroinflamatorios, la microglía y astrocitos son posiblemente la principal fuente de citocinas dentro del SNC. Las citocinas contribuyen en la mayoría de los aspectos de neuroinflamación, incluidos los procesos pro y antiinflamatorios, las lesiones neuronales y la quimioatracción (Heneka et al., 2015).

Las citocinas y las quimiocinas son pequeñas moléculas de señalización secretadas importantes para la comunicación inter e intracelular durante la inflamación, infección y/o alteraciones inmunológicas. Las citocinas son proteínas de bajo peso molecular, producidas y secretadas por muchos tipos celulares diferentes que median las reacciones inflamatorias e inmunitarias. Las citocinas tienen actividades pleiotrópicas que pueden desencadenar varias respuestas celulares según el tipo de célula, el momento y el entorno molecular. Estas regulan la intensidad y duración de la respuesta inmunitaria al ejercer diversos efectos sobre linfocitos y otras células inmunitarias que expresan el receptor apropiado (Janeway et al., 2001; Cameron y Kelvin, 2013; Abbas et al., 2018)

Las quimiocinas son una familia de citocinas de masa molecular baja con una estructura homóloga que estimulan la quimiotaxia del leucocito. Además, regulan la migración de los leucocitos desde la sangre a los tejidos mediante la activación de las integrinas del leucocito. También mantienen la organización espacial de diferentes subgrupos de linfocitos y células presentadoras de antígenos dentro de los órganos linfáticos.

Además de la inflamación, las citocinas generalmente funcionan como mediadores de la comunicación celular y desempeñan un papel fundamental durante el desarrollo embrionario, así como el mantenimiento de la homeostasis de los tejidos en el organismo maduro (Evilsizor et al., 2015).

Algunas de las citocinas y quimiocinas participantes en procesos neuroinflamatorios se muestran en la tabla 1 (Janeway et al., 2001; Cameron y Kelvin, 2013; Evilsizor et al., 2015).

**Tabla 1. Funciones de algunas citocinas participantes en procesos neuroinflamatorios**

<b>Citocina</b>	<b>Célula secretora</b>	<b>Función</b>
<b>Interleucina 1-<math>\beta</math> (IL-1<math>\beta</math>)</b>	Monocitos, macrófagos, células endoteliales, células epiteliales, células gliales.	Fiebre, activación de células T, activación de macrófagos
<b>Factor de necrosis tumoral-<math>\alpha</math> (TNF-<math>\alpha</math>)</b>	Macrófagos, monocitos, neutrófilos, células T activadas y células NK.	Inflamación local, activación endotelial
<b>Interleucina-6 (IL-6)</b>	Macrófagos, células endoteliales y células T <sub>H2</sub>	Crecimiento y diferenciación de células T7 y B7, producción de proteínas en fase aguda, fiebre.
<b>Interleucina-12 (IL-12)</b>	Macrófagos, células dendríticas.	Activa las células NK, induce la diferenciación de células T <sub>CD4</sub> a células similares a TH <sub>1</sub>
<b>Interleucina-10 (IL-10)</b>	Células T, macrófagos, células B	Potente supresor de funciones de macrófagos
<b>Factor de crecimiento transformante <math>\beta</math> (TGF-<math>\beta</math>)</b>	Células T, macrófagos, otros tipos de células.	Inhibe el crecimiento celular, antiinflamatorio induce la secreción de IgA.
<b>Proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) o CCL2</b>	Puede ser producida por múltiples tipos de células, incluidos fibroblastos, macrófagos, linfocitos, astrocitos, mastocitos, células endoteliales y osteoblastos	Quimioatrayente de monocitos, células T de memoria y células asesinas naturales (NK).

## 2. Corteza prefrontal

La corteza prefrontal (PFC) es una de las últimas estructuras cerebrales en completar su desarrollo y maduración. La corteza prefrontal recibe proyecciones de una gran variedad de asociaciones sensoriales y cortezas polimodales; tiene fuertes conexiones con el tálamo, los ganglios basales, el hipotálamo, la amígdala, el hipocampo y las cortezas de asociación de los lóbulos temporal y parietal (Fuster, 2001; Barbas, 2009).

Topográficamente la PFC se puede divide en tres regiones distintas: región dorsolateral, medial y orbital (Uylings et al., 2003). Las regiones orbital y medial están involucradas en el

comportamiento emocional. La región lateral está involucrada en la organización temporal de la conducta (Fuster, 2001).

Diversos estudios han vinculado a la corteza media prefrontal (mPFC) en diferentes procesos, tales como: la toma de decisiones, incluida la vigilancia de conflictos, detección de errores, control ejecutivo, y toma de decisiones sobre riesgo y recompensa (Heidbreder y Groenewegen, 2003; Bedwell et al., 2017). Además, esta área ha sido ampliamente estudiada por su relación con el circuito de recompensa (Euston et al., 2012) y su vínculo con la recuperación o extinción de memoria en tareas de miedo condicionado (Marek et al., 2013).

La mPFC se divide en las regiones prelímbica (PL), infralímbica (IL) y cingulada anterior (Bedwell et al., 2017). Las porciones PL e IL están relacionadas con la extinción del miedo condicionado, aumento del comportamiento tipo ansiedad y aumento en la taquicardia a un estímulo condicionado (Fuster, 2008).

La mPFC recibe proyecciones de sistemas de neurotransmisores moduladores, que incluyen proyecciones colinérgicas del prosencéfalo, proyecciones noradrenérgicas del *locus coeruleus*, proyecciones dopaminérgicas de la *sustancia nigra* / área tegmental ventral y proyecciones serotoninérgicas de los *núcleos del rafe* (figura 5) (Fuster, 2001; Euston et al., 2012).

La población neuronal de la mPFC la conforman neuronas piramidales e interneuronas GABAérgicas y colinérgicas. Las neuronas piramidales con proyecciones glutamatérgicas representan aproximadamente el 75–80% y las interneuronas GABAérgicas de circuito local representan un ~20–25% del total de la población neuronal en la mPFC (Santana y Artigas, 2017). Las neuronas piramidales son consideradas las principales neuronas de excitación primaria de la corteza prefrontal (Degenetais et al., 2002). Están ubicadas en las capas infragranulares y participan en numerosas funciones, entre ellas, el control de la conducta (Degenetais et al., 2002; Nevian et al., 2007). Además, por sus características electrofisiológicas, las neuronas piramidales se agrupan de la siguiente manera: neuronas de disparo regular (*regular spiking*, RS por sus siglas en inglés) caracterizadas por disparar



trenes de PAs. Neuronas de disparo intrínseco (*intrinsic bursting, IB*) se caracterizan por disparar ráfagas de PAs (Degenetais et al., 2002; Hattox y Nelson, 2007).

El circuito cortical de la corteza medial prefrontal consta de seis capas que están descritas en la tabla 2.

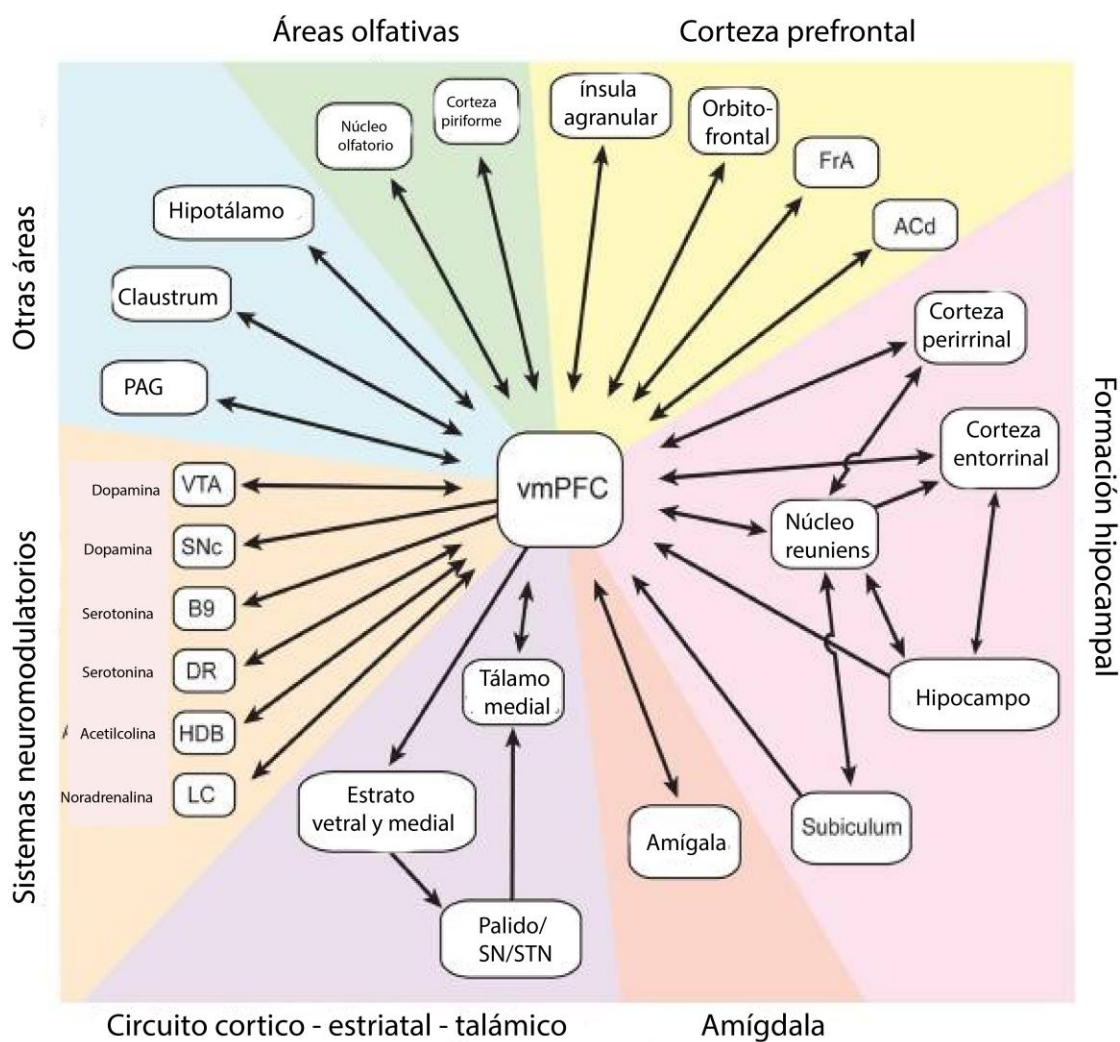


Figura 5 Conexiones anatómicas principales de la mPFC ventral. Las flechas indican direccionalidad de la conexión

**Tabla 2 Organización histológica de capas moleculares en corteza prefrontal.**

<b>Nombre de capa</b>	<b>Población celular</b>	<b>Áreas de proyección</b>
<b>I Molecular</b>	Las células son escasas, solo están representadas por unas pocas células “horizontales” dispersas.	Área receptora de aferencias del tálamo y las neuronas monoaminérgicas del tronco encefálico.
<b>II Granular externa</b>	Consiste en pequeñas células piramidales y células no piramidales.	Área receptora de aferencias corticales
<b>III Piramidal externa</b>	Pequeñas células piramidales	Fibras de asociación cortical y callosa
<b>IV Granular interna</b>	Células granulares espinosas	Aferencias talámicas
<b>V Piramidal interna</b>	Células piramidales de mayor tamaño	Fibras eferentes que se proyectan hacia el tronco encefálico y medula espinal.
<b>VI Multiforme</b>	Varios tipos de células	Algunas neuronas proyectan al tálamo

## 2.1 Propiedades intrínsecas de las neuronas

El término “propiedades eléctricas intrínsecas” o “excitabilidad intrínseca” abarca las características pasivas y activas de la membrana. Además, designa aquellas propiedades de membrana que dotan a una célula de la capacidad de dar forma a los estímulos entrantes y disparar o mantener oscilaciones subumbrales (Llinás, 2014). La plasticidad en la excitabilidad intrínseca puede desempeñar múltiples funciones importantes en procesos de aprendizaje y memoria y las alteraciones en la excitabilidad intrínseca pueden influir en diversas patologías (Schulz, 2006).

La excitabilidad neuronal depende del conjunto de canales iónicos presentes en la membrana celular, así como de las propiedades bioquímicas y la cinética de dichos canales (Schulz, 2006). Los canales iónicos son proteínas de membrana los cuales pueden ser activados por voltaje, estímulos químicos y propagación pasiva de oscilaciones neuronales. Los canales iónicos activados por voltaje permiten a las células nerviosas conducir un impulso eléctrico gracias a tres de sus propiedades: (1) abrirse en respuesta a cambios en el potencial de membrana; (2) posterior cierre e inactivación del canal; y (3) selectividad específica.

### 2.1.1 Potencial de membrana

El potencial de membrana se refiere a la separación de cargas existente a través de la membrana plasmática. En reposo, la membrana es mucho más permeable a los iones  $K^+$

que, a otros iones, como sodio  $\text{Na}^+$  y cloro  $\text{Cl}^-$ . La separación de carga da lugar a una diferencia de potencial eléctrico denominado potencial de membrana. Estos potenciales se generan gracias a las siguientes características de las membranas (1) diferencias en las concentraciones de iones específicos a través de ella, y (2) las membranas son selectivamente permeables a algunos de estos iones (Cardinali, 1993; Purves et al., 2003).

**Tabla 3. Tipos de canales iónicos**

Tipo	Características
<b>Pasivos</b>	
$\text{K}^+$	Abiertos en reposo
$\text{Cl}^-$	Abiertos en reposo
$\text{Na}^+$	Abiertos en reposo
<b>Activos</b>	
$\text{Na}^+$ regulados por voltaje	Se abren por despolarización y con inactivación rápida; son bloqueados con TTX
$\text{K}^+$ "A" (o temprano)	Se abren por despolarización de la membrana: inactivación rápida; son bloqueados por 4AP
$\text{K}^+$ rectificador lento	Se abre lentamente por despolarización; son bloqueados por TEA y 4AP
$\text{K}^+$ rectificador entrante	Se abren por hiperpolarización; se bloquean con $\text{Ca}^{2+}$ y $\text{Ba}^{2+}$
$\text{K}^+$ "M"	La despolarización los abre lentamente y la acetilcolina y otros neurotransmisores lo cierran.
$\text{K}^+$ activado por $\text{Ca}^{2+}$	Abierto por incremento de $\text{Ca}^{2+}$ libre en el citoplasma.
$\text{Ca}^{2+}$ dependientes de voltaje	Se clasifican en dos categorías: canales de $\text{Ca}^{2+}$ de bajo y de alto umbral.

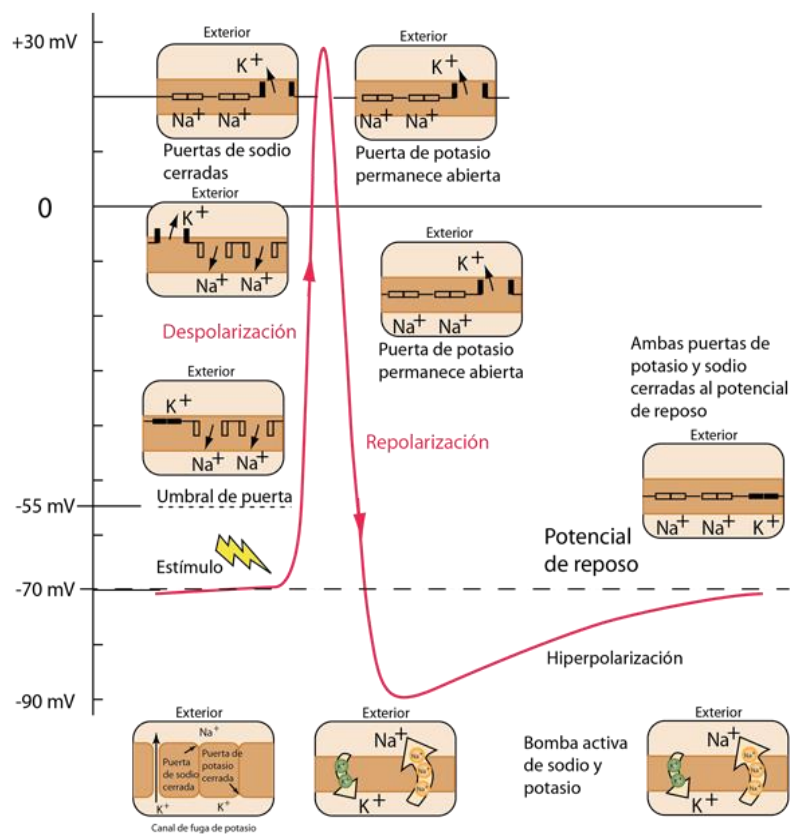
### 2.1.2 Potencial de acción

Se denomina potencial de acción a la secuencia rápida de cambios en el voltaje a través de la membrana. Los potenciales de acción son eventos eléctricos de tipo todo o nada y constan de tres etapas principales: despolarización, repolarización e hiperpolarización (figura 6) (Stuart et al., 1997; Kulbacka et al., 2017; Grider y Glaubenskleee, 2019).

*Despolarización.* Se conoce como despolarización al cambio en el potencial de una célula en reposo, lo que resulta en un potencial de membrana menos negativo. Esta despolarización está determinada por la entrada de iones  $\text{Na}^+$  al interior de la célula a través de canales de sodio activados por voltaje. Esta entrada de  $\text{Na}^+$  al interior de la célula conduce a una mayor despolarización, debido al aumento de cargas positivas (+).

**Repolarización.** En esta fase, se abren los canales de potasio activados por voltaje y simultáneamente se inactivan los canales de sodio dependientes de voltaje. Este movimiento reduce el influjo de iones  $\text{Na}^+$  al interior de la célula. El flujo de iones de  $\text{K}^+$  hacia fuera de la célula da como resultado una disminución gradual de la positividad del potencial de membrana, La pérdida de las cargas positivas al interior de la neurona facilitan el inicio de la hiperpolarización.

**Hiperpolarización.** Esta etapa representa la fase final del ciclo de membranal dependiente de voltaje. Se conoce como hiperpolarización al cambio en el potencial de membrana hacia un estado más negativo. Esto ocurre cuando los iones de  $\text{K}^+$  fluyen hacia afuera de la membrana, haciendo más negativo el interior de la célula.



**Figura 6 Fases del potencial de acción.** El potencial de acción consta de tres fases (1) despolarización, (2) repolarización e (3) hiperpolarización. La primera fase es caracterizada por el aumento en la permeabilidad membranal al  $\text{Na}^+$ . La segunda por el cierre de los canales de  $\text{Na}^+$  y la apertura paulatina de los canales de  $\text{K}^+$  que conduce a una hiperpolarización Fuente de la imagen: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu> Georgia State University..

### 2.1.3 Propiedades pasivas

Las propiedades pasivas determinan la extensión espacial de la propagación y el curso temporal generados por una respuesta sináptica subumbral, y también determina la velocidad de propagación de las respuestas activas supraumbrales (potenciales de acción). Las propiedades pasivas son determinantes para que un potencial sináptico generado en una dendrita induzca una despolarización subumbral en la zona de descarga del cono axónico. Además, las propiedades eléctricas pasivas de la membrana son aquellas que no cambian durante la generación de señales (Kulbacka et al., 2017). Existen tres elementos determinantes de las propiedades eléctricas pasivas: (1) la capacitancia de la membrana, (2) la resistencia eléctrica de la membrana y (3) la resistencia axial intracelular (Cardinali, 1993). A continuación, se definirán algunos conceptos relacionados con las propiedades pasivas de las membranas excitables (Cardinali, 1993; Kulbacka et al., 2017).

*Condensador:* La membrana plasmática es una barrera aislante entre dos medios conductores con diferentes concentraciones de iones: el citoplasma y el espacio extracelular. Por esta razón, se considera como un condensador, que mantiene una diferencia de potencial entre dos superficies.

*Capacitancia:* Es una medida de la cantidad de energía eléctrica almacenada por una diferencia de cargas. La capacitancia en una célula excitable es definida como la capacidad por unidad de superficie de membrana ( $C/A$ ) y su unidad es Faradio/unidad de área.

*Resistencia:* Es la dificultad con la que se mueven las cargas eléctricas en un conductor. Sus unidades son expresadas en ohm (Cardinali, 1993; Kulbacka et al., 2017).

*Conductancia:* Propiedad de membrana de las células excitables que define su permeabilidad a los iones. Es el inverso de la resistencia ( $1/r$ ). Sus unidades son representadas en *Siemens* ( $s$ ) (Cardinali, 1993; Kulbacka et al., 2017).

*Resistencia de entrada:* Es la relación entre la corriente y el voltaje. Determina la magnitud de la despolarización en respuesta a una corriente constante. depende de la densidad y conductancia de los canales iónicos presentes en la membrana plasmática. Sus unidades son medidas en Ohm ( $\Omega$ ) (Cardinali, 1993; Kulbacka et al., 2017).

*Potencial de membrana en reposo:* el potencial de membrana es la diferencia de potencial que existe entre el interior y el exterior de una célula. En reposo los canales iónicos activados por voltaje están cerrados; no se mueven iones a través de ellos; este valor de potencial de la membrana esta dado principalmente por distribución pasiva de los iones  $K^+$ . Este potencial es normalmente expresado en Voltios (V) (Cardinali, 1993; Kulbacka et al., 2017).

*Constante de tiempo o Tau:* Es el tiempo necesario para alcanzar el 63% del voltaje final. Sus unidades son representadas en segundos (s) (Cardinali, 1993; Kulbacka et al., 2017).

*Potenciales electrofónicos.* Cambios del potencial de membrana que no provocan la generación de potenciales de acción y se comportan como potenciales graduados que disminuyen en el tiempo y la distancia (Cardinali, 1993; Kulbacka et al., 2017).

#### 2.1.4 Propiedades activas

Las propiedades activas de la membrana son aquellas que cambian durante la generación de una señal. Estas se originan por modificaciones de la permeabilidad iónica y dan lugar a modificaciones en el potencial de membrana. Estas propiedades se generen cuando el potencial de membrana alcanza un valor crítico, umbral, y se abren los canales iónicos sensibles al voltaje generando así un potencial de acción. A continuación, se mencionarán algunos conceptos importantes en las respuestas activas (Cardinali, 1993; Chen & Lui, 2019).

*Excitabilidad:* capacidad de la célula de reaccionar a la entrada de estímulos a través de la producción de impulsos eléctricos, propagados como potenciales de acción en toda la célula y su axón.

*Potencial de inversión:* El potencial de membrana en el cual la corriente es igual a cero.

*Periodo refractario:* El breve período después de la generación de un potencial de acción durante el cual un segundo potencial de acción es difícil o imposible de obtener.

### 3. Efectos de la activación inmune sistémica en el sistema nervioso central

Está bien documentado que el reto periférico con LPS ocasiona un incremento de citocinas proinflamatorias (Cunningham, 2013; Tang y Le, 2016); dicho incremento puede persistir durante meses (Biesmans et al., 2013). Además, diversos trabajos han documentado que el desafío LPS-periférico o también nombrado sistémico, produce activación de la microglía, conduciendo así a procesos de neuroinflamación (Catorce y Gevorkian, 2016; Colonna y Butovsky, 2017; Wolf et al., 2017; Hickman et al., 2018; Huo et al., 2018; Walker et al., 2019).

La activación de la microglía y la liberación de citocinas proinflamatorias afectan la función neuronal, incluida la neurogénesis, liberación y síntesis de neurotransmisores, tráfico de receptores de membrana que consecuentemente alteran los procesos de plasticidad sináptica a nivel neuronal (Hoogland et al., 2015). La neuroinflamación es común entre varios procesos neuropatológicos y se ha implicado como un mecanismo responsable de la progresión de algunos trastornos neurodegenerativos como: la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple, así como lesión traumática cerebral (Liu y Hong, 2003; Brites y Fernandes, 2015).

Algunos estudios han reportado que la administración aguda y crónica de LPS causa una disminución de la actividad locomotora en la prueba de campo abierto (Fischer et al., 2015; Zhang y Xu, 2018; Zhao et al., 2019). Además, la administración de LPS incrementa la inmovilidad en la prueba de nado forzado (Li et al., 2017; Zhang y Xu, 2018). El LPS causa un comportamiento similar a la depresión, indicado por una disminución del consumo de sacarosa y una reducción en la interacción social (Fischer et al., 2015; Brites y Fernandes, 2015; Li et al., 2017). De manera importante, cabe resaltar que la administración de LPS ocasiona un deterioro en diversos procesos cognitivos, incluido un deterioro en la ejecución de la prueba del laberinto de agua de Morris (Fischer et al., 2015; Abareshi et al., 2016; Abareshi et al., 2016; Abareshi et al., 2016). De la misma manera, se ha reportado una disminución en el peso después de la administración de LPS (Fischer et al., 2015). Además, la literatura ha documentado ampliamente que el LPS produce un incremento en los niveles

de ARNm de marcadores asociados con la identificación microglía (Iba-1) o astrocitos (GFAP) (Abareshi et al., 2016; Zhao et al., 2019).

Algunos investigadores sugieren que la IL-1 y TNF- $\alpha$  modulan la potenciación a largo plazo (LTP o *Long-term potentiation* por sus siglas en inglés) y los procesos de plasticidades dependientes de glutamato (Khairova et al., 2009; Prieto y Cotman, 2017). Estos experimentos sugieren que niveles fisiopatológicos de TNF- $\alpha$  están asociados con la inhibición de la LTP en la región CA1, así como en giro dentado de hipocampo en ratas (Khairova et al., 2009). Mientras que otros estudios realizados en ratones demostraron que el aumento en los niveles de IL-1 $\beta$  suprime LTP, esto también en hipocampo (Prieto y Cotman, 2017).

#### 4. El uso de LPS como modelo de neuroinflamación

La neuroinflamación es un común denominador entre diferentes patologías psiquiátricas y neurodegenerativas (Rao et al., 2012; Zhao et al., 2019). Estudios epidemiológicos indican que el riesgo de padecer algunas de estos padecimientos, esta correlacionado positivamente con afecciones proinflamatorias (diabetes mellitus, síndrome metabólico, hipercolesterolemia), así como, infecciones periféricas acompañadas de inflamación (Catorce y Gevorkian, 2016). Se ha observado en cerebros de pacientes con enfermedades psiquiátricas y neurodegenerativas una marcada astrocitosis, activación de microglía y niveles elevados de citocinas proinflamatorias (Catorce y Gevorkian, 2016).

Por lo cual surgen diferentes modelos experimentales los cuales mimetizan procesos neuroinflamatorios. Lo anterior con la finalidad de tener un mayor entendimiento de como la neuroinflamación podría estar implicada en la generación de cambios temporales o duraderos que afecten a la fisiología neuronal.

La administración sistémica de LPS en ratones y roedores se ha convertido en un modelo bien establecido que imita las infecciones bacterianas, lo que se denomina modelo de endotoxemia y sus efectos pueden observarse en todo el cuerpo, incluido el cerebro, donde induce la neuroinflamación (Ransohoff y Brown, 2012). Los cambios asociados tras la administración de LPS en la morfología de la microglía, niveles de citocinas y las alteraciones



conductuales, pueden variar según el tipo y dosis de administración (aguda o crónica), la cepa de rata o ratón utilizada, así como el serotipo de LPS a administrar. Por lo tanto, es importante elegir de manera adecuada, los puntos antes mencionados.

Los modelos de endotoxemia preclínica más “populares” utilizan ratones sujetos para este tipo de investigación dada la variedad de cepas fácilmente disponibles, incluidas las cepas endogámicas, exógenas y transgénicas. Además, que se ha observado que algunas cepas de ratones tales como C57BL/6J y FVB/NL son altamente susceptibles a la exposición sistémica a LPS, por lo cual son animales idóneos para este tipo de estudios (Fink, 2014; Catorce y Gevorkian, 2016).

Los efectos que la administración de LPS purificado en ratones a través de la ruta intraperitoneal (ip) o la ruta intravenosa (iv), pueda tener es dosis dependiente. Diferentes estudios han encontrado que dosis bajas de LPS tienen efectos neuroinflamatorios en un corto período de tiempo post administración (pocas horas), mientras que los estudios que utilizan dosis altas han encontrado efectos neuroinflamatorios tanto a corto (pocas horas) como a largo plazo (meses) (Lopes, 2016).

La literatura difiere entre las dosis a utilizar para conducir a procesos neuroinflamatorios sin ocasionar sepsis. Algunos autores sugieren la dosis de LPS, que conduce a la muerte en aproximadamente la mitad de los ratones (es decir, la dosis LD<sub>50</sub>) es de aproximadamente 1 a 25 mg / kg (Fink, 2014; Thomas et al., 2014). Otros sugieren que estas dosis son más altas y varía de 5 a 15 mg / kg (Barber et al., 1995; Mahieu et al., 2006; Stortz et al., 2017), ambas dosis son aproximadamente 1,000 veces mayor que la dosis letal estimada de LPS administrada a humano (Fink, 2014; Stortz et al., 2017). En la siguiente tabla se muestran las dosis mayormente utilizadas en la preclínica junto con sus efectos, en diferentes cepas de ratones.

**Tabla 4 Resumen de protocolos de administración de LPS**

<b>Cepa de ratón, dosis de LPS y protocolo</b>	<b>Marcadores neuroinflamatorios</b>	<b>Referencias</b>
BALB/c, 0.33 mg/kg (vía i.p) Sacrificado a las 4h y 24 h	↑ IL-1β e IL-6	(Godbout et al., 2005)
C57BL/6 0.33 mg/kg (vía i.p) Sacrificado a las 2, 4, 24 y 48 h	↑IL-1b, TNFa, IL-6, IL-10 (2-4 horas) en comparación con controles. Sin diferencias significativas 24 y 48 h.	(Spulber et al., 2012)
C57BL / 6J 5mg/kg (vía i.p) Sacrificado a las 1 h, 14 y 21 días, 10 meses.	↑TNF-α	(Qin et al., 2007)
C57BL/6J 1 mg/kg (vía i.p) sacrificado a los 4 días	↑ IL-1β	(Okuyama et al., 2013)
C57BL/6J 2 mg/kg (vía i.p) Sacrificado a las 24 h	↑IL-1β, IL-6 y TNF-α	(Cazareth et al., 2014)
C57BL/6J 0.85 mg/kg (vía i.p) Sacrificado a las 24 h	↑ IL-1β y TNF-α	(Meneses et al., 2018)
Ratón Swiss albino 1 mg/kg (vía i.p) sacrificado a las 2 h	↑ IL-1β	(Tyagi et al., 2007)

## 5. Justificación

Las infecciones son ocasionadas por microorganismos patógenos tales como bacterias, virus o parásitos (Hernández Cortez et al., 2011). Aunque la mayoría de las infecciones son nocivas, un mal tratamiento puede conducir a infecciones sistémicas, o afecciones potencialmente mortales como sepsis (Church et al., 2006). El incremento en la liberación de citocinas proinflamatorias circulantes ha sido asociado con un amplio número de alteraciones neuronales. Entre estas destacan, lesiones cerebrales traumáticas, dolor neuropático, alteración en la consolidación de procesos cognitivos, e inclusive un incremento en la propensión a desarrollar trastornos neuropsiquiátricos (Fernández-Calle et al., 2017). Por una parte, el incremento de TNF- $\alpha$  ha sido relacionado con la progresión acelerada del deterioro cognitivo, ansiedad y depresión (Skelly et al., 2013). Mientras, que el incremento en IL-6 induce reducción en la fuerza de la transmisión sináptica inhibitoria y un incremento en la excitabilidad neuronal en la corteza media prefrontal (García-Oscos et al., 2015). Por otra parte, un aumento en los niveles de IL-1 $\beta$  causan alteraciones en las propiedades electrofisiológicas de las neuronas del sistema nervioso central (Samios e Inoue, 2014).

La corteza medial prefrontal juega un papel importante en el control de procesos cognitivos, procesos ejecutivos, la regulación de las emociones, la motivación e interacción social (Wu et al., 2016; Das et al., 2017; Lieberman et al. 2019). Las disfunciones en esta conducen a déficits de atención y disminución de la memoria de trabajo, estereotipia, baja regulación en las respuestas frente a emociones o situaciones de amenaza, y deterioro social severo (van Aerde y Feldmeyer, 2015; Ko, 2017; Lieberman et al. 2019). Además, se ha ligado la disfunción en esta área con: depresión, trastornos de ansiedad, esquizofrenia, trastornos del espectro autista, estrés post traumático, entre otras enfermedades neurológicas (Heidbreder y Groenewegen, 2003; Ko, 2017; Bedwell et al., 2017; Xu et al. 2019).

La información disponible hasta el momento sugiere que las citocinas proinflamatorias juegan un papel importante en la modulación de la excitabilidad neuronal. Por otra parte, las investigaciones disponibles entorno a las alteraciones cerebrales tras la activación inmune sistémica se ha enfocado en reportar alteraciones en los marcadores celulares

proinflamatorios (Li et al., 2017; Zhao et al., 2019), deterioros conductuales (Aanaigoudari et al., 2016; Li et al., 2017) y ensayos bioquímicos relacionados con la concentración de neurotransmisores posterior al reto inmune (Ji-chun Zhang et al., 2016; Huo et al., 2018). Sin embargo, seguimos sin saber qué tipo de alteraciones electrofisiológicas presentan las neuronas de la mPFC tras la activación inmune sistémica. Por tal razón, este proyecto busca identificar alteraciones neurofisiológicas en neuronas piramidales en la capa V de la corteza prefrontal tras la activación inmune sistémica inducida por LPS en ratones.

## 6. Hipótesis

La activación inmune sistémica inducida por lipopolisacárido incrementará la excitabilidad de las células piramidales de la corteza medial prefrontal.

## 7. Objetivos

### 7.1 Objetivo general

Determinar si la activación inmune sistémica inducida por lipopolisacárido altera la excitabilidad neuronal en la corteza prefrontal medial.

### 7.2 Objetivos específicos

1. Determinar las propiedades electrofisiológicas pasivas de las neuronas de la capa V de corteza medial prefrontal del ratón, en condición control y registrar posibles alteraciones electrofisiológicas posterior a la administración de lipopolisacárido.
2. Determinar alteraciones en el patrón de disparo de potenciales de acción de las neuronas de la capa V en corteza medial prefrontal del ratón, en condición control y posterior a la administración de lipopolisacárido.

## 8. Materias y métodos

### 8.1 Declaración ética

Todos los experimentos se realizaron con apego a las guías éticas del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional y a la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999. Tomando las medidas necesarias para impedir el sufrimiento animal.

### 8.2 Animales

Se utilizaron ratones de la cepa C57BL/6 de 4 semanas de edad. Todos los ratones se alojados en jaulas individuales. Los animales se mantuvieron en un ciclo de luz / oscuridad de 12 h y se les proporciono agua y alimento *ad libitum*.

### 8.3 Diseño experimental

Los animales se dividieron en dos grupos: 1) grupo Control: los cuales fueron administrados con solución salina y 2) grupo LPS: administrados con 1 mg/kg de lipopolisacárido vía intraperitoneal.

Se utilizó la dosis de 1mg/ kg ya que ha sido reportada con anterioridad que aumenta los niveles de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$  sistémicos en ratones (Okuyama et al., 2013; Qin et al., 2007).

Veinticuatro horas después de la administración de solución salina o LPS se procedió a realizar las preparaciones de rebanadas ex vivo de corteza media prefrontal.

### 8.4 Obtención de rebanadas ex vivo de corteza prefrontal

Para la preparación de las rebanadas ex vivo de corteza prefrontal los ratones se sometieron a anestesia profunda mediante la administración de pentobarbital sódico vía intraperitoneal (50 mg/kg). Se verificó el punto anestésico para su inmediata decapitación.

Posterior a la decapitación, el cerebro se obtuvo rápidamente y se colocó cuidadosamente en solución cefalorraquídea modificada a base de sacarosa (en mM: 210 sacarosa, 2.8 KCl, 2 MgSO<sub>4</sub>, 1.25 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 26 NaHCO<sub>3</sub>, 1 MgCl<sub>2</sub>, 1 CaCl<sub>2</sub> y 10 D-(+)-glucosa), enfriada a punto de congelación y gaseada continuamente con carbógeno (95% O<sub>2</sub> /5% CO<sub>2</sub>). Subsecuentemente el cerebro se colocó en una superficie lisa y plana en la cual se procedió a seccionar el lóbulo frontal en dos.

Cada hemisferio cerebral fue colocado en una platina para tejido y fijado con cianoacrilato en su posición correspondiente y sumergido de nuevo en la solución de sacarosa con oxigenación continua. Se realizaron cortes de aproximadamente 250  $\mu$ m de espesor a una velocidad de avance de 3-6mm/min y frecuencia de oscilación de 100 Hz utilizando un vibratomo (VT1000-S Leica Biosystems, Alemania). Las rebanadas obtenidas se transfirieron a un cámara con solución de incubación (en mM: 125 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 26 NaHCO<sub>3</sub>, 4 MgCl<sub>2</sub>, 10 glucosa, 1 CaCl<sub>2</sub>) a 33-35°C durante 30min y posteriormente a temperatura ambiente durante 1 hora antes de ser registradas.

## 8.5 Registro de patch-clamp en modalidad de célula completa.

Para realizar el registro electrofisiológico, se colocó la rebanada de cerebro en una cámara de inmersión y se irriga constantemente a una velocidad de 2-3 ml/min con una solución extracelular que contiene en mM: 125 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 26 NaHCO<sub>3</sub>, 4 MgCl<sub>2</sub>, 10 glucosa, 1 CaCl<sub>2</sub>, mantenidas a una temperatura constante de 30°C y gaseada continuamente con carbógeno. Las pipetas se elaboraron a partir de capilares de borosilicato con una resistencia de 3-8 MΩ y se llenaron con solución intracelular la cual contenía en mM: 135 K1-gluconate, 10 KCl, 5 NaCl, 1 EGTA, 10 HEPES, 2 Mg12-ATP, 0.4 Na1-GTP, 10 fosfocreatina.

Las células piramidales de la capa V de la corteza medial prefrontal previamente se identificaron por video microscopía infrarroja y óptica diferencial de interferencia de alto contraste, utilizando para ello un microscopio Nikon FN-S2N equipado con una cámara infrarroja de contraste de interferencia con un objetivo de inmersión 40x (microscopio Eclipse FN1, Nikon, Tokio, Japón, cámara DAGE-MTI, Illinois, EE. UU.)

Una vez identificada la célula, se procedió a realizar un sello adecuado para la neurona (generalmente superior a 1GΩ), y se procedió a aplicar una serie de protocolos para determinar las propiedades electrofisiológicas de la célula tales como: resistencia de entrada (R<sub>n</sub>), potencial de membrana en reposo (PMR), rampa despolarizante de corriente, y frecuencia de disparo neuronal.

Adicional a los protocolos antes mencionados se realizaron protocolos para el registro de la corriente post hiperpolarizante y post potencial hiperpolarizante (I<sub>AHP</sub>).

Todos los registros se realizaron utilizando un amplificador Axopatch 200b (Molecular Devices LLC, California, EE. UU.)

## 8.6 Determinación de las propiedades intrínsecas

- *Curva corriente/ voltaje (I-V)*. Utilizando la técnica de fijación de corriente (*Current clamp*) se inyectaron pulsos cuadrados de corriente de 1000 ms de duración, partiendo desde -120 mV con incrementos de 50 pA hasta que la célula alcanzó el umbral de disparo de potenciales de acción. Con este experimento se determinaron

la resistencia de entrada, calculada como la pendiente de los valores negativo y positivo en torno al valor de corriente igual a cero. Adicional a estos experimentos se determinó la amplitud de los canales Bk, utilizando el programa Clampfit 10.7, colocando el cursor 1 al inicio de la  $I_{AHP}$  y el cursor 2 en la fase de caída del PA.

- *Constante de tiempo (tau)*. Se obtuvo mediante el ajuste de una función exponencial estándar a la respuesta de voltaje tras la inyección del pulso de corriente hiperpolarizante de -30 pA.
- *Corriente reobase*. Se determinó como la intensidad de corriente inyectada necesaria para evocar un potencial de acción. Para ello se inyectaron pulsos cuadrados de corriente de 5 pA con duración de 500 ms hasta alcanzar el primer potencial de acción.
- *Rampa despolarizante*: Se mantuvo la célula en -70 mV. El protocolo consistió en pulsos despolarizantes de 0-450 pA de 500 ms de duración con incrementos de 50pA, utilizada para determinar el periodo de latencia del primero potencial de acción.
- *Determinación de la frecuencia de disparo*. Se mantuvo la célula a -60 mV y se aplicaron pulsos cuadrados de corriente despolarizantes de 1000 ms y 100000 (disparo prolongado) a intensidades crecientes de 50 pA. Con estos protocolos se determinaron posibles alteraciones en la frecuencia de disparo de ráfagas de potenciales de acción.
- *Cinética de los potenciales de acción*. Se analizaron diversas fases del disparo como lo son amplitud, amplitud media, velocidad de subida y velocidad de bajada, en los protocolos: (1) Para el protocolo rampa despolarizante: se promediaron los datos del primer potencial de acción con una inyección de corriente de 350 pA (2) frecuencia de disparo (duración 1000 ms) se promediaron los datos del total de potenciales de acción evocados por trenes de disparo de 100, 200 y 300 pA.
- *Corriente de post-potencial hiperpolarizante*: Se realizó en modo fijación de voltaje (*voltage clamp*) con una duración de 1000 ms y una inyección de corriente de 100 pA. A partir de la corriente de salida resultante se midieron la amplitud máxima (pA)



y el área (pA / ms) en cada condición experimental. El área y amplitud se calcularon utilizando el programa Clampfit 10.7, colocando el cursor 1 al inicio de la  $I_{AHP}$  y el cursor 2 en la fase de repolarización. Para este protocolo se añadió a la solución intracelular de 30  $\mu$ M de lidocaína y se llevó a la célula a -40 mV.

## 8.7 Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el programa GraphPad PRISM 8.0 y Sigma Plot 12.0. Se realizaron pruebas *t de Student* para datos no pareados, o *U de Mann-Whitney* de acuerdo con las características del conjunto de datos analizado. Las pruebas utilizadas se especifican en cada figura.

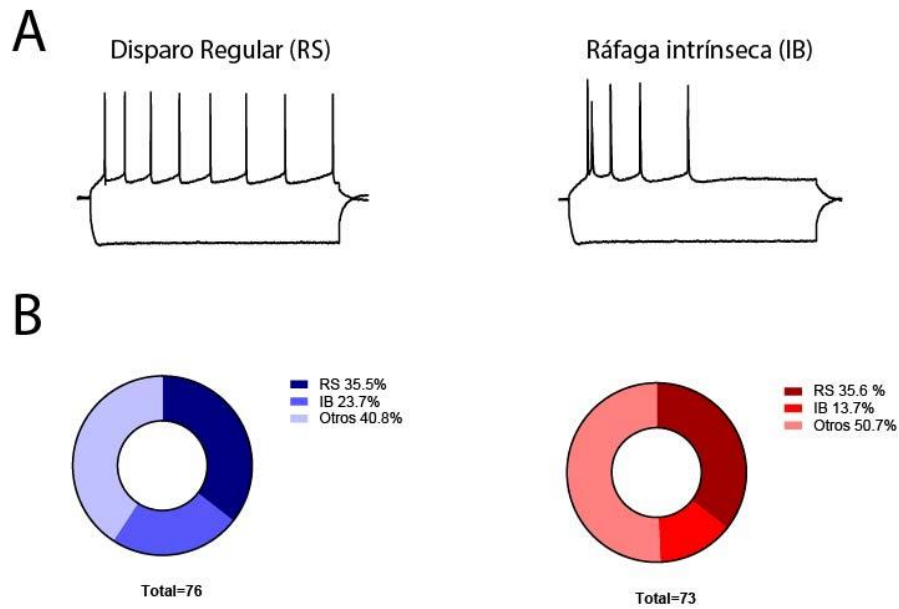
## 9. Resultados

Los experimentos se realizaron en rebanadas frescas de cerebro de ratón obtenidas 24 horas después de la administración intraperitoneal de solución salina (control) o LPS (1 mg/kg). La administración intraperitoneal de LPS causó piloerección y letargo. Esta conducta se observó de manera sistemática y tuvo una duración aproximada de 2 horas.

Se registraron un total de 150 neuronas (control y LPS). Con base en su posición vertical a partir del extremo dorsal de la línea media hasta la capa V (300–500  $\mu\text{m}$ , distancia perpendicular a la pía) y los somas se localizaron entre 450-1900  $\mu\text{m}$  de distancia. Este rango corresponde a la distancia donde se ubican las neuronas prelímbicas de la corteza prefrontal de ratón (Mitrić et al., 2019). La selección y posterior clasificación de las neuronas incluidas en este trabajo se realizó con base en el patrón de disparo obtenido en modalidad de fijación de corriente (*current clamp*) y en respuesta a un pulso de corriente de 200 pA. En condición control, 35.5% de las neuronas registradas presentaron un patrón de disparo regular (*regular spiking* por sus siglas en inglés, RS. Fig. 7A, panel izquierdo); mientras que el 23.7% mostraron un patrón de disparo de ráfaga intrínseca (IB, *intrinsic burst*; Fig. 7A, panel derecho). Las células restantes mostraron disparo irregular o fueron descartadas por no cumplir con los parámetros óptimos para su análisis<sup>1</sup>. En cuanto a los animales administrados con LPS, 35.6% pertenecieron al grupo RS; 13.7% al grupo IB y las restantes fueron excluidas por no cumplir los parámetros de inclusión. Las gráficas de pastel en la Fig. 7B, muestra la proporción de neuronas obtenidas en ambas condiciones experimentales. Los experimentos incluidos en este trabajo fueron limitados a neuronas con patrón regular de disparo, en concordancia con artículos previos del laboratorio (Armenta-Resendiz et al., 2018).

---

<sup>1</sup> Parámetros de aceptación: Morfología somática, posición espacial, resistencia de acceso, corriente de fuga  $\pm 20$  pA



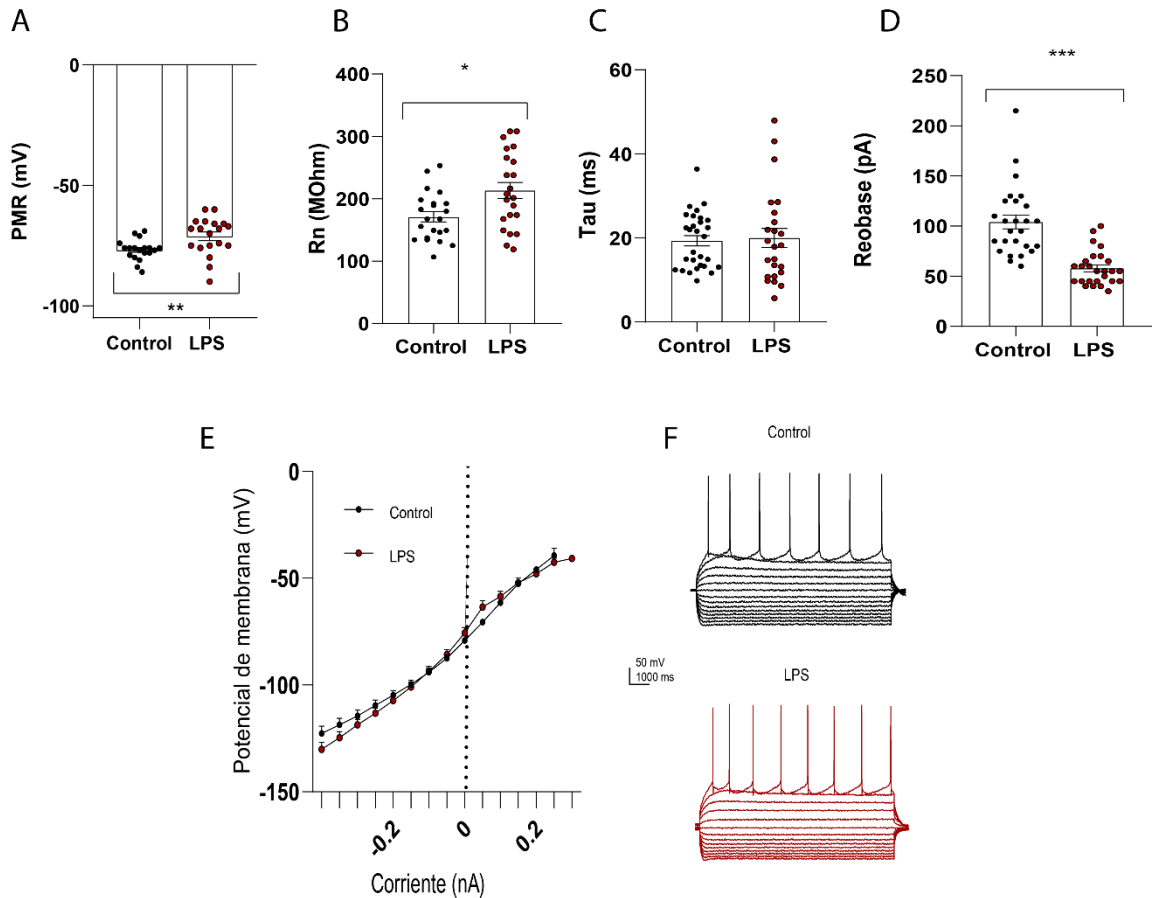
**Figura 7 Patrón de disparo.** A) Registros electrofisiológicos de células control con dos tipos de disparo, disparo regular (RS) y ráfaga intrínseca (IB). B) Gráficas de pastel que representan el porcentaje de los patrones de disparo registrados en las células control y células de animales expuestos a LPS 24 horas antes del experimento

## 9.1 La activación inmune sistémica modifica propiedades intrínsecas de las neuronas prelímbicas de la corteza media prefrontal

Tras la ruptura del giga-sello y estabilización de al menos 5 minutos al potencial de reposo, las neuronas se mantuvieron en la modalidad de fijación de corriente y se colectaron datos relacionados con sus propiedades intrínsecas pasivas. En condiciones control, el potencial de membrana en reposo (PMR) se encontró en el rango previamente reportado por nuestro laboratorio (Armenta-Resendiz et al., 2018), y el tratamiento con LPS disminuyó este valor (PMR en condición control =  $-76 \pm 0.97$  mV;  $n = 19$  células / 11 animales. PMR en células tratadas con LPS =  $-71 \pm 1.79$  mV;  $n = 19$  células / 12 animales;  $P = 0.008$ ; Mann-Whitney Rank Sum Test. Fig. 8A). Posteriormente, se realizó una curva corriente – voltaje (Curva I-V; Fig. 8E y 8F) para determinar resistencia de entrada (Rn) y rectificación entrante a partir de la inyección de pulsos de corriente negativa. La Rn se determinó utilizando la porción lineal de la curva I-V (correspondiente a una inyección de corriente de -30, 0, +30 pA). En

condiciones control, la Rn tuvo un valor promedio de  $167 \pm 8.24 \text{ M}\Omega$  ( $n = 22$  células / 11 animales). En las neuronas de los animales expuestos a LPS la Rn experimentó un incremento estadísticamente significativo (Rn en células expuestas a LPS =  $204 \pm 12.96 \text{ M}\Omega$ ;  $n = 22$  células / 11 animales;  $P = 0.02$ ; Mann-Whitney Rank Sum Test. Fig. 8B). Sin embargo, el incremento en la Rn no modificó la constante de tiempo con la que se carga la membrana neuronal ( $\tau_{\text{mem}}$ ) en respuesta a la inyección de un pulso negativo de corriente ( $-30 \text{ pA}$ ) ( $\tau_{\text{mem}}$  control =  $20.98 \pm 1.37 \text{ ms}$ ;  $n = 24$  células / 11 animales.  $\tau_{\text{mem}}$  en neuronas expuestas a LPS =  $18.09 \pm 2.24 \text{ ms}$ ;  $n = 24$  células / 11 animales;  $P = 0.51$ , Mann-Whitney Rank Sum. Fig. 8C).

De manera congruente con el incremento en la Rn del grupo experimental, las neuronas expuestas a LPS requirieron menor corriente reobase para producir un PA comparado con las neuronas de los animales control (corriente reobase en condición control =  $100 \pm 6.85 \text{ pA}$ . Corriente reobase en animales expuestos a LPS =  $55 \pm 3.36 \text{ pA}$ ;  $n = 26$  células / 11 animales;  $P = <0.001$ , Mann-Whitney Rank Sum. Fig 8D). Estos resultados muestran que los animales expuestos a LPS, requieren menos corriente (55.2%) para generar un PA y demuestran que la administración sistémica de LPS incrementa la excitabilidad de neuronas de la corteza media prefrontal. La gráfica de dispersión en la Fig. 8E muestra una curva I-V promedio (+SEM) obtenidas a partir de un total de 19 células control (círculos negros) y 19 células expuestas a LPS (círculos rojos). Las líneas continuas son ajustes exponenciales de tercer orden; dichos ajustes no mostraron alteraciones en los niveles de rectificación entrante. La ausencia de cambios en la rectificación entrante puede corroborarse en los trazos de voltaje del panel derecho. Estos datos sugieren que la exposición aguda a LPS no modifica las conductancias de rectificación entrante mediadas por canales de potasio (Hibino et al., 2010).



**Figura 8 Propiedades intrínsecas de la neurona.** Gráficas de barras (media  $\pm$  SEM y datos individuales) que representan las propiedades pasivas de animales control y de animales administrados con LPS. (A) PMR: potencial de membrana en reposo (n células / animales = (19/11) ; (B) Rn: resistencia de entrada (n células / animales = (22/11); (C) tau: constante de tiempo (n células / animales=(24/11); (D) corriente reobase de las neuronas (n células / animales=(26/11), Mann-Whitney U. E) Gráfica que representa el promedio de la curva I-V, para neuronas de control (n células / animales = 19/11) y neuronas de animales administrados con LPS (n células / animales = 19/12). Cada punto representa la media  $\pm$  SEM. Las figuras de la derecha muestran los trazos representativos de la curva I-V. F) Trazos representativos del disparo de neuronas piramidales de la capa V de corteza medial prefrontal. \* P < 0.05 \*\*P = 0.01, \*\*\*P = 0.001.

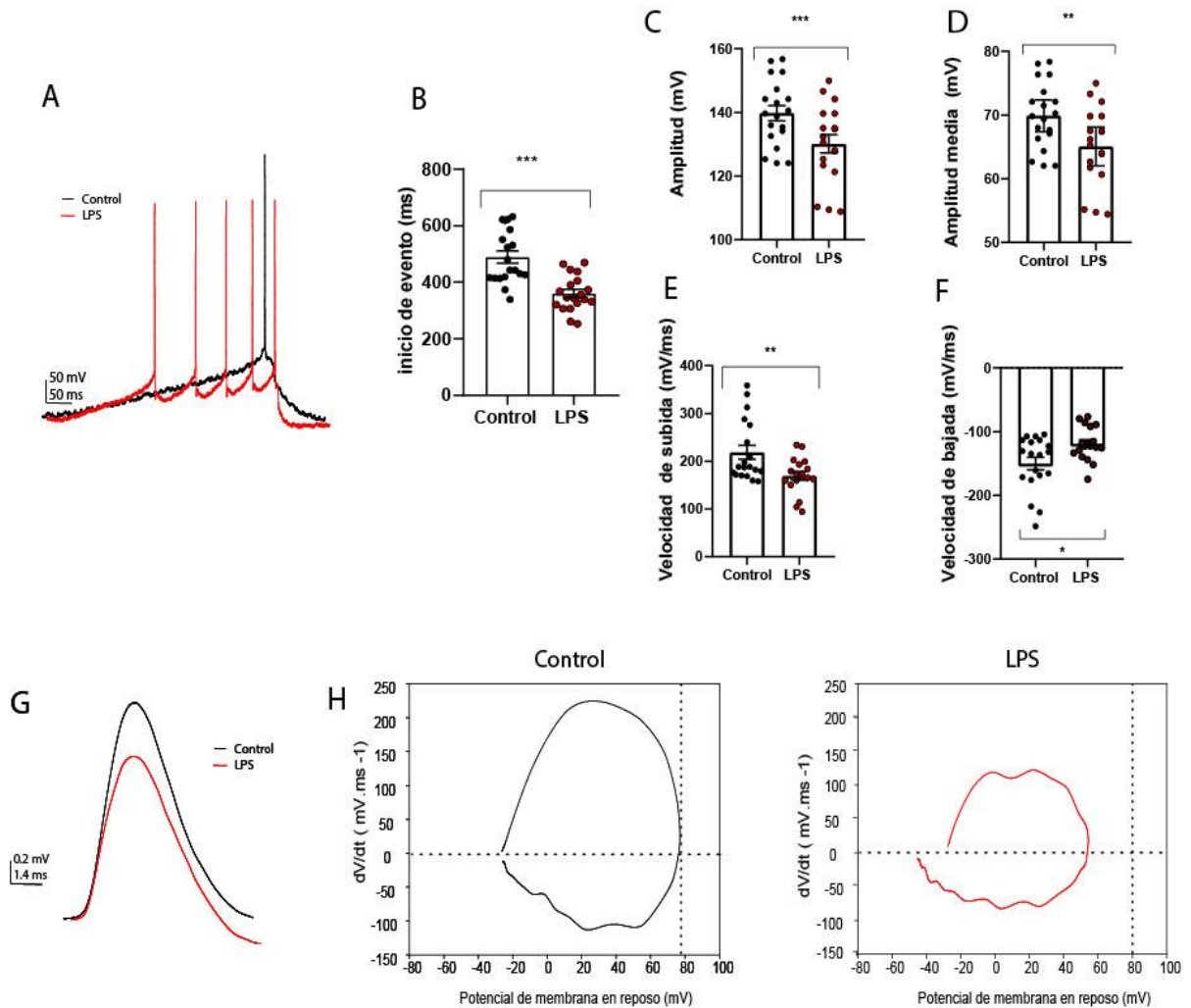
## 9.2 La activación inmune sistémica modifica el umbral de activación de los potenciales de acción en las neuronas prelímbicas de la corteza media prefrontal

Dada la reducción en la corriente reobase necesaria para generar una espiga o PA, en los siguientes experimentos se aplicó una rampa de corriente y se registró la despolarización membranal sostenida hasta alcanzar el umbral de activación del PA. Este protocolo nos

permite corroborar aumentos en excitabilidad neuronal y determinar cambios en el umbral de activación de los canales de sodio que originan el PA. La inyección de una rampa de corriente mimetiza una despolarización lenta y sostenida como las que experimentan las neuronas en condiciones fisiológicas (Rotaru et al., 2007). Las neuronas se mantuvieron en modalidad fijación de corriente a -70 mV y se aplicó una rampa de 500 ms de duración con una velocidad promedio de 0.9 mV/ms. En condiciones control, el inicio del PA tuvo una latencia de  $488.29 \pm 21.48$  ms ( $n = 19 / 11$  animales. Fig. 9A, trazos negros). En las neuronas de los animales administrados con LPS la latencia del PA disminuyó significativamente (latencia en animales LPS =  $359.76 \pm 14.37$  ms;  $n = 19 / 12$  animales.  $P = <0.001$ ; t-test. Fig. 9A, trazos rojos). La reducción en la latencia al disparo evocado con rampa de voltaje se ilustra en los trazos representativos (Fig. 9A) y su cuantificación individual se muestra en las gráficas de barras (Fig. 9B).

A partir de la espiga (o PA) inducido con este protocolo se generaron graficas de órbita (*phase plots*). Las gráficas de orbita representan la segunda derivada del voltaje con respecto al tiempo del PA. Los *phase plots* permiten cuantificar cambios cinéticos en la espiga de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  que incluyen amplitud total, amplitud-media del PA (ancho de la espiga), velocidad máxima de subida y velocidad máxima de bajada del PA. Estos cambios, reflejan alteraciones en el funcionamiento de estos canales iónicos. La Fig. 9C muestra un PA representativos en control y LPS (trazo negro y rojo, respectivamente); mientras que, las Figs. 9D y 9E muestran los *phase plot* obtenidos a partir de estas espigas. El tratamiento con LPS disminuye la amplitud y el ancho de la espiga (amplitud de espiga en condición control =  $139.78 \pm 2.38$  mV. amplitud de la espiga en células tratadas con LPS =  $130.11 \pm 2.88$  mV.  $n = 19$  células / 11 animales;  $P = 0.007$ ; t- test. Fig.9F) (ancho de espiga en condición control =  $69.89 \pm 1.19$ ; ancho de espiga en células tratadas con LPS =  $65.05 \pm 1.44$ ;  $n = 18$  células / 12 animales;  $P = 0.007$ . t-test. Fig. 9G). De igual manera, la velocidad máxima de subida es más rápida en los animales LPS (velocidad máxima de subida en condición control =  $188.10 \pm 14.72$  mV/ms;  $n = 19$  células / 11 animales. En células tratadas con LPS =  $169.90 \pm 8.93$  mV/ms;  $n = 18$  células / 12 animales;  $P = 0.021$ ; Mann-Whitney Rank Sum Test. Fig. 9H). La velocidad de repolarización del PA (velocidad de bajada) también experimenta un

incremento en su velocidad en los animales expuestos a LPS (velocidad máxima de bajada en condición control =  $-134.80 \pm 9.896$  mV/ms; n = 19 células / 11 animales. velocidad máxima de bajada en células tratadas con LPS =  $-122.54 \pm 6.18$  mV/ms; n = 17 células / 12 animales;  $P = 0.05$ ; Mann-Whitney Rank Sum Test. Fig. 9I).



**Figura 9 Cinética del PA y umbral de disparo.** A) Trazos representativos de un protocolo de rampa despolarizante. B) Gráfica que representa el inicio de un potencial de acción en protocolo rampa despolarizante. C) Gráficas que representan los cambios en la amplitud, (D) Amplitud media, (E) velocidad de subida y (F) velocidad de bajada de los potenciales de acción. Animales control (células / animales = 19/11); vs LPS (células / animales = 19/12); Los puntos representan el promedio  $\pm$  SEM y datos individuales. \*  $P < 0.05$  \*\* $P = 0.01$ , \*\*\* $P = 0.001$ , Mann-Whitney U. G) Trazos representativos de los PA. H) La derivada de voltaje con respecto al tiempo frente al voltaje muestra la cinética del potencial de acción mostrado a la izquierda y el primer potencial de acción del tazo.

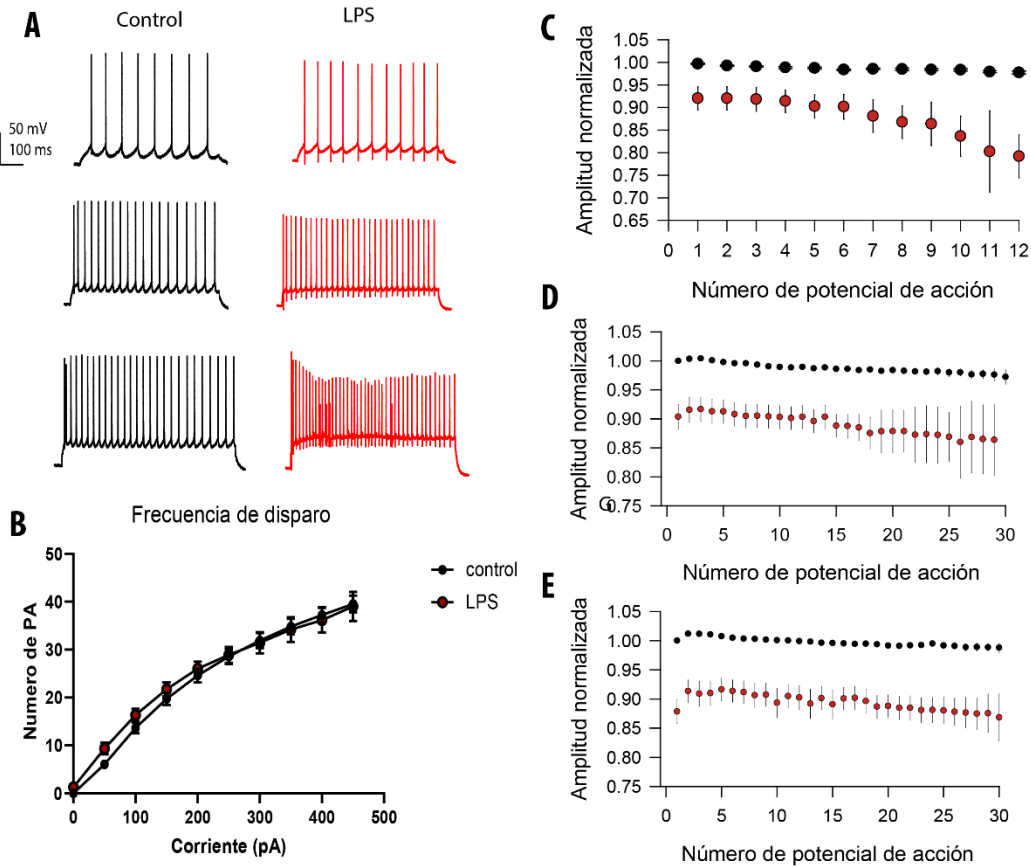
### 9.3 La activación inmune sistémica no aumenta la frecuencia de disparo, pero modifica la cinética de disparo de las neuronas prelímbicas de la corteza prefrontal

Debido a los cambios en la excitabilidad neuronal y cinética del PA, los siguientes análisis se enfocaron en determinar cambios en la frecuencia de disparo. Para esto, las neuronas se mantuvieron en modalidad fijación de corriente a -60 mV y se aplicaron pulsos cuadrados de corriente (1000 ms, duración total). El incremento en la inyección de corriente fue de 50 pA hasta alcanzar un total de 450 pA. Para cada pulso de corriente inyectada, se contabilizó el número total de PA y se construyó una gráfica de dispersión (Figura 10B). En condiciones control se analizaron 25 neuronas (11 ratones) mientras que para los animales expuestos a LPS se registraron 19 neuronas (12 ratones). De manera notable, no se observó diferencia en el número de PA en respuesta a la inyección de pulsos de corriente en ambas condiciones experimentales ( $P = 0.88$ , t- test). Esto es claramente visible en el número de PA de las células representativas incluidas en la Figura 10A y en la gráfica de dispersión construida con todas las células incluidas en este análisis (Fig. 10B).

A pesar de que el número de PA fue similar en ambas condiciones, la amplitud de las espigas de los animales expuestos a LPS disminuye con respecto a las respuestas control (ver trazos representativos en Fig. 10 A). Por lo tanto, analizamos las alteraciones en la amplitud de los PA en las ráfagas de disparo evocadas con 100, 200 y 300 pA. Se obtuvo la amplitud de cada PA, y se graficó con respecto al número de PA. Para control (trazos negros) como para animales expuestos a LPS (trazos rojos). Se observa una disminución en la amplitud del PA en las neuronas de animales tratados con LPS, la cual disminuye progresivamente con respecto al número de PA. Dichos cambios se pueden observar desde inyecciones de corrientes de 100 pA (Fig. 10C) y se vuelven más evidentes con al aumentar la corriente a 200 (Fig. 10D) y 300 Pa (Fig. 10E). En contraste, las neuronas de animales control muestran amplitudes estables con respecto al número de PA, además de una mayor amplitud.



Por esta razón, se analizó a detalle la cinética de las espigas obtenidas con los trenes de disparo antes mencionados.

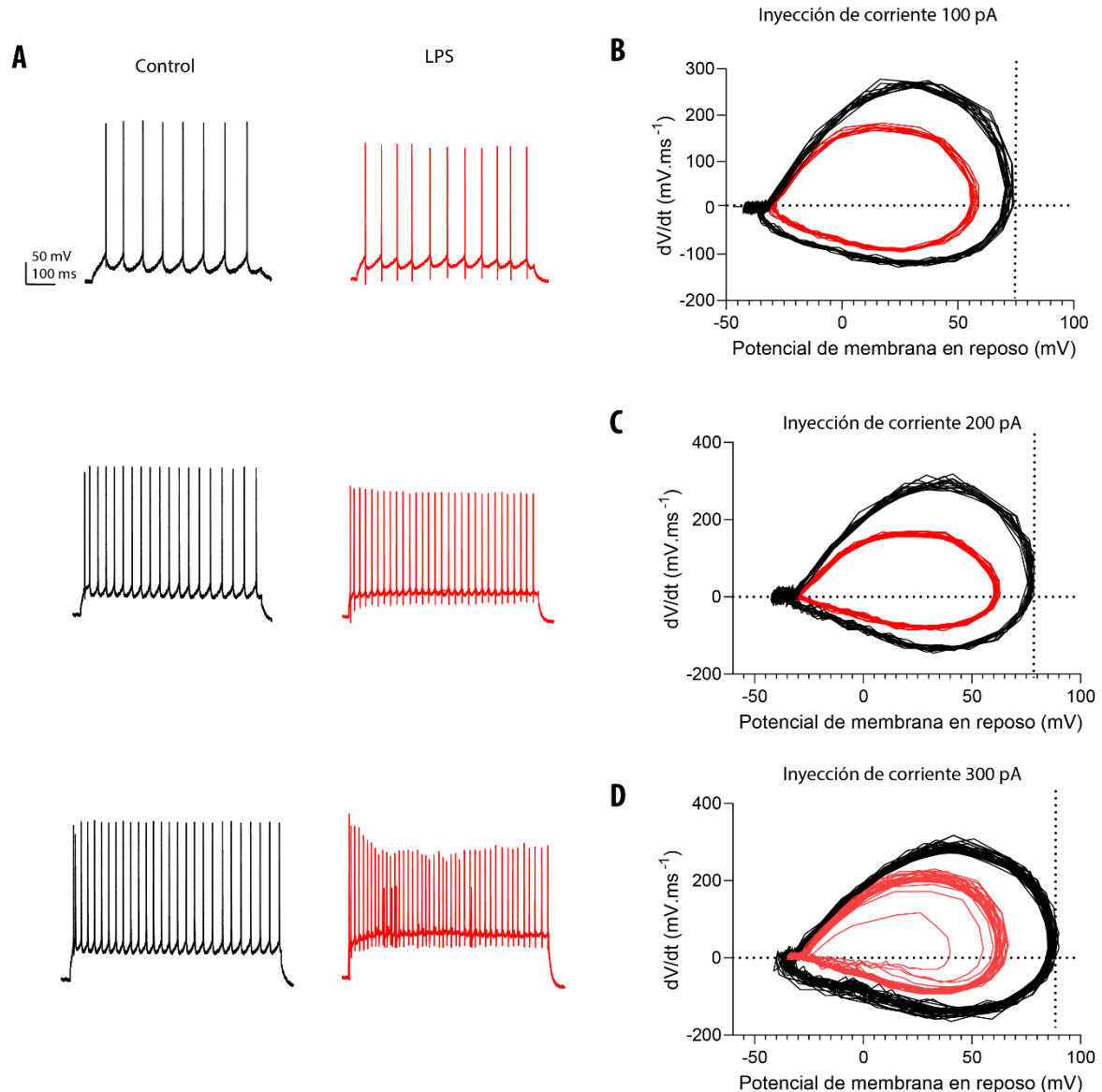


**Figura 10 Frecuencia de disparo.** A) Registros electrofisiológicos representativos obtenidos con pulsos cuadrados de corriente de 100 pA, 200 pA y 300 pA. B) Gráfica que representan el número de PA con respecto a la corriente inyectada vs el número de PA ( $n$  células / animales = 23/12); Los puntos representan el promedio  $\pm$  SEM  $P=sn$ , prueba  $t$ -test. Gráfica que representa la amplitud de los potenciales de acción con respecto al número de potenciales de acción con diferentes inyecciones de corriente C) 100 pA D) 200 pA E) 300 pA.

## 9.4 La administración de LPS modifica la amplitud de los PA de las neuronas prelímbicas

A partir de los datos previos, se analizó el comportamiento de los PA en las ráfagas de disparo evocadas con 100, 200 y 300 pA (Figura 11). Cada PA se convirtió en un *phase plot* y se graficaron conjuntamente, tanto para control (trazos negros) como para animales expuestos a LPS (trazos rojos). La disminución de la amplitud del PA es evidente en los tres grupos analizados.

También se evaluó el efecto de la administración aguda del LPS en el umbral de PA analizando los *phase plot* de los PA consecutivos. En condiciones control, las gráficas muestran un umbral de PA estable (Figura 11). En contraste, con los animales administrados con LPS se observa que el umbral de activación está más despolarizado, y se puede observar una disminución en las conductancias de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ . Dichas diferencias se pueden observar desde la aplicación de 100 pA y persisten con inyecciones aún mayores, 200 y 300 pA.



**Figura 11** *Cinética del potencial de la acción.* Trazos representativos de los PAs con diferentes inyecciones de corrientes 100 pA., 200 pA y 300 pA B) *phase plot* muestra la cinética del potencial de acción de la ráfaga de la izquierda (inyección de corriente 100 pA) C) *phase plot* muestra la cinética del potencial de acción de la ráfaga de la izquierda (inyección de corriente 200 pA) D) *phase plot* muestra la cinética del potencial de acción de la ráfaga de la izquierda (inyección de corriente 300 pA).

De los *phase plots* generados con las 3 inyecciones de corriente se obtuvo información referente a la amplitud, amplitud media o ancho, velocidad de bajada y subida de las espigas individuales. Estos valores están graficados en la Tabla 5.

**Tabla 5. Parámetros de cinética de disparo de Potenciales de acción**

<b>Amplitud (mV)</b>			
	<b>100 pA</b>	<b>200 pA</b>	<b>300 pA</b>
<b>Control</b>	140.57±2.32	140.23±2.10	140.72±2.23
<b>LPS</b>	128.05 ±2.95	128.01±2.746	127.98±2.84
<b>P</b>	P = <0.001	P = <0.001	P = <0.001
<b>Amplitud media o ancho (mV)</b>			
<b>Control</b>	70.28±1.16	70.11±1.05	70.36±1.11
<b>LPS</b>	64.02±1.480	64.32±1.48	64.31±1.57
<b>P</b>	P = <0.001	P = <0.001	P = <0.001
<b>Velocidad de bajada (mV.ms)</b>			
<b>Control</b>	215.12±10.30	212.19±9.77	206.22±9.37
<b>LPS</b>	156.85±11.23	148.42±10.42	144.19±9.0
<b>P</b>	P = <0.001	P = <0.001	P = <0.001
<b>Velocidad de subida (mV.ms)</b>			
<b>Control</b>	-139.99±7.13	-128.218±7.514	-113.40±6.80
<b>LPS</b>	-100.70±7.288	-88.40±6.57	-79.41±5.642
<b>P</b>	P = <0.001	P = <0.001	P = <0.001

Los datos son presentados como media± SEM. Las pruebas estadísticas fueron realizadas por *t-test*

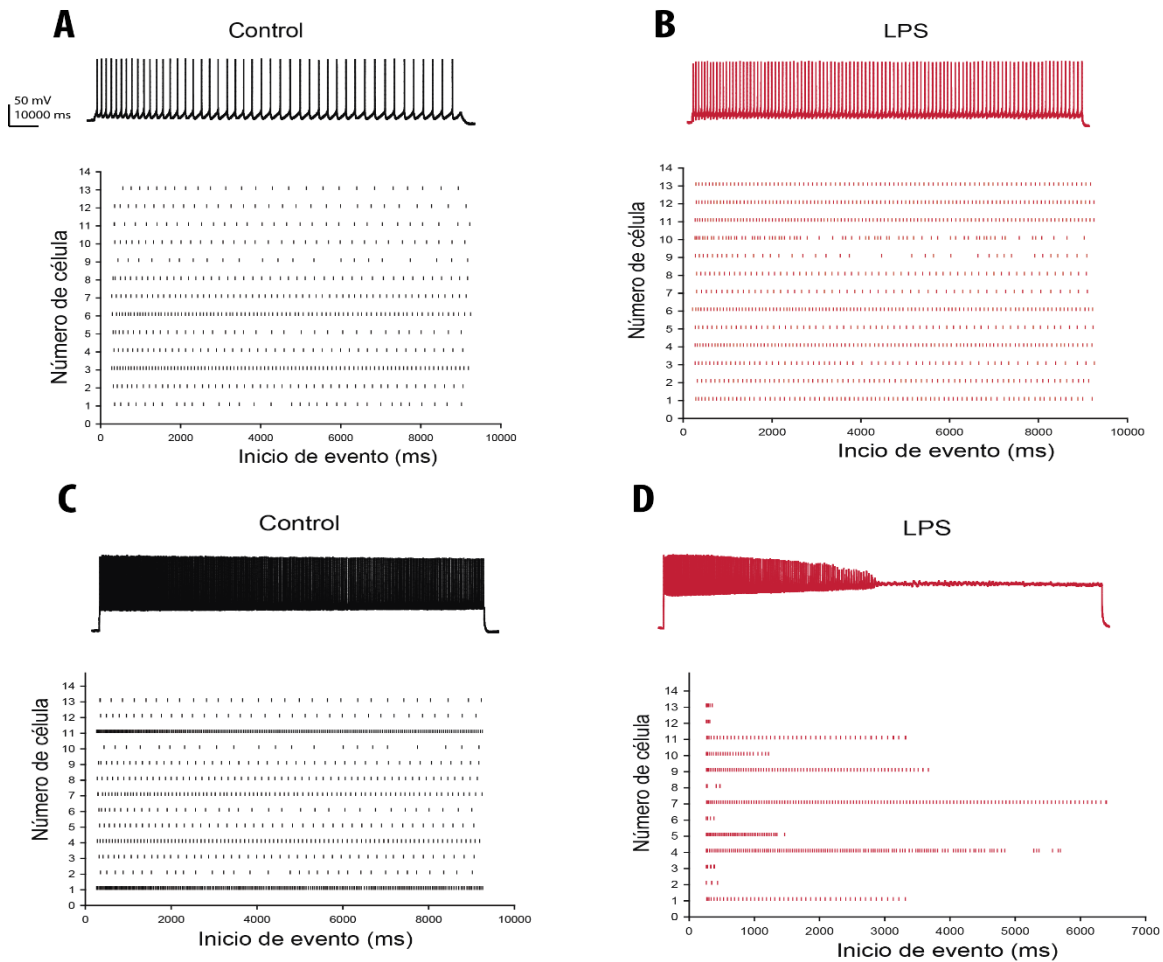
## 9.5 La despolarización sostenida revela alteraciones en el patrón de disparo de las neuronas prelímbicas expuestas a LPS

A pesar de los cambios en la cinética del PA (Fig. 11), los resultados previos también mostraron que el LPS no modifica la frecuencia de disparo evocado con inyecciones de corriente de 1 segundo de duración (Fig. 10). Sin embargo, estudios previos sugieren que el LPS modifica conductancias membranales de activación tardía (Gao et al., 2014; Yamamoto

et al., 2019; Cooper et al., 2019). La activación de estas conductancias podría requerir despolarización sostenida para modificar el disparo neuronal. Por tal razón, el siguiente experimento tuvo como finalidad explorar el patrón de disparo evocado durante periodos de despolarización largos (10 segundos) que garanticen la activación de cualquier conductancia tardía.

De manera similar a los experimentos previos, las células se mantuvieron en fijación de corriente a -60 mV y se inyectaron pulsos de corriente con incrementos de 50 pA hasta alcanzar los 450 pA. A diferencia del protocolo previo, la inyección de corriente se realizó durante 10,000 ms (10 segundos; Figura 12A). Posteriormente, se contabilizó el número de PA evocados con 100 pA y con 450 pA y se construyeron graficas tipo *raster*. Los *rasters* representan un evento repetitivo (el PA) a lo largo de un periodo de tiempo determinado (Fig. 12). Además, este tipo de gráfica permite visualizar el comportamiento del disparo durante periodos prolongados de despolarización. Se registraron un total de 13 neuronas en condición control (10 animales) y 13 neuronas expuestas a LPS (obtenidas de 9 animales). Los registros representativos y los *rasters* muestran que la inyección de 100 pA genera cambios significativos en el patrón de disparo de las neuronas expuestas a LPS, pues estas células generaron un mayor número de potenciales de acción en contraste con las observadas en condición control ( $P= 0.04$ ; t-test. Fig. 12, trazos rojos).

A diferencia de esta observación, el patrón de disparo evocado con 450 pA mostró un comportamiento muy diferente en las células expuestas a LPS. En condición control, la descarga repetitiva de PA fue regular y no mostro fallas o periodos de tiempo silentes. Este fenómeno se observó en las 13 células registradas (Fig. 12 C). En contraste, la inyección de corriente reveló que las neuronas expuestas a LPS generan ráfagas de disparo corto acompañadas de un silenciamiento temprano (acomodamiento del disparo neuronal) sin importar la inyección de corriente despolarizante. Este fenómeno es claramente observable en los trazos representativos y los respectivos *rasters* (Fig. 12D) ( $P = <0.001$ , t-test).



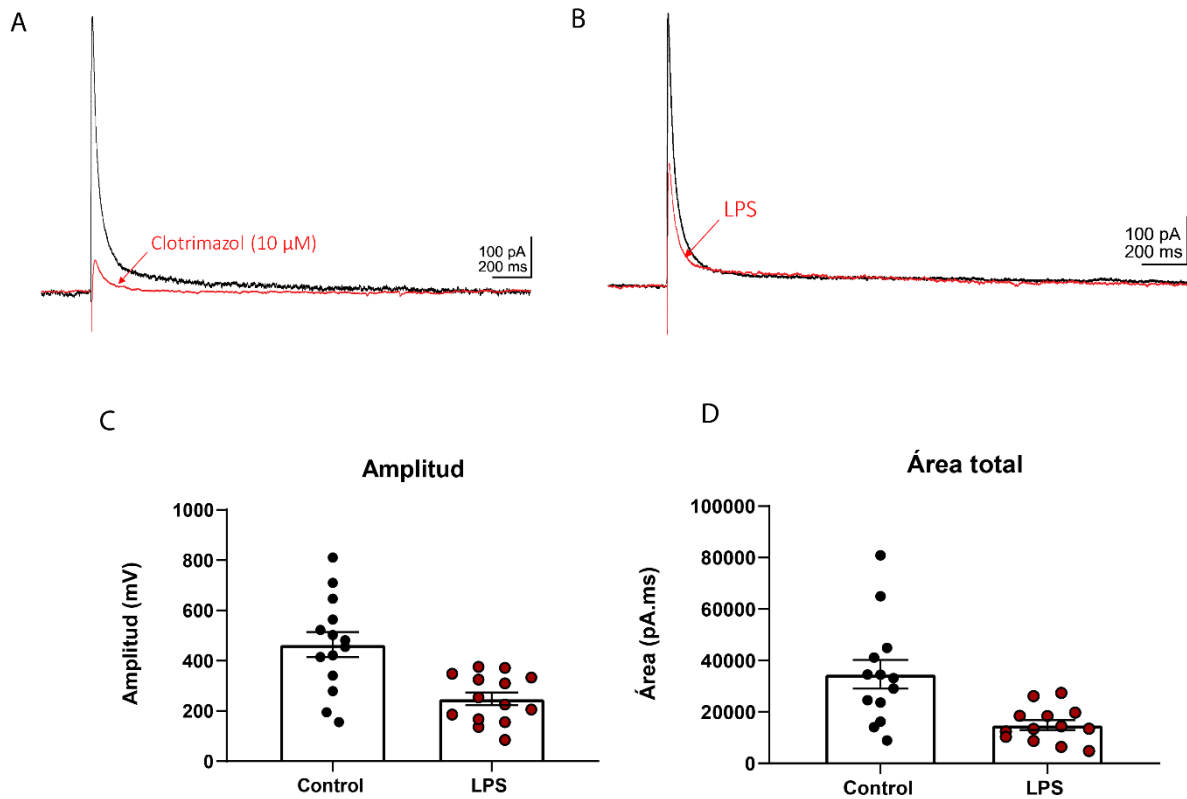
**Figura 12 Características de disparo de neuronas piramidales de la capa V de mPFC.** Gráficos de raster plots y trazos representativos de neuronas piramidales de la capa V. A) Raster plot cada punto representa un PA a través del tiempo, en la parte superior se observa un trazo representativo con una inyección de corriente de 50 pA en condición control. B) Raster plot cada punto representa un PA a través del tiempo, en la parte superior se observa un trazo representativo con una inyección de corriente de 50 pA para animales LPS. C) Raster plot cada punto representa un PA a través del tiempo, en la parte superior se observa un trazo representativo con una inyección de corriente de 450 pA en condición control D) Raster plot cada punto representa un PA a través del tiempo, en la parte superior se observa un trazo representativo con una inyección de corriente de 450 pA para animales administrados con LPS.

## 9.6 La administración sistémica de LPS disminuye el postpotencial hiperpolarizante y las corrientes de repolarización que siguen a un potencial de acción

Diversas situaciones patológicas del SNC están asociadas a la alteración de la excitabilidad neuronal (Ferri y Ferguson, 2003; Skelly et al., 2019) y en muchos casos, este fenómeno se

debe a una modulación de las corrientes de potasio dependientes de  $\text{Ca}^{2+}$  (*after-hyperpolarization current* o  $I_{\text{AHP}}$ ) que se activan tras un PA. Por tal razón, el siguiente experimento tuvo como finalidad evaluar el estado de la  $I_{\text{AHP}}$  en los animales expuestos a LPS. Las células se mantuvieron en modalidad fijación de voltaje (*voltage-clamp*) a -40 mV y se inyectó un pulso de corriente despolarizante (50 ms / 100 mV) que evocó una corriente saliente que decayó con una cinética lenta y duró varios segundos. En condiciones control, la amplitud de la  $I_{\text{AHP}}$  fue de  $463.8 \pm 49.72$  pA ( $n = 14 / 4$  animales) (Fig. 13C). El área total de la corriente fue  $33130 \pm 5595$  pA/ms (Fig. 13 D). Tanto el protocolo aplicado como la corriente generada concuerdan con las características de la  $I_{\text{AHP}}$  reportada previamente para neuronas prelímbicas de la corteza prefrontal (Fig 13B) (Armenta-Resendiz et al., 2018). Para demostrar que la corriente registrada en nuestros experimentos fuera la  $I_{\text{AHP}}$ , en un grupo de células ( $n = 4$ ) se perfundió el antagonista de los canales de potasio que dan forma a la fase lenta de la  $I_{\text{AHP}}$ , clotrimazol (10  $\mu\text{M}$ ) (Shah et al., 2001). La perfusión de clotrimazol redujo dramáticamente la amplitud y el área de la  $I_{\text{AHP}}$  (porcentaje de la corriente  $I_{\text{AHP}}$  en presencia de clotrimazol 72.77% (Amplitud=  $240 \pm 6.03$  pA,  $P = 0.008$ . Mann-Whitney Rank Sum Test. Área=  $15964 \pm 497.61$ . Fig. 13A, trazos rojos). Esta manipulación farmacológica corrobora el aislamiento adecuado de la  $I_{\text{AHP}}$ .

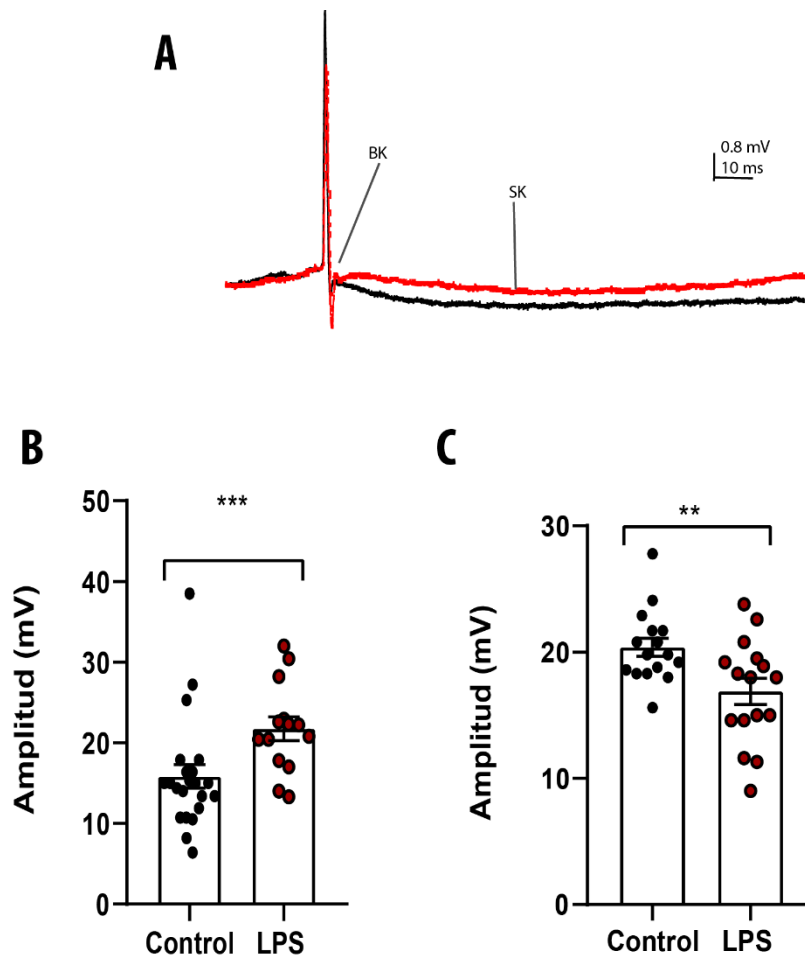
En la Fig. 13B, se muestran corrientes representativas de la  $I_{\text{AHP}}$  y los efectos que tiene el LPS sobre las mismas (amplitud promedio de la  $I_{\text{AHP}}$  en células expuestas a LPS =  $248.29 \pm 25.56$  pA ( $n = 14 / 3$  animales);  $P = <0.001$ ; t-test. area total de la  $I_{\text{AHP}} = 13444 \pm 1915$  pA/ms.  $P = 0.002$ ; Mann-Whitney Rank Sum Test. Fig. 12B, 12C y 12D).



**Figura 13 Corriente post hiperpolarizante.** A) Trazos representativos de la corriente hiperpolarizante con el bloqueador clotrimazol B) Registros electrofisiológicos representativos del postpotencial hiperpolarizante C) Gráficas que representan la amplitud D) Gráfica que representa el área con diferentes exposiciones de animales control y LPS PA (n células / animales = 13/4). \* P <0.05 \*\*P = 0.01, \*\*\*P= 0.001, Mann-Whitney.

Una observación adicional fue que pese a la disminución en la amplitud de la fase lenta de la repolarización registrada en fijación de corriente (post-potencial hiperpolarizante: se obtuvo del primer o segundo disparo del protocolo para curva I-V (ver metodología)) el disparo repetitivo de las neuronas del grupo LPS presentaron un incremento marcado de aproximadamente el 36.70% en la amplitud de la conductancia de potasio que sigue inmediatamente la inactivación del PA (Fig. 14 A). Esta conductancia está mediada por los canales de potasio de alta conductancia (por sus siglas en inglés  $B_K$ , *big conductance*) y median un “rebote” en el potencial de membrana tras un PA (Ksiazek et al., 2013; Kurowski et al., 2018). Además, se muestra una disminución del 17.25 % en la amplitud de las conductancias lentas tipo  $S_K$  en las neuronas expuestas a LPS. Las gráficas de barras de la Figura 14B y 14C resumen estos hallazgos. Estos resultados muestran que pese a la disminución en la fase lenta de la repolarización que depende de los canales de  $K^+$

dependientes de  $\text{Ca}^{2+}$  el LPS, incrementa la conductancia de los canales  $\text{B}_k$ . Por razones de tiempo, no fue posible aislar y analizar estas corrientes.



**Figura 14 Post potencial hiperpolarizante.** Los puntos representan el promedio  $\pm$  SEM, prueba t-test A) Registros electrofisiológicos representativos del postpotencial hiperpolarizante (línea negra para control, línea roja para LPS) B) Gráfica que representa el cambio en el voltaje de los canales BK ( $n$  células / animales = 16/10). Control  $13.86 \pm 1.22$  mV, LPS  $21.73 \pm 1.47$  mV,  $P = <0.001$ , t-test) C) Gráficas que representan el cambio en el voltaje de los canales SK ( $n$  células / animales = 16/10). Control  $20.38 \pm 0.17$  mV, LPS  $16.88 \pm 1.03$  mV,  $P=0.009$ , t-test) \*  $P < 0.05$  \*\* $P = 0.01$ , \*\*\* $P = 0.001$ , Mann-Whitney U.



## 10. Discusión

Esta ampliamente documentado que el LPS aumenta los niveles circulantes de citocinas proinflamatorias dentro y fuera del SNC, promoviendo la activación de la microglía y los astrocitos y su transición a un fenotipo proinflamatorio reactivo (M1 y A1, respectivamente) (Godbout et al., 2005; Tyagi et al., 2007; Qin et al., 2007; Qin et al., 2008; Spulber et al., 2012; Okuyama et al., 2013; Cazareth et al., 2014; Meneses et al., 2018). Las células gliales modulan la actividad de los circuitos neuronales mediante la liberación de citocinas proinflamatorias y gliotransmisores excitadores (Catorce y Gevorkian, 2016; Badshah et al., 2016; Tzour et al., 2017). Diversos autores indican que la administración sistémica de 1mg/kg (o una concentración menor) de LPS en ratones C57/BL conduce a un aumento en los niveles de IL1- $\beta$  y TNF- $\alpha$  citocinas presentes en eventos neuroinflamatorios (Spulber et al., 2012; Okuyama et al., 2013; Meneses et al., 2018).

El TNF- $\alpha$  ha sido relacionado con la regulación de la excitabilidad neuronal ya que facilita la gliotransmisión glutamatérgica, lo que a su vez conduce a un incremento en la excitabilidad intrínseca de las neuronas (Eidson et al., 2017). Shim y cols. (2018) hallaron que el TNF- $\alpha$  aumenta la Rn y la tasa de disparo espontáneo, además de disminuir el tiempo de inicio, disminuye la latencia del primer potencial de acción. Otros autores sugieren que la IL-1 $\beta$  despolariza la membrana, aumenta la Rn y la frecuencia de disparo neuronal en neuronas piramidales de CA1 (Skelly et al., 2019) y en neuronas del núcleo Parvocellular (Ferri y Ferguson, 2003). Con lo cual se podría suponer que la IL-1 $\beta$  en conjunto con TNF $\alpha$ , pueden ser responsables del aumento en la excitabilidad neuronal.

En los resultados obtenidos se observó que la administración sistémica de LPS aumentó la resistencia de entrada. La Rn es una medida eléctrica que nos da un estimado general de la disponibilidad de canales iónicos y el tamaño de la membrana plasmática (Dabrowski et al., 2013; Kulbacka et al., 2017). Un valor alto de Rn indica poca disponibilidad de canales iónicos abiertos, o incremento en la proporción de canales cerrados o inactivos. En nuestro caso, el incremento en la Rn sumado al incremento en la excitabilidad sugiere que conductancias de potasio, más específicamente conductancias salientes de potasio activas en un potencial de membrana cercano al potencial de reposo, pueden estar siendo

moduladas tras la activación inmune sistémica. En este sentido, trabajos previos han demostrado que el LPS puede inactivar diferentes canales potasio tales como:  $K_v 1.3$ ,  $K_v7/M$ ,  $K_{Ca}$ , en diferentes tipos de células, tanto no excitables como excitables. (Moreno et al., 2013; Nguyen et al., 2017; Turzo et al., 2018; Yeh et al., 2019). En el SNC, dicha inactivación está asociada con un incremento en la excitabilidad celular (Moreno et al., 2013; Zou et al., 2016). Si esta posibilidad es cierta, entonces el LPS promovería el cierre de los canales de  $K^+$ , incrementaría la  $R_n$ , y la positividad iónica al interior de la neurona, lo cual explica la depolarización del potencial de membrana en reposo observada. Además de reducir el requerimiento de corriente despolarizante para inducir el disparo neuronal. Faltaría por determinar que canales de potasio podrían estar siendo modulados por la administración sistémica de LPS. Sin embargo, esta posibilidad no fue explorada en este trabajo.

Adicionalmente, un cambio en la  $R_n$  nos habla de posibles alteraciones en el área total de membrana celular. Esto, en conjunto con la constante de tiempo membranar, son parámetros que han sido utilizados como herramientas para evaluar la degeneración de procesos dendríticos y somáticos en neuronas (Isokawa, 1996; Isokawa, 1997). En el presente trabajo no se realizó una evaluación morfológica de las neuronas tras la activación inmune sistémica. Además, nuestros resultados no mostraron cambios en la constante de tiempo membranar, lo cual sugiere que veinticuatro horas posteriores a la activación inmune sistémica, no es tiempo suficiente para ocasionar daño morfológico en el área total de las dendritas. Si la exposición a LPS altera la morfología neuronal, estos no son detectables a través de parámetros electrofisiológicos.

En el SNC, el  $TNF-\alpha$  es liberado por las células gliales (que se activan en respuesta a lesión o infección). En este sentido, Shim y cols. (2018) perfundieron  $TNF-\alpha$  directamente sobre cultivos organotípicos de células de Purkinje. A diferencia de nosotros, los autores observaron un incremento en la excitabilidad neuronal (incremento en la descarga de potenciales de acción) utilizando un protocolo similar al nuestro (inyección de corriente despolarizante por 1 segundo). Esta discrepancia sugiere que el mecanismo por el cual la activación inmune sistémica puede tener múltiples pasos antes de modificar la excitabilidad

neuronal. La caja negra que representa la temporalidad mecánica entre la inyección intraperitoneal de LPS y la modificación en las propiedades intrínsecas de la membrana, queda fuera de los alcances de nuestro estudio.

Los canales de  $\text{Na}^+$  activados por voltaje son responsables de la despolarización neuronal que subyace a la subida de los PAs (Dover et al., 2010; Steinlein, 2014). Por lo tanto, los canales de  $\text{Na}^+$  median de la fase subida y la amplitud máxima de los PA (Scott et al., 2014; Grider y Glaubenskleer, 2019). La inactivación de estos canales resulta en una menor amplitud, y velocidad de subida acelerada (Trombin et al., 2011; Ghasemi et al., 2018). Nuestros resultados indican una menor amplitud y un aumento en la velocidad de subida del PA, acompañado de un aumento transitorio de la frecuencia de disparo y posterior acomodamiento o silenciamiento en los potenciales de acción. El acomodamiento del disparo (o adaptación del disparo neuronal) es el fenómeno mediante el cual, una neurona deja de disparar a pesar de recibir estímulos despolarizantes. En algunos casos, el acomodamiento es tan marcada que, a pesar de dar estímulos despolarizantes, solo se inicia un pequeño número de PAs (Kanold y Manis, 1999; Tsantoulas y McMahon, 2014; Ha y Cheong, 2017). El acomodamiento se divide en dos fases: temprana, que ocurre durante los primeros cientos de milisegundos de disparo; y tardía, ocurriendo durante decenas de segundos o incluso minutos (Miles et al., 2005). El acomodamiento puede deberse a: 1) inactivación de las corrientes de sodio ( $I_{\text{Na}}$ ); 2) activación de corrientes hiperpolarizantes lentas o corrientes “*Shunting*”; y 3) activación de corrientes de potasio dependientes de voltaje ( $I_{\text{M}}$ ) (Anaeigoudari et al., 2016). En muchas células, el cierre de los canales de  $\text{Na}^+$  no es completo, resultando en una pequeña corriente de sodio persistente que exhibe un tiempo de inactivación lento. Esta forma acumulativa y prolongada de inactivación de algunos canales de  $\text{Na}^+$  puede ser la responsable del proceso de adaptación observado en nuestros resultados (Jung et al., 1997; Steinlein, 2014). Sin embargo, si esta posibilidad es cierta es necesario llevar a cabo experimentos adicionales de aislamiento de corriente para corroborar lo antes dicho.

Los canales de  $\text{K}^+$  son responsables de la repolarización en los PA, al permitir el flujo de  $\text{K}^+$  al exterior de la célula (Trombin et al., 2011; Bove et al., 2019). La inactivación de estos

canales ha sido relacionada con disminución en la amplitud, y aumento en la velocidad de subida y bajada del PA (Trombin et al., 2011). En nuestro caso, la disminución en las conductancias de  $K^+$  observadas en los *phase plot* Fig. 9 y 11) sumada la disminución de la amplitud y aumento en las velocidades de subida y bajada del PA, sugiere que la inactivación de los canales de potasio, pueden estar siendo moduladas tras la activación inmune sistémica. En este sentido, Tzour y cols (2017), sugieren que el LPS conduce a un aumento en la excitabilidad neuronal mediante la inhibición de los canales de  $K^+$ , en células piramidales de CA1. Esta excitabilidad neuronal se ve mediante la disminución en el PMR y aumento de la  $R_n$  y frecuencia de disparo. La identificación de las conductancias de  $K^+$  que modifican el disparo en las neuronas expuestas a LPS requiere investigación y no fue abordada en este trabajo.

Asimismo, los canales  $K^+$  dependientes de  $Ca^{2+}$  de conductancias pequeñas (canales  $S_K$ ) mediada regulan la transmisión sináptica y la excitabilidad neuronal (Song et al., 2018; Bove et al., 2019). En este aspecto, se ha reportado que la activación de los canales  $S_K$  reduce la neuroinflamación y la excitabilidad neuronal (Grunnet et al., 2001; Cao et al., 2002; Judge et al., 2007). Lo cual sugiere que la disminución en estas conductancias como la mostrada en nuestros resultados, están relacionadas con el aumento en la excitabilidad neuronal (Ha y Cheong, 2017).

Una observación adicional en nuestro estudio fue el aumento en la amplitud de los canales  $B_K$ , que a diferencia de los canales  $S_K$  pueden activarse por el aumento en los niveles de  $Ca^{2+}$  o por voltaje (Yu et al., 2016). El bloqueo de los canales  $B_K$  se ha relacionado con la disminución en la velocidad de bajada del PA (Shao et al., 1999; Ksiazek et al., 2013). Nuestros resultados indican un aumento en las conductancias de  $B_K$  (Fig. 14), acompañada a un aumento en la velocidad de bajada, lo cual sugiere la activación estos canales en la puede estar modulando la cinética del PA. Se necesitarían estudios adicionales para corroborar lo antes dicho. Diversos autores expresan el efecto mixto que tienen los canales  $B_K$  en la frecuencia de disparo, pues que la inhibición farmacológica de estos canales puede aumentar o disminuir la frecuencia de disparo de los potenciales de acción dependientes de la interacción con otros canales, además de la ubicación y mutaciones en estas células

(Gu et al., 2007; Shruti et al., 2008; Ly et al., 2011; Kimm et al., 2015; Bock y Stuart, 2016; Contet et al., 2016; Wang et al., 2016). El aumento o disminución en la función de los canales  $B_K$  ha sido asociada con la epilepsia, la ataxia, la discapacidad intelectual y el dolor crónico (D'Adamo et al., 2013; Contet et al., 2016; Carrasquel-Ursulaez et al., 2018; Kshatri et al., 2018).

## 11. Conclusión

La administración sistémica de lipopolisacárido aumenta la excitabilidad de las neuronas piramidales de la capa V de la corteza medial prefrontal y se ve reflejado con: cambios en las propiedades intrínsecas de la membrana, acompañado de cambios en la cinética de disparo de los PAs. Además, de observarse un silenciamiento o acomodamiento de los potenciales de acción los cuales podrían estar mediados por la inactivación acumulativa de conductancias de  $Na^+$  y probablemente la inactivación de conductancias de  $K^+$ .

## 12. Perspectivas

Con la finalidad de caracterizar con mayor precisión los cambios ocurridos tras una activación inmune sistémica mediada por LPS sería necesario realizar los siguientes puntos.

1. Debido a la relación que existe entre la neuroinflamación y la excitabilidad intrínseca, sería conveniente evaluar la participación de la microglía, así como las citocinas ( $IL-1\beta$  y  $TNF-\alpha$ ) mediante técnicas como inmunofluorescencias, western blot, PCR, en la corteza prefrontal del ratón.
2. En virtud de que existen cambios en las conductancias de  $Na^+$  y  $K^+$ . Se podrían aislar las corrientes de  $Na^+$  y  $K^+$ , para poder visualizar con mayor precisión la participación de estos en la excitabilidad neuronal asociada a la administración aguda de LPS.
3. Evaluar los cambios electrofisiológicos ocasionados por la administración aguda de LPS, a través del tiempo (2 días y 5 días post administración).

### 13. Referencias

- Abareshi, A., Anaeigoudari, A., Norouzi, F., Shafei, M. N., Boskabady, M. H., Khazaei, M., & Hosseini, M. (2016). Lipopolysaccharide-Induced Spatial Memory and Synaptic Plasticity Impairment Is Preventable by Captopril. *Advances in Medicine*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7676512>
- Abbas, A. K., Lichtman, A. H. H., & Pillai, S. (2018). *Inmunología Celular y Molecular*. Retrieved from <https://tienda.elsevier.es/inmunologia-celular-y-molecular-9788491132752.html>
- Alonso, A., & Klink, R. (1993). Differential electroresponsiveness of stellate and pyramidal-like cells of medial entorhinal cortex layer II. *Journal of Neurophysiology*, 70(1), 128–143. <https://doi.org/10.1152/jn.1993.70.1.128>
- Anaeigoudari, A., Soukhtanloo, M., Shafei, M. N., Sadeghnia, H. R., Reisi, P., Beheshti, F., ... Hosseini, M. (2016). Neuronal nitric oxide synthase has a role in the detrimental effects of lipopolysaccharide on spatial memory and synaptic plasticity in rats. *Pharmacological Reports*, 68(2), 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2015.09.004>
- Anderson, M. A., Ao, Y., & Sofroniew, M. V. (2014, April 17). Heterogeneity of reactive astrocytes. *Neuroscience Letters*, Vol. 565, pp. 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.12.030>
- Aristizábal, B., & González, A. (2013). Innate immune system. In El Rosario University Press (Ed.), *Autoimmunity: From Bench to Bedside*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459455/>
- Armenta-Resendiz, M., Cruz, S. L., & Galván, E. J. (2018). Repeated toluene exposure increases the excitability of layer 5 pyramidal neurons in the prefrontal cortex of adolescent rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 68, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2018.04.006>
- Badshah, H., Ali, T., & Kim, M. O. (2016). Osmotin attenuates LPS-induced

- neuroinflammation and memory impairments via the TLR4/NFκB signaling pathway. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep24493>
- Barbas, H. (2009). Prefrontal Cortex: Structure and Anatomy. In *Encyclopedia of Neuroscience* (pp. 909–918). <https://doi.org/10.1016/B978-008045046-9.00427-7>
- Barber, S. A., Fultz, M. J., Salkowski, C. A., & Vogel, S. N. (1995). Differential expression of interferon regulatory factor 1 (IRF-1), IRF-2, and interferon consensus sequence binding protein genes in lipopolysaccharide (LPS)-responsive and LPS-hyporesponsive macrophages. *Infection and Immunity*, 63(2), 601–608. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7822029>
- Bedwell, S. A., Billett, E. E., Crofts, J. J., & Tinsley, C. J. (2017). Differences in anatomical connections across distinct areas in the rodent prefrontal cortex. *European Journal of Neuroscience*, 45(6), 859–873. <https://doi.org/10.1111/ejn.13521>
- Biesmans, S., Meert, T. F., Bouwknecht, J. A., Acton, P. D., Davoodi, N., De Haes, P., ... Nuydens, R. (2013). Systemic immune activation leads to neuroinflammation and sickness behavior in mice. *Mediators of Inflammation*, 2013, 271359. <https://doi.org/10.1155/2013/271359>
- Blank, T., & Prinz, M. (2013). Microglia as modulators of cognition and neuropsychiatric disorders. *GLIA*, 61(1), 62–70. <https://doi.org/10.1002/glia.22372>
- Bock, T., & Stuart, G. J. (2016). The impact of BK channels on cellular excitability depends on their subcellular location. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 10(AUG), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00206>
- Bove, C., Coleman, F. H., & Travagli, R. A. (2019). Characterization of the Basic Membrane Properties of Neurons of the Rat Dorsal Motor Nucleus of the Vagus in Paraquat-Induced Models of Parkinsonism. *Neuroscience*, 418, 122–132. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.08.048>
- Brites, D., & Fernandes, A. (2015, December 17). Neuroinflammation and depression: Microglia activation, extracellular microvesicles and microRNA dysregulation.

*Frontiers in Cellular Neuroscience*, Vol. 9, pp. 1–20.

<https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00476>

Brown, G. C. (2019). The endotoxin hypothesis of neurodegeneration. *Journal of Neuroinflammation*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1564-7>

Cambridge Dictionary. (2020). IMMUNE SYSTEM. Retrieved April 15, 2020, from Cambridge Dictionary website:

<https://dictionary.cambridge.org/es/diccionario/ingles/immune-system>

Cameron, M. J., & Kelvin, D. J. (2013). *Cytokines, Chemokines and Their Receptors*.

Cardinali, P. (1993). Manual de neurofisiología. Retrieved November 27, 2019, from Editorial Díaz de Santos website:

[https://books.google.com.mx/books?id=hY6GoDV8DC4C&pg=PA24&lpg=PA24&dq=propiedades+activas+de+la+membrana&source=bl&ots=U\\_udDRDfjK&sig=ACfU3U3t4AZLJxf8wywMmJKzffbZOWrN-A&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwj4gbKspovmAhVlhq0KHxREdGw4ChDoATAFegQIChAC#v=onepage&q=propiedad](https://books.google.com.mx/books?id=hY6GoDV8DC4C&pg=PA24&lpg=PA24&dq=propiedades+activas+de+la+membrana&source=bl&ots=U_udDRDfjK&sig=ACfU3U3t4AZLJxf8wywMmJKzffbZOWrN-A&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwj4gbKspovmAhVlhq0KHxREdGw4ChDoATAFegQIChAC#v=onepage&q=propiedad)

Carrasquel-Ursulaez, W., Lorenzo, Y., Echeverria, F., Latorre, R., Carrasquel-Ursulaez, W., Lorenzo, Y., ... Latorre, R. (2018). Large Conductance Potassium Channels in the Nervous System. In *The Oxford Handbook of Neuronal Ion Channels*. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780190669164.013.11>

Cao, Y. J., Dreixler, J. C., Couey, J. J., & Houamed, K. M. (2002). Modulation of recombinant and native neuronal SK channels by the neuroprotective drug riluzole. *European Journal of Pharmacology*, 449(1–2), 47–54. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(02\)01987-8](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(02)01987-8)

Catorce, M. N., & Gevorkian, G. (2016). LPS-induced Murine Neuroinflammation Model: Main Features and Suitability for Pre-clinical Assessment of Nutraceuticals. *Current Neuropharmacology*, 14(2), 155–164.



<https://doi.org/10.2174/1570159X14666151204122017>

Cazareth, J., Guyon, A., Heurteaux, C., Chabry, J., & Petit-Paitel, A. (2014). Molecular and cellular neuroinflammatory status of mouse brain after systemic lipopolysaccharide challenge: importance of CCR2/CCL2 signaling. *Journal of Neuroinflammation*, *11*, 132. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-132>

Charles A Janeway, J., Travers, P., Walport, M., & Shlomchik, M. J. (2001). *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*.

Chen, I., & Lui, F. (2019). Neuroanatomy, Neuron Action Potential. In *StatPearls*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31536246>

Cherry, J. D., Olschowka, J. A., & O'Banion, M. K. (2014, June 3). Neuroinflammation and M2 microglia: The good, the bad, and the inflamed. *Journal of Neuroinflammation*, Vol. 11, p. 98. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-98>

Chugh, D., Nilsson, P., Afjei, S. A., Bakochi, A., & Ekdahl, C. T. (2013). Brain inflammation induces post-synaptic changes during early synapse formation in adult-born hippocampal neurons. *Experimental Neurology*, *250*, 176–188. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2013.09.005>

Chun, H., & Lee, C. J. (2018, January 1). Reactive astrocytes in Alzheimer's disease: A double-edged sword. *Neuroscience Research*, Vol. 126, pp. 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2017.11.012>

Church, D., Elsayed, S., Reid, O., Winston, B., & Lindsay, R. (2006, April). Burn wound infections. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 19, pp. 403–434. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.2.403-434.2006>

Cochet, F., & Peri, F. (2017, November 3). The role of carbohydrates in the lipopolysaccharide (LPS)/toll-like receptor 4 (TLR4) Signalling. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 18. <https://doi.org/10.3390/ijms18112318>

Colonna, M., & Butovsky, O. (2017). Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. *Annual Review of Immunology*, *35*(1), 441–

468. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052358>

Contet, C., Goulding, S. P., Kuljis, D. A., & Barth, A. L. (2016). BK Channels in the Central Nervous System. In *International Review of Neurobiology* (1st ed., Vol. 128).

<https://doi.org/10.1016/bs.irn.2016.04.001>

Cooper, R. L., McNabb, M., & Nadolski, J. (2019). The effects of bacterial endotoxin LPS on synaptic transmission at the neuromuscular junction. *Heliyon*, 5(3), e01430.

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01430>

Cunningham, C. (2013). Microglia and neurodegeneration: The role of systemic inflammation. *Glia*, 61(1), 71–90. <https://doi.org/10.1002/glia.22350>

D'Adamo, M. C., Catacuzzeno, L., di Giovanni, G., Franciolini, F., & Pessia, M. (2013). K<sup>+</sup> channelopathy: Progress in the neurobiology of potassium channels and epilepsy.

*Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7(SEP), 1–21.

<https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00134>

da Cunha Franceschi, R., Nardin, P., Machado, C. V., Tortorelli, L. S., Martinez-Pereira, M. A., Zanotto, C., ... Zancan, D. M. (2017). Enteric glial reactivity to systemic LPS

administration: Changes in GFAP and S100B protein. *Neuroscience Research*, 119, 15–23. <https://doi.org/10.1016/J.NEURES.2016.12.005>

Dabrowski, K. M., Castaño, D. J., & Tartar, J. L. (2013). Basic neuron model electrical equivalent circuit: An undergraduate laboratory exercise. *Journal of Undergraduate Neuroscience Education*, 12(1), A49.

Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., & Kelley, K. W. (2008, January). From inflammation to sickness and depression: When the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, Vol. 9, pp. 46–56.

<https://doi.org/10.1038/nrn2297>

Das, S., Mishra, K. P., Ganju, L., & Singh, S. B. (2017). Andrographolide - A promising therapeutic agent, negatively regulates glial cell derived neurodegeneration of prefrontal cortex, hippocampus and working memory impairment. *Journal of*

- Neuroimmunology*, 313, 161–175. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2017.11.003>
- Degenetais, E., Thierry, A.-M., Glowinski, J., & Gioanni, Y. (2002). Electrophysiological Properties of Pyramidal Neurons in the Rat Prefrontal Cortex: An In Vivo Intracellular Recording Study. *Cerebral Cortex*, 12(1), 1–16. <https://doi.org/10.1093/cercor/12.1.1>
- Dover, K., Solinas, S., D'Angelo, E., & Goldfarb, M. (2010). Long-term inactivation particle for voltage-gated sodium channels. *Journal of Physiology*, 588(19), 3695–3711. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.192559>
- Dustin, M. L. (2012, April 2). Signaling at neuro/immune synapses. *Journal of Clinical Investigation*, Vol. 122, pp. 1149–1155. <https://doi.org/10.1172/JCI58705>
- Eidson, L. N., Inoue, K., Young, L. J., Tansey, M. G., & Murphy, A. Z. (2017). Toll-like Receptor 4 Mediates Morphine-Induced Neuroinflammation and Tolerance via Soluble Tumor Necrosis Factor Signaling. *Neuropsychopharmacology*, 42(3), 661–670. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.131>
- Erridge, C., Bennett-Guerrero, E., & Poxton, I. R. (2002, July 1). Structure and function of lipopolysaccharides. *Microbes and Infection*, Vol. 4, pp. 837–851. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)01604-0](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)01604-0)
- Euston, D. R., Gruber, A. J., & McNaughton, B. L. (2012, December 20). The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. *Neuron*, Vol. 76, pp. 1057–1070. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.002>
- Evilsizor, M. N., Ray-Jones, H. F., Ellis, T. W., Lifshitz, J., & Ziebell, J. M. (2015). Microglia in experimental brain injury: Implications on neuronal injury and circuit remodeling. In *Brain Neurotrauma: Molecular, Neuropsychological, and Rehabilitation Aspects* (pp. 79–90). <https://doi.org/10.1201/b18126>
- Fernández-Calle, R., Vicente-Rodríguez, M., Gramage, E., Pita, J., Pérez-García, C., Ferrer-Alcón, M., ... Herradón, G. (2017). Pleiotrophin regulates microglia-mediated neuroinflammation. *Journal of Neuroinflammation*, 14(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0823-8>

- Ferri, C. C., & Ferguson, A. V. (2003). Interleukin-1 $\beta$  depolarizes paraventricular nucleus parvocellular neurones. *Journal of Neuroendocrinology*, *15*(2), 126–133.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2003.00870.x>
- Fink, M. P. (2014). Animal models of sepsis. *Virulence*, Vol. 5, pp. 143–153.  
<https://doi.org/10.4161/viru.26083>
- Fischer, C. W., Elfving, B., Lund, S., & Wegener, G. (2015). Behavioral and systemic consequences of long-term inflammatory challenge. *Journal of Neuroimmunology*, *288*, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.08.011>
- Fleit, H. B. (2014). Chronic Inflammation. In *Pathobiology of Human Disease: A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms* (pp. 300–314). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.01808-6>
- Fulenwider, H. D., Smith, B. M., Nichenko, A. S., Carpenter, J. M., Nennig, S. E., Cheng, K., ... Schank, J. R. (2018). Cellular and behavioral effects of lipopolysaccharide treatment are dependent upon neurokinin-1 receptor activation. *Journal of Neuroinflammation*, *15*(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1098-4>
- Fuster, J M. (2008). The Prefrontal Cortex: 4th Edition. *Creativity*, *1*, 410.  
[https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80673-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80673-X)
- Fuster, Joaquín M. (2001). The prefrontal cortex - An update: Time is of the essence. *Neuron*, Vol. 30, pp. 319–333. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00285-9](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00285-9)
- Gao, F., Liu, Z., Ren, W., & Jiang, W. (2014). Acute lipopolysaccharide exposure facilitates epileptiform activity via enhanced excitatory synaptic transmission and neuronal excitability in vitro. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, *10*, 1489–1495.  
<https://doi.org/10.2147/NDT.S65695>
- Garcia-Oscos, F., Peña, D., Housini, M., Cheng, D., Lopez, D., Borland, M. S., ... Atzori, M. (2015). Vagal nerve stimulation blocks interleukin 6-dependent synaptic hyperexcitability induced by lipopolysaccharide-induced acute stress in the rodent prefrontal cortex. *Brain, Behavior, and Immunity*, *43*, 149–158.

<https://doi.org/10.1016/J.BBI.2014.07.020>

- Ghasemi, Z., Naderi, N., Shojaei, A., Ahmadirad, N., Raoufy, M. R., & Mirnajafi-Zadeh, J. (2018). Low frequency electrical stimulation attenuated the epileptiform activity-induced changes in action potential features in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Cell Journal*, *20*(3), 355–360. <https://doi.org/10.22074/cellj.2018.5443>
- Godbout, J. P., Chen, J., Abraham, J., Richwine, A. F., Berg, B. M., Kelley, K. W., & Johnson, R. W. (2005). Exaggerated neuroinflammation and sickness behavior in aged mice after activation of the peripheral innate immune system. *The FASEB Journal*, *19*(10), 1329–1331. <https://doi.org/10.1096/fj.05-3776fje>
- Goldmann, T., & Prinz, M. (2013). Role of microglia in CNS autoimmunity. *Clinical and Developmental Immunology*, Vol. 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/208093>
- Gomez, H. G., Rugeles, M. T., & Jaimes, F. A. (2015, January 1). Key immunological characteristics in the pathophysiology of sepsis. *Infectio*, Vol. 19, pp. 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2014.03.001>
- Grider, M. H., & Glaubenskle, C. S. (2019). Physiology, Action Potential. In *StatPearls*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30844170>
- Grunnet, M., Jespersen, T., Angelo, K., Frøkjær-Jensen, C., Klaerke, D. A., Olesen, S. P., & Jensen, B. S. (2001). Pharmacological modulation of SK3 channels. *Neuropharmacology*, *40*(7), 879–887. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(01\)00028-4](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(01)00028-4)
- Gu, N., Vervaeke, K., & Storm, J. F. (2007). BK potassium channels facilitate high-frequency firing and cause early spike frequency adaptation in rat CA1 hippocampal pyramidal cells. *Journal of Physiology*, *580*(3), 859–882. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.126367>
- Ha, G. E., & Cheong, E. (2017). Spike frequency adaptation in neurons of the central nervous system. *Experimental Neurobiology*, *26*(4), 179–185. <https://doi.org/10.5607/en.2017.26.4.179>

- Hagen, M., & Derudder, E. (2019). Inflammation and the Alteration of B-Cell Physiology in Aging. *Gerontology*, 1–9. <https://doi.org/10.1159/000501963>
- Hamby, M. E., Coppola, G., Ao, Y., Geschwind, D. H., Khakh, B. S., & Sofroniew, M. V. (2012). Inflammatory mediators alter the astrocyte transcriptome and calcium signaling elicited by multiple G-protein-coupled receptors. *Journal of Neuroscience*, 32(42), 14489–14510. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1256-12.2012>
- Hattox, A. M., & Nelson, S. B. (2007). Layer V Neurons in Mouse Cortex Projecting to Different Targets Have Distinct Physiological Properties. *Journal of Neurophysiology*, 98(6), 3330–3340. <https://doi.org/10.1152/jn.00397.2007>
- Heidbreder, C. A., & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: Evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, Vol. 27, pp. 555–579. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.09.003>
- Heneka, M. T., Carson, M. J., Khoury, J. El, Landreth, G. E., Brosseron, F., Feinstein, D. L., ... Kummer, M. P. (2015, April 1). Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*, Vol. 14, pp. 388–405. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5)
- Hernández Cortez, C., Aguilera Arreola, M. G., & Castro Escarpulli, G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 31(4), 137–151.
- Hibino, H., Inanobe, A., Furutani, K., Murakami, S., Findlay, I., & Kurachi, Y. (2010). Inwardly rectifying potassium channels: Their structure, function, and physiological roles. *Physiological Reviews*, 90(1), 291–366. <https://doi.org/10.1152/physrev.00021.2009>
- Hickman, S., Izzy, S., Sen, P., Morsett, L., & El Khoury, J. (2018, October 1). Microglia in neurodegeneration. *Nature Neuroscience*, Vol. 21, pp. 1359–1369. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0242-x>
- Ho, M. S. (2019). *Microglia in Parkinson's Disease*. <https://doi.org/10.1007/978-981-13->

- Hoogland, I. C. M., Houbolt, C., van Westerloo, D. J., van Gool, W. A., & van de Beek, D. (2015, June 6). Systemic inflammation and microglial activation: Systematic review of animal experiments. *Journal of Neuroinflammation*, Vol. 12. <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0332-6>
- Huo, J., Cui, Q., Yang, W., & Guo, W. (2018). LPS induces dopamine depletion and iron accumulation in substantia nigra in rat models of Parkinson's disease. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 11(10), 4942–4949. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31949570>
- Isokawa, M. (1996). Decreased time constant in hippocampal dentate granule cells in pilocarpine-treated rats with progressive seizure frequencies. *Brain Research*, 718(1–2), 169–175. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00118-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00118-7)
- Isokawa, M. (1997). Membrane time constant as a tool to assess cell degeneration. *Brain Research Protocols*, 1(2), 114–116. [https://doi.org/10.1016/S1385-299X\(96\)00016-5](https://doi.org/10.1016/S1385-299X(96)00016-5)
- Jackman, N. A., Uliasz, T. F., Hewett, J. A., & Hewett, S. J. (2010). Regulation of system xc- activity and expression in astrocytes by interleukin-1 $\beta$ : Implications for hypoxic neuronal injury. *GLIA*, 58(15), 1806–1815. <https://doi.org/10.1002/glia.21050>
- Janeway, C. A., & Medzhitov, R. (2002). INNATE IMMUNE RECOGNITION. *Annual Review of Immunology*, 20(1), 197–216. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359>
- Janeway, C., Travers, P., Walport, M., & Shlomchik, M. (2001). Immunobiology. In *Garland Science* (5th ed.). Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10757/>
- Jung, H. Y., Mickus, T., & Spruston, N. (1997). Prolonged sodium channel inactivation contributes to dendritic action potential attenuation in hippocampal pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience*, 17(17), 6639–6646. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-17-06639.1997>
- Justiz Vaillant, A. A., & Jan, A. (2019). Physiology, Immune Response. In *StatPearls*.

Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30969623>

- Judge, S. I. V., Smith, P. J., Stewart, P. E., & Bever, C. T. (2007). Potassium channel blockers and openers as CNS neurologic therapeutic agents. *Recent Patents on CNS Drug Discovery*, 2(3), 200–228. <https://doi.org/10.2174/157488907782411765>
- Kabba, J. A., Xu, Y., Christian, H., Ruan, W., Chenai, K., Xiang, Y., ... Pang, T. (2018, January 1). Microglia: Housekeeper of the Central Nervous System. *Cellular and Molecular Neurobiology*, Vol. 38, pp. 53–71. <https://doi.org/10.1007/s10571-017-0504-2>
- Kanold, P. O., & Manis, P. B. (1999). Transient potassium currents regulate the discharge patterns of dorsal cochlear nucleus pyramidal cells. *Journal of Neuroscience*, 19(6), 2195–2208. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.19-06-02195.1999>
- Karve, I. P., Taylor, J. M., & Crack, P. J. (2016). The contribution of astrocytes and microglia to traumatic brain injury. *British Journal of Pharmacology*, 173(4), 692–702. <https://doi.org/10.1111/bph.13125>
- Kettenmann, H., Kirchhoff, F., & Verkhratsky, A. (2013, January 9). Microglia: New Roles for the Synaptic Stripper. *Neuron*, Vol. 77, pp. 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.023>
- Khairova, R. A., Machado-Vieira, R., Du, J., & Manji, H. K. (2009, May). A potential role for pro-inflammatory cytokines in regulating synaptic plasticity in major depressive disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, Vol. 12, pp. 561–578. <https://doi.org/10.1017/S1461145709009924>
- Kimm, T., Khaliq, Z. M., & Bean, B. P. (2015). Differential regulation of action potential shape and burst-frequency firing by BK and Kv2 channels in substantia nigra dopaminergic neurons. *Journal of Neuroscience*, 35(50), 16404–16417. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5291-14.2015>
- Ko, J. (2017). Neuroanatomical Substrates of Rodent Social Behavior: The Medial Prefrontal Cortex and Its Projection Patterns. *Frontiers in Neural Circuits*, 11, 41. <https://doi.org/10.3389/fncir.2017.00041>



- Kshatri, A. S., Gonzalez-Hernandez, A., & Giraldez, T. (2018). Physiological Roles and Therapeutic Potential of Ca<sup>2+</sup> Activated Potassium Channels in the Nervous System. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11(July), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00258>
- Ksiazek, A., Ładno, W., Szulczyk, B., Grzelka, K., & Szulczyk, P. (2013). Properties of BK-type Ca<sup>++</sup> -dependent K<sup>+</sup> channel currents in medial prefrontal cortex pyramidal neurons in rats of different ages. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7(OCT), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00185>
- Kulbacka, J., Choromańska, A., Rossowska, J., Weźgowiec, J., Saczko, J., & Rols, M. P. (2017). Cell membrane transport mechanisms: Ion channels and electrical properties of cell membranes. In *Advances in Anatomy Embryology and Cell Biology* (Vol. 227, pp. 39–58). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-56895-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-56895-9_3)
- Kurowski, P., Grzelka, K., & Szulczyk, P. (2018). Ionic mechanism underlying rebound depolarization in medial prefrontal cortex pyramidal neurons. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12(April), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00093>
- Li, M., Li, C., Yu, H., Cai, X., Shen, X., Sun, X., ... Wang, C. (2017). Lentivirus-mediated interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) knock-down in the hippocampus alleviates lipopolysaccharide (LPS)-induced memory deficits and anxiety- and depression-like behaviors in mice. *Journal of Neuroinflammation*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0964-9>
- Lieberman, M. D., Straccia, M. A., Meyer, M. L., Du, M., & Tan, K. M. (2019). Social, self, (situational), and affective processes in medial prefrontal cortex (MPFC): Causal, multivariate, and reverse inference evidence. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 99(January), 311–328. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.12.021>
- Liu, B. I. N., & Hong, J. (2003). Role of Microglia in Inflammation-Mediated Neurodegenerative Diseases: Mechanisms and Strategies for Therapeutic Intervention. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 304(1), 1–7. <https://doi.org/10.1124/jpet.102.035048>
- Llinás, R. R. (2014, November 4). Intrinsic electrical properties of mammalian neurons and

- CNS function: A historical perspective. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, Vol. 8, pp. 1–14. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00320>
- Lopes, P. C. (2016). LPS and neuroinflammation: a matter of timing. *Inflammopharmacology*, 24(5), 291–293. <https://doi.org/10.1007/s10787-016-0283-2>
- Lu, Y. C., Yeh, W. C., & Ohashi, P. S. (2008, May 1). LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine*, Vol. 42, pp. 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2008.01.006>
- Ly, C., Melman, T., Barth, A. L., & Ermentrout, G. B. (2011). Phase-resetting curve determines how BK currents affect neuronal firing. *Journal of Computational Neuroscience*, 30(2), 211–223. <https://doi.org/10.1007/s10827-010-0246-3>
- Mahieu, T., Park, J. M., Revets, H., Pasche, B., Lengeling, A., Staelens, J., ... Libert, C. (2006). The wild-derived inbred mouse strain SPRET/Ei is resistant to LPS and defective in IFN- $\beta$  production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(7), 2292–2297. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510874103>
- Marek, R., Strobel, C., Bredy, T. W., & Sah, P. (2013). The amygdala and medial prefrontal cortex: partners in the fear circuit. *The Journal of Physiology*, 591(Pt 10), 2381. <https://doi.org/10.1113/JPHYSIOL.2012.248575>
- Medzhitov, R. (2008, July 24). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, Vol. 454, pp. 428–435. <https://doi.org/10.1038/nature07201>
- Meneses, G., Rosetti, M., Espinosa, A., Florentino, A., Bautista, M., Díaz, G., ... Sciotto, E. (2018). Recovery from an acute systemic and central LPS-inflammation challenge is affected by mouse sex and genetic background. *PLOS ONE*, 13(8), e0201375. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201375>
- Miles, G. B., Dai, Y., & Brownstone, R. M. (2005). Mechanisms underlying the early phase of spike frequency adaptation in mouse spinal motoneurons. *The Journal of Physiology*, 566(2), 519–532. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.086033>
- Mitrić, M., Seewald, A., Moschetti, G., Sacerdote, P., Ferraguti, F., Kummer, K. K., & Kress,

- M. (2019). Layer- and subregion-specific electrophysiological and morphological changes of the medial prefrontal cortex in a mouse model of neuropathic pain. *Scientific Reports*, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45677-z>
- Moran, A. P. (2001). Molecular Structure, Biosynthesis, and Pathogenic Roles of Lipopolysaccharides. In *Helicobacter pylori: Physiology and Genetics*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21290749>
- Moreno, C., Prieto, P., Macías, Á., Pimentel-Santillana, M., de la Cruz, A., Través, P. G., ... Valenzuela, C. (2013). Modulation of Voltage-Dependent and Inward Rectifier Potassium Channels by 15-Epi-Lipoxin-A 4 in Activated Murine Macrophages: Implications in Innate Immunity . *The Journal of Immunology*, 191(12), 6136–6146. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1300235>
- National Institute of Allergy and Infectious Diseases. (2013). Overview of the Immune System. Retrieved April 15, 2020, from National institute of Allergy and Infectious Diseases website: <https://www.niaid.nih.gov/research/immune-system-overview>
- Nayak, D., Roth, T. L., & McGavern, D. B. (2014). Microglia Development and Function. *Annual Review of Immunology*, 32(1), 367–402. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120240>
- Neal, M., & Richardson, J. R. (2018, February 1). Epigenetic regulation of astrocyte function in neuroinflammation and neurodegeneration. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, Vol. 1864, pp. 432–443. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.11.004>
- Nevian, T., Larkum, M. E., Polsky, A., & Schiller, J. (2007). Properties of basal dendrites of layer 5 pyramidal neurons: a direct patch-clamp recording study. *Nature Neuroscience*, 10(2), 206–214. <https://doi.org/10.1038/nn1826>
- Nguyen, H. M., Grössinger, E. M., Horiuchi, M., Davis, K. W., Jin, L. W., Maezawa, I., & Wulff, H. (2017). Differential Kv1.3, KCa3.1, and Kir2.1 expression in “classically” and “alternatively” activated microglia. *GLIA*, 65(1), 106–121. <https://doi.org/10.1002/glia.23078>

- Okuyama, S., Makihata, N., Yoshimura, M., Amakura, Y., Yoshida, T., Nakajima, M., & Furukawa, Y. (2013). Oenothien B suppresses lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation in the mouse brain. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(5), 9767–9778. <https://doi.org/10.3390/ijms14059767>
- Ortinski, P. I., Dong, J., Mungenast, A., Yue, C., Takano, H., Watson, D. J., ... Coulter, D. A. (2010). Selective induction of astrocytic gliosis generates deficits in neuronal inhibition. *Nature Neuroscience*, *13*(5), 584–591. <https://doi.org/10.1038/nn.2535>
- Parkin, J., & Cohen, B. (2001). *An Overview of the Immune System*. 357, 1777–1789. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04904-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04904-7)
- Płóciennikowska, A., Hromada-Judycka, A., Borzęcka, K., & Kwiatkowska, K. (2015). Co-operation of TLR4 and raft proteins in LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *72*(3), 557–581. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1762-5>
- Prieto, G. A., & Cotman, C. W. (2017, April 1). Cytokines and cytokine networks target neurons to modulate long-term potentiation. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, Vol. 34, pp. 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2017.03.005>
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Katz, L. C., Anthony-Samuel, L., McNamara, J. O., & Williams, S. M. (2003). *Neurosciences, 2nd edition*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=neurosci&part=A832>
- Qin, L., Wu, X., Block, M. L., Liu, Y., Breese, G. R., Hong, J.-S., ... Crews, F. T. (2007). Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia*, *55*(5), 453–462. <https://doi.org/10.1002/glia.20467>
- Ransohoff, R. M., & Brown, M. A. (2012, April 2). Innate immunity in the central nervous system. *Journal of Clinical Investigation*, Vol. 122, pp. 1164–1171. <https://doi.org/10.1172/JCI58644>
- Rao, J. S., Kellom, M., Kim, H. W., Rapoport, S. I., & Reese, E. A. (2012, May). Neuroinflammation and synaptic loss. *Neurochemical Research*, Vol. 37, pp. 903–910.

<https://doi.org/10.1007/s11064-012-0708-2>

- Riazi, K., Galic, M. A., Kentner, A. C., Reid, A. Y., Sharkey, K. A., & Pittman, Q. J. (2015). Microglia-dependent alteration of glutamatergic synaptic transmission and plasticity in the hippocampus during peripheral inflammation. *Journal of Neuroscience*, *35*(12), 4942–4952. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4485-14.2015>
- Rotaru, D. C., Lewis, D. A., & Gonzalez-Burgos, G. (2007). Dopamine D1 receptor activation regulates sodium channel-dependent EPSP amplification in rat prefrontal cortex pyramidal neurons. *Journal of Physiology*, *581*(3), 981–1000. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.130864>
- Samios, V. N., & Inoue, T. (2014). Interleukin-1 $\beta$  and interleukin-6 affect electrophysiological properties of thalamic relay cells. *Neuroscience Research*, *87*, 16–25. <https://doi.org/10.1016/J.NEURES.2014.06.011>
- Sampath, V. P. (2018, April 1). Bacterial endotoxin-lipopolysaccharide; structure, function and its role in immunity in vertebrates and invertebrates. *Agriculture and Natural Resources*, Vol. 52, pp. 115–120. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.08.002>
- Santana, N., & Artigas, F. (2017, September 28). Laminar and cellular distribution of monoamine receptors in rat medial prefrontal cortex. *Frontiers in Neuroanatomy*, Vol. 11. <https://doi.org/10.3389/fnana.2017.00087>
- Schain, M., & Kreisl, W. C. (2017, March 1). Neuroinflammation in Neurodegenerative Disorders—a Review. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, Vol. 17. <https://doi.org/10.1007/s11910-017-0733-2>
- Schulz, D. J. (2006, December). Plasticity and stability in neuronal output via changes in intrinsic excitability: It's what's inside that counts. *Journal of Experimental Biology*, Vol. 209, pp. 4821–4827. <https://doi.org/10.1242/jeb.02567>
- Scott, R. S., Henneberger, C., Padmashri, R., Anders, S., Jensen, T. P., & Rusakov, D. A. (2014). Neuronal adaptation involves rapid expansion of the action potential initiation site. *Nature Communications*, *5*(May).

<https://doi.org/10.1038/ncomms4817>

- Sestito, S. E., Facchini, F. A., Morbioli, I., Billod, J. M., Martin-Santamaria, S., Casnati, A., ... Peri, F. (2017). Amphiphilic Guanidinocalixarenes Inhibit Lipopolysaccharide (LPS)-and Lectin-Stimulated Toll-like Receptor 4 (TLR4) Signaling. *Journal of Medicinal Chemistry*, *60*(12), 4882–4892. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00095>
- Shabab, T., Khanabdali, R., Moghadamtousi, S. Z., Kadir, A., Mohan, G., Shabab, T., ... Abdul, H. (2017). *Neuroinflammation pathways : a general review*. *Neuroinflammation pathways : a general review*. 7454. <https://doi.org/10.1080/00207454.2016.1212854>
- Shah, M. M., Miscony, Z., Javadzadeh-Tabatabaie, M., Ganellin, C. R., & Haylett, D. G. (2001). Clotrimazole analogues: Effective blockers of the slow afterhyperpolarization in cultured rat hippocampal pyramidal neurones. *British Journal of Pharmacology*, *132*(4), 889–898. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703895>
- Shao, L. R., Halvorsrud, R., Borg-Graham, L., & Storm, J. F. (1999). The role of BK-type Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> channels in spike broadening during repetitive firing in rat hippocampal pyramidal cells. *Journal of Physiology*, *521*(1), 135–146. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.00135.x>
- Sheppard, O., Coleman, M. P., & Durrant, C. S. (2019). Lipopolysaccharide-induced neuroinflammation induces presynaptic disruption through a direct action on brain tissue involving microglia-derived interleukin 1 beta. *Journal of Neuroinflammation*, *16*(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1490-8>
- Shruti, S., Clem, R., & Barth, A. (2008). A seizure-induced gain-of-function in BK channels is associated with elevated firing activity in neocortical pyramidal neurons. *Neurobiology of Disease*, *30*(3), 323–330. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- Skelly, D. T., Griffin, É. W., Murray, C. L., Harney, S., O'Boyle, C., Hennessy, E., ... Cunningham, C. (2019). Acute transient cognitive dysfunction and acute brain injury induced by systemic inflammation occur by dissociable IL-1-dependent mechanisms. *Molecular Psychiatry*, *24*(10), 1533–1548. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0075->

- Skelly, D. T., Hennessy, E., Dansereau, M.-A., & Cunningham, C. (2013). A Systematic Analysis of the Peripheral and CNS Effects of Systemic LPS, IL-1B, TNF- $\alpha$  and IL-6 Challenges in C57BL/6 Mice. *PLoS ONE*, *8*(7), e69123.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069123>
- Sofroniew, M. V. (2015). Astrogliosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *7*(2).  
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020420>
- Song, Y., Zhu, J. S., Hua, R., Du, L., Huang, S. T., Stackman, R. W., ... Zhang, Y. M. (2018). Small-conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channel 2 in the dorsal horn of spinal cord participates in visceral hypersensitivity in rats. *Frontiers in Pharmacology*, *9*(AUG), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00840>
- Spulber, S., Edoff, K., Hong, L., Morisawa, S., Shirahata, S., & Ceccatelli, S. (2012). Molecular hydrogen reduces lps-induced neuroinflammation and promotes recovery from sickness behaviour in mice. *PLoS ONE*, *7*(7).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042078>
- Steinlein, O. K. (2014). Mechanisms underlying epilepsies associated with sodium channel mutations. In *Progress in Brain Research* (1st ed., Vol. 213).  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63326-2.00005-3>
- Stortz, J. A., Raymond, S. L., Mira, J. C., Moldawer, L. L., Mohr, A. M., & Efron, P. A. (2017). Murine Models of Sepsis and Trauma: Can We Bridge the Gap? *ILAR Journal*, *58*(1), 90. <https://doi.org/10.1093/ILAR/ILX007>
- Stuart, G., Spruston, N., Sakmann, B., & Häusser, M. (1997). Action potential initiation and backpropagation in neurons of the mammalian CNS. *Trends in Neurosciences*, *20*(3), 125–131. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(96\)10075-8](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(96)10075-8)
- Tang, Y., & Le, W. (2016). Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Molecular Neurobiology*, *53*(2), 1181–1194.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-014-9070-5>

- Thomas, R. C., Bath, M. F., Stover, C. M., Lambert, D. G., & Thompson, J. P. (2014). Exploring LPS-induced sepsis in rats and mice as a model to study potential protective effects of the nociceptin/orphanin FQ system. *Peptides*, *61*, 56–60. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.08.009>
- Trombin, F., Gnatkovsky, V., & de Curtis, M. (2011). Changes in action potential features during focal seizure discharges in the entorhinal cortex of the in vitro isolated guinea pig brain. *Journal of Neurophysiology*, *106*(3), 1411–1423. <https://doi.org/10.1152/jn.00207.2011>
- Tsantoulas, C., & McMahon, S. B. (2014). Opening paths to novel analgesics: The role of potassium channels in chronic pain. *Trends in Neurosciences*, *37*(3), 146–158. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.12.002>
- Turzo, M., Vaith, J., Lasitschka, F., Weigand, M. A., & Busch, C. J. (2018). Role of ATP-sensitive potassium channels on hypoxic pulmonary vasoconstriction in endotoxemia. *Respiratory Research*, *19*(1), 4–13. <https://doi.org/10.1186/s12931-018-0735-x>
- Tyagi, E., Agrawal, R., Nath, C., & Shukla, R. (2007). Effect of anti-dementia drugs on LPS induced neuroinflammation in mice. *Life Sciences*, *80*(21), 1977–1983. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.02.039>
- Tzour, A., Leibovich, H., Barkai, O., Biala, Y., Lev, S., Yaari, Y., & Binshtok, A. M. (2017). KV7/M channels as targets for lipopolysaccharide-induced inflammatory neuronal hyperexcitability. *Journal of Physiology*, *595*(3), 713–738. <https://doi.org/10.1113/JP272547>
- Uylings, H. B. M., Groenewegen, H. J., & Kolb, B. (2003). Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural Brain Research*, *146*(1–2), 3–17. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.028>
- van Aerde, K. I., & Feldmeyer, D. (2015). Morphological and Physiological Characterization of Pyramidal Neuron Subtypes in Rat Medial Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex*, *25*(3), 788–805. <https://doi.org/10.1093/cercor/bht278>



- Varki, Ajit; Cummings, R; Esko, E; Freeze, H. Stanley, P Bertozzi, C Hart, G Etzler, M. (2015). Essentials of Glycobiology, 3rd edition. In *Cold Spring Harbor (NY)*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27010055><https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK310274/>
- Verkhatsky, A., & Nedergaard, M. (2018). Physiology of astroglia. *Physiological Reviews*, 98(1), 239–389. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2016>
- Waisman, A., Liblau, R. S., & Becher, B. (2015, September 1). Innate and adaptive immune responses in the CNS. *The Lancet Neurology*, Vol. 14, pp. 945–955. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00141-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00141-6)
- Walker, K. A., Ficek, B. N., & Westbrook, R. (2019). Understanding the Role of Systemic Inflammation in Alzheimer’s Disease. *ACS Chemical Neuroscience*, 10(8), 3340–3342. <https://doi.org/10.1021/acscemneuro.9b00333>
- Wang, B., Bugay, V., Ling, L., Chuang, H. H., Jaffe, D. B., & Brenner, R. (2016). Knockout of the BK  $\beta$ 4-subunit promotes a functional coupling of BK channels and ryanodine receptors that mediate a fAHP-induced increase in excitability. *Journal of Neurophysiology*, 116(2), 456–465. <https://doi.org/10.1152/jn.00857.2015>
- Wang, H. D., Lu, D. X., & Qi, R. Bin. (2009, October 1). Therapeutic strategies targeting the LPS signaling and cytokines. *Pathophysiology*, Vol. 16, pp. 291–296. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2009.02.006>
- Wolf, S. A., Boddeke, H. W. G. M., & Kettenmann, H. (2017). Microglia in Physiology and Disease. *Annual Review of Physiology*, 79(1), 619–643. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034406>
- Wu, Y., Fu, Y., Rao, C., Li, W., Liang, Z., Zhou, C., ... Xie, P. (2016). Metabolomic analysis reveals metabolic disturbances in the prefrontal cortex of the lipopolysaccharide-induced mouse model of depression. *Behavioural Brain Research*, 308, 115–127. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2016.04.032>
- Xu, P., Chen, A., Li, Y., Xing, X., & Lu, H. (2019). Medial prefrontal cortex in neurological

- diseases. *Physiological Genomics*, 51(9), 432–442.  
<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00006.2019>
- Yamamoto, M., Kim, M., Imai, H., Itakura, Y., & Ohtsuki, G. (2019). Microglia-Triggered Plasticity of Intrinsic Excitability Modulates Psychomotor Behaviors in Acute Cerebellar Inflammation. *Cell Reports*, 28(11), 2923–2938.e8.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.07.078>
- Yang, X., Wang, G., Cao, T., Zhang, L., Ma, Y., Jiang, S., ... Sun, X. (2019). Large-conductance calcium-activated potassium channels mediate lipopolysaccharide-induced activation of murine microglia. *Journal of Biological Chemistry*, 294(35), 12921–12932.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.006425>
- Yeh, J., Lu, M., Alvarez-Lugo, L., & Chai, T. C. (2019). Bladder urothelial BK channel activity is a critical mediator for innate immune response in urinary tract infection pathogenesis. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 316(4), F617–F623.  
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00554.2018>
- Yin, J., Valin, K. L., Dixon, M. L., & Leavenworth, J. W. (2017). The Role of Microglia and Macrophages in CNS Homeostasis, Autoimmunity, and Cancer. *Journal of Immunology Research*, Vol. 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5150678>
- Yu, M., Liu, S. L., Sun, P. B., Pan, H., Tian, C. L., & Zhang, L. H. (2016). Peptide toxins and small-molecule blockers of BK channels. *Acta Pharmacologica Sinica*, 37(1), 56–66.  
<https://doi.org/10.1038/aps.2015.139>
- Zhang, F.-X., & Xu, R.-S. (2018). Juglanin ameliorates LPS-induced neuroinflammation in animal models of Parkinson's disease and cell culture via inactivating TLR4/NF- $\kappa$ B pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 1011–1019.  
<https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2017.08.132>
- Zhang, Ji-chun, Yao, W., & Hashimoto, K. (2016). Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF)-TrkB Signaling in Inflammation-related Depression and Potential Therapeutic Targets. *Current Neuropharmacology*, 14(7), 721–731.  
<https://doi.org/10.2174/1570159x14666160119094646>

- Zhang, Jingfei, Malik, A., Choi, H. B., Ko, R. W. Y., Dissing-Olesen, L., & MacVicar, B. A. (2014). Microglial CR3 activation triggers long-term synaptic depression in the hippocampus via NADPH oxidase. *Neuron*, *82*(1), 195–207. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.01.043>
- Zhao, X., Cao, F., Liu, Q., Li, X., Xu, G., Liu, G., ... Ma, J. (2019). Behavioral, inflammatory and neurochemical disturbances in LPS and UCMS-induced mouse models of depression. *Behavioural Brain Research*, *364*, 494–502. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.05.064>
- Zou, Z., Lu, Y., Zha, Y., & Yang, H. (2016). Endocannabinoid 2-Arachidonoylglycerol Suppresses LPS-Induced Inhibition of A-Type Potassium Channel Currents in Caudate Nucleus Neurons Through CB1 Receptor. *Journal of Molecular Neuroscience*, *59*(4), 493–503. <https://doi.org/10.1007/s12031-016-0761-4>