



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Análisis de redes complejas en V1 durante una tarea de  
discriminación visual en un modelo genético de autismo  
(ratones *Shank3<sup>+/-</sup>*)**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**LICENCIADO EN NEUROCIENCIAS**

**P R E S E N T A:**

**KARLA PATRICIA CASAS ROSAS**

**Facultad de Medicina**



**DIRECTORA DE TESIS:**

**DOCTORA YAZMÍN RAMIRO CORTÉS**

**Cd. Mx., 2023**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## Agradecimientos institucionales

Este trabajo se desarrolló en el laboratorio de Plasticidad Sináptica y Estructural, a cargo de la Dra. Yazmín Ramiro Cortés, parte del departamento de Neurodesarrollo y Fisiología de la División de Neurociencias del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM. El presente fue desarrollado a partir de datos producto del proyecto de Ciencia Básica 254878 del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) y con financiamiento por parte del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT-UNAM-IN207420 y PAPIIT-UNAM-IN2099223).

También agradecemos al Dr. Miguel Serrano Reyes por el apoyo y orientación brindados, sin su participación no habría sido posible el desarrollo de este proyecto.

## Agradecimientos

Antes que nada, debo reconocer la labor de mis padres, pues sin su esfuerzo jamás podría haber llegado hasta aquí.

A mis hermanos, por decir y hacer lo que yo nunca pude. Son mi orgullo y mi ejemplo a seguir.

A mi abuela, tíos, tías, primas y primos que siempre han estado atentos a mis necesidades y me han brindado todo tipo de apoyo: un vestido, una licuadora, pasar por mí a la terminal, libros, pláticas amenas en el café, una olla, un microondas, reparar mi computadora, una sombrilla, un dinerito para los tacos o el camión, tantísima comida deliciosa, por las puertas siempre abiertas a recibirme y mil ejemplos más.

A mis compañeros de laboratorio, Gerry, Isaac, Carmen y Elliot, que escuchan mis dramas hasta el cansancio y aun así me toleran, ah claro, y porque sin su disposición a trabajar en equipo nada funcionaría en el laboratorio. También a los integrantes del BL-202 por su disposición a compartir, enseñar, discutir y colaborar en lo que se necesite. A Milo le agradezco no sólo por los datos, sino por su excelente mentoría, todo lo que sé hacer en el laboratorio se construyó sobre la base de lo que me enseñó y sigue enseñando. A Carlitos le agradezco por la bonita amistad que hemos formado y el espacio seguro que surgió dentro de esta. No me puede faltar la doctora, por su paciencia infinita y que con sus actos diarios me ha demostrado que entiende que somos humanos antes que científicos.

A mis compañeros de generación, que con todos viví por lo menos un momento grato.

A Carlos Zavaleta le agradezco por todo lo que crecimos juntos, por tantos años de haberme cuidado y sido mi hogar. A Magda, por prestarme un cerebro funcional cuando ya no daba una y por acompañarme incondicionalmente en esta aventura caótica. A Fernando Real por siempre levantarme cuando lo necesito y hacer todo lo que esté en su poder para ayudarme a alcanzar mis objetivos (guiño, guiño). A Nuri, Emilio, Mich, Fani y Ángela por todas las memorias cotarras y bonitas. A Xare por haberme recibido cuando no tenía a donde ir. A Alex por ofrecerme un oído amable y atento que siempre me hizo sentir comprendida. A Oli, Apo, Ale, Habs, Allan, Andie, Regina y Gaby por tantas reuniones, salidas, comidas y risas que mantuvieron viva mi vida social. Nunca podría borrar todas las tareas, trabajos y proyectos que hice con Luz, las comidas compartidas, las penas aligeradas, mis travesuras recibidas con risas, ni el cafecito que me llevó cuando me desvelaba; y por todo eso siempre le estaré agradecida.

A mis amistades que tuve que dejar al salir de Morelia, porque, aunque nuestros reencuentros sean esporádicos y breves, nunca he dejado de sentir el mismo cariño presente desde el día que partimos caminos. Gracias, porque no importa dónde estemos, ni los kilómetros o diferencia horaria de por medio, sé que si los necesito sólo están a un mensaje de distancia.

A Arturo, a quien por casualidades del destino siempre le toca aventarse mis crisis existenciales más densas. A Víctor, por ser mi fan no. 1, por animarme a atreverme a todo y sus múltiples consejos para sobrevivir a la vida académica.

Por último, también necesito agradecerle al patinaje, y sobre todo a mi comunidad *roller*, sin este espacio de gozo y euforia infalible ya me habría rendido con la vida académica hace tiempo.

Si esta sección parece una lista sin final es porque lo es, soy verdaderamente afortunada de haber perdido la cuenta de las veces que me han extendido la mano y de tener la certeza de que siempre, absolutamente siempre, habrá alguien para mí. Quizá no los recuerde todos, pero llevo conmigo todos esos pequeños y grandes gestos que me han brindado alegría y alivio a lo largo del camino y que siempre formarán parte de mi historia.

Me han dado tanto que espero no les quede duda de que yo siempre estaré ahí cuando lo necesiten.

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

*-Santiago Ramón y Cajal*

## Tabla de Contenido

### Resumen

### Glosario

<b>1. Introducción</b> .....	1
1.1 Trastorno del espectro autista .....	2
1.2 Síndrome Phelan-McDermid (PMD) .....	3
1.3 SHANK3 .....	4
1.3.2 Modelo murino de Shank3 .....	5
1.4 Alteraciones sensoriales .....	6
1.4.2 Alteraciones en el procesamiento visual en el TEA .....	7
1.5 Procesamiento información visual en roedores .....	8
1.6 Aprendizaje en cortezas sensoriales .....	11
1.7 Sobre-especificidad en el aprendizaje. ....	12
1.8 Teoría de grafos y análisis de redes complejas. ....	15
<b>2. Planteamiento del problema</b> .....	18
<b>3. Hipótesis</b> .....	19
<b>4. Objetivo general</b> .....	19
4.1 Objetivos específicos .....	19
<b>5. Metodología</b> .....	19
5.1 Tarea conductual .....	19

5.2 Base de datos .....	21
5.3 Matrices de adyacencia .....	22
5.4 Caracterización de la red. ....	22
5.5 Estadística .....	23
<b>6. Resultados</b> .....	24
6.1 Representación en redes a partir de la actividad neuronal .....	24
6.2 Tamaño de la red: componente gigante .....	26
6.3 Conectividad global: densidad de la red .....	28
6.4 Grado. ....	30
6.5 Integración de la red: Longitud Característica .....	32
6.6 Segregación de la red: Coeficiente de agrupamiento .....	34
6.7 Mundo pequeño .....	36
<b>7. Discusión</b> .....	37
<b>8. Perspectivas</b> .....	44
<b>9. Conclusiones</b> .....	46
<b>10. Referencias</b> .....	47

## Resumen

Actualmente el trastorno del espectro autista (TEA) ha sido descrito como un trastorno general del procesamiento neuronal. Sabemos que en el modelo murino de autismo *Shank3*<sup>+/-</sup> el procesamiento de las neuronas de la corteza visual primaria (V1) está alterado, pues presentan una mayor selectividad a la orientación. También sabemos que el desempeño en tareas de discriminación visual es mejor en los ratones heterocigotos, ya que aprenden más rápido que sus pares silvestres. Sin embargo, a pesar de que estos ratones presentan una capacidad de aprendizaje sobresaliente, son incapaces de ajustarse a cambios de paradigma, es decir presentan una sobre-especificidad del aprendizaje.

Las redes complejas estudian las interacciones entre los elementos de un sistema y son resultado de procesos dinámicos, como la remodelación de sinapsis en los circuitos neuronales durante el aprendizaje. Al modelar la actividad neuronal de la corteza visual en forma de redes complejas podemos analizar la relación entre la función y la estructura de los circuitos corticales. Hipotetizamos que la haploinsuficiencia de *Shank3* alterará la forma en que se estructuran las redes neuronales de V1 durante el aprendizaje de una tarea de discriminación visual con inversión de contingencias.

A partir del análisis de la conectividad funcional de registros de calcio en V1 en una tarea de discriminación visual con inversión de contingencias encontramos que las redes intracorticales de la corteza visual primaria son altamente dinámicas, tanto para animales silvestres como para heterocigotos *Shank3*<sup>+/-</sup>. Sin embargo, los patrones de evolución de las redes difieren entre genotipos, pues observamos que los cambios en la estructura de las redes son dependientes de la etapa de aprendizaje en temporalidades diferentes para cada genotipo. Finalmente, la inversión de contingencias altera las redes basales de V1 de los ratones *Shank3*<sup>+/-</sup>, de forma que pareciera que se entorpece la integración de las entradas sensoriales contradictorias al modelo interno generado durante la primera contingencia del aprendizaje.



## Glosario

**Red (grafo):** Representación matemática de un sistema complejo real definido por un conjunto de nodos y enlaces entre pares de nodos (Rubinov y Sporns, 2010).

**Nodo:** Unidad fundamental de una red (Newman, 2003), representa los elementos o agentes del sistema (Bullmore & Sporns, 2012).

**Enlace:** Representa la relación entre dos nodos. En redes cerebrales indica que los nodos están conectados anatómicamente o funcionalmente (Bullmore & Sporns, 2012).

**Matriz de adyacencia:** Matriz cuadrada que representa las conexiones entre pares de nodos en un grafo finito (Fornito et al., 2016).

**Grado (k):** Número total de enlaces en los que participa cada nodo (Newman, 2003).

**Conectividad funcional:** Asociación estadística entre medidas neurofisiológicas registradas de neuronas o regiones anatómicas distintas a través del tiempo (Bullmore & Sporns, 2012). Indica una dependencia estadística entre la actividad de dos nodos sin asumir los mecanismos por los que están mediadas estas relaciones (Feldt et al., 2011).

**Componente:** Conjunto de nodos que pueden ser alcanzados por al menos una secuencia de enlaces dentro de la red (Newman, 2003).

**Densidad de conexiones:** Medida topológica que describe el número de enlaces en una red como proporción del número total de enlaces posibles (Bullmore & Sporns, 2012).

**Longitud característica (L):** Medida de la topología de la red. En un grafo binario, la longitud entre dos nodos es el número mínimo de enlaces que deben atravesarse para ir de un nodo a otro (Bullmore & Sporns, 2012). Mínimo número de enlaces que conectan un par de nodos (Feldt et al., 2011).

**Eficiencia:** Medida topológica, inverso de la longitud característica, que representa la capacidad general del sistema para la transferencia paralela de información, así como el procesamiento integrado (Bullmore & Sporns, 2012).

**Agrupamiento (C):** Medida que captura el exclusivismo de un vecindario local basado en el número de conexiones triangulares entre tríadas de neuronas (Bullmore & Sporns, 2012).

Número de triángulos alrededor de un nodo, es equivalente a la fracción de los vecinos de un nodo que también son vecinos (Rubinov & Sporns, 2010). Fracción de conexiones entre los nodos vecinos de un nodo dado. Se usa para estimar la densidad local de las conexiones entre grupos de neuronas (Feldt et al., 2011).

**Red aleatoria:** Aquella en la cual la probabilidad de conexión es igual para cualquier par de nodos. La distribución del grado está descrita por una distribución binomial o se puede aproximar usando una distribución de Poisson. Se caracterizan por una longitud característica corta (Feldt et al., 2011).

**Red regular:** Todos los nodos tienen el mismo número de vecinos (grado) y la red tiene un arreglo ordenado. Se caracterizan por un coeficiente de agrupamiento elevado (Feldt et al., 2011).

**Red compleja:** Redes cuya estructura es irregular sin ser completamente aleatoria y que evoluciona dinámicamente en el tiempo, su estudio se concentra en propiedades estadísticas de la red en lugar del análisis individual de nodos (Boccaletti et al., 2006).

**Mundo pequeño:** Término usado para describir a las redes complejas que comparten características topológicas tanto de redes aleatorias como regulares: alta eficiencia y alto agrupamiento (Bullmore & Sporns, 2012, Feldt et al., 2011).

**Red de hipótesis nula:** Red simulada usando un modelo generativo definido que puede ser aleatoria o regular. Esta red conserva los mismos parámetros ( $N$ ,  $k$ , etc.) que la red real a evaluar (Rubinov y Sporns, 2010)

**Componente:** Conjunto de nodos para los que existe al menos un camino entre cada par.

**Topología:** El patrón de la disposición de las conexiones de una red (Bullmore & Sporns, 2012)

**Hub:** Un nodo topológicamente importante o central (Bullmore & Sporns, 2012).

**Trastorno del espectro autista (TEA):** Desorden del neurodesarrollo caracterizado por las alteraciones en la comunicación e interacción social, los comportamientos repetitivos e intereses restringidos, deficiencias en el lenguaje verbal y no verbal, así como anomalías sensoriales y diferentes grados de discapacidad intelectual (Association, 2013).

**SHANK3** (del inglés *SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein*): Proteína de andamiaje de la densidad postsináptica de las sinapsis glutamatérgicas (Bozdagi et al., 2013).

**Haploinsuficiencia:** Pérdida de una copia funcional de un gen.

**Síndrome Phelan-McDermid (PMD):** Síndrome de delección 22q13.3, se considera una forma monogénica de TEA.

**Flexibilidad cognitiva:** Habilidad para modificar el comportamiento al enfrentarse a un cambio en las circunstancias (Izquierdo et al., 2017).

**Sobre-especificidad:** Dificultad al momento de generalizar y transferir el aprendizaje a nuevos contextos (Church et al., 2015)

## 1. Introducción

### 1.1. Trastorno del espectro autista

El trastorno del espectro autista (TEA) es un desorden del neurodesarrollo caracterizado por un fenotipo conductual heterogéneo (Lord et al., 2020). En la última versión del Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-5, por sus siglas en inglés), dentro del diagnóstico de TEA se engloban trastornos anteriormente identificados como el síndrome de Asperger, el trastorno generalizado del desarrollo y el trastorno generalizado del desarrollo no especificado (Association, 2013). Entre los síntomas principales del TEA se encuentran las alteraciones en la comunicación e interacción social, los comportamientos repetitivos e intereses restringidos, deficiencias en el lenguaje verbal y no verbal, así como anomalías sensoriales y diferentes grados de discapacidad intelectual (Association, 2013; Sharma et al., 2018; Lord et al., 2020). Algunas de las comorbilidades más comunes incluyen epilepsia, ansiedad, depresión, perturbaciones del sueño, trastorno por déficit de atención e hiperactividad, problemas de coordinación motora, entre otros (Reim and Schmeisser, 2017; Schroeder et al., 2017; Lord et al., 2020).

Estudios con gemelos idénticos muestran que el autismo tiene un importante componente genético, ya que la probabilidad de que un gemelo presente TEA cuando el otro ha sido diagnosticado es del 36-95% (Sharma et al., 2018). Además, la heredabilidad de este trastorno oscila entre 40-90% (Lord et al., 2020). Más de 100 genes y regiones génicas han sido asociados al TEA, siendo las mutaciones que afectan a regiones que codifican para proteínas las que representan un mayor factor de riesgo (Lord et al., 2020).

Se ha propuesto que el TEA se relaciona con un desarrollo cerebral alterado y una reorganización neuronal (Lord et al., 2018). Así mismo, la mayoría de los genes relacionados cumplen con múltiples funciones en diversas regiones cerebrales a lo largo del desarrollo. Muchos de los productos de estos genes están involucrados en la función y estructura sináptica, o en la modificación de la cromatina, y por lo tanto, en la regulación de la expresión de genes (Schroeder et al., 2017; Lord et al., 2020). Dado que no se ha llegado a un consenso sobre anomalías anatómicas o funcionales dentro de este trastorno, se ha señalado a la conectividad cerebral

como un eje central en la patofisiología del TEA (Kana et al., 2011; Sharma et al., 2018). En comparación con individuos con desarrollo típico, las personas con TEA tienen un desarrollo cerebral acelerado en etapas tempranas que conlleva alteraciones en la conectividad (Lord et al., 2018). Aunado a esto, se ha sugerido un patrón de subconectividad de larga distancia con una mayor conectividad local de forma compensatoria (Rane et al., 2015; O'Reilly et al., 2017; Sharma et al., 2018).

## 1.2 Síndrome Phelan-McDermid (PMD)

En la mayoría de los casos de TEA no se reconoce un origen bien definido, a estos se les refiere como autismo idiopático. Sin embargo, existe un porcentaje de los casos que además de presentar las características conductuales típicas del TEA también presentan otros fenotipos o características dismórficas. A estos casos se les clasifica como TEA sindrómico, asociados a alteraciones genómicas identificadas como mutaciones en un solo gen (Sztainberg and Zoghbi, 2016). Algunos de estos síndromes incluyen el síndrome del X frágil, el de Rett, de duplicación de MECP2, el complejo de esclerosis tuberosa, entre otros (Schroeder et al., 2017). Estos síndromes dieron paso a los primeros intentos por diseccionar los mecanismos moleculares que podrían estar detrás de la etiología del TEA (Lord et al., 2018). A partir del estudio de múltiples modelos animales de estos síndromes se ha delineado que diversas alteraciones en vías de señalización que inciden en la remodelación de la cromatina y regulación de la transcripción afectan la homeostasis neuronal, así como el establecimiento de sinapsis; lo cual repercute en la conectividad de los circuitos cerebrales, ofreciendo un posible mecanismo que explique los comportamientos observados en el TEA (Sztainberg and Zoghbi, 2016; Schroeder et al., 2017; Lord et al., 2018; Sharma et al., 2018).

Se estima que las formas monogénicas del TEA comprenden entre el 10% y 15% de la población (Schroeder et al., 2017; Lord et al., 2018). El Síndrome de delección 22q13.3 o Síndrome Phelan-McDermid (PMD) se ha catalogado como una forma monogénica de TEA. Este síndrome es ocasionado por la pérdida de una copia funcional del gen *Shank3* (Kolevzon et al., 2014; Costales and Kolevzon, 2015). La sintomatología de este síndrome es variada, entre las características clínicas más comunes se encuentran hipotonía neonatal, retraso global del desarrollo y/o discapacidad intelectual, retraso o ausencia del habla, así como facciones faciales dismórficas menores (Phelan and McDermid, 2012; Kolevzon et al., 2014; Vitrac et al., 2023). Los

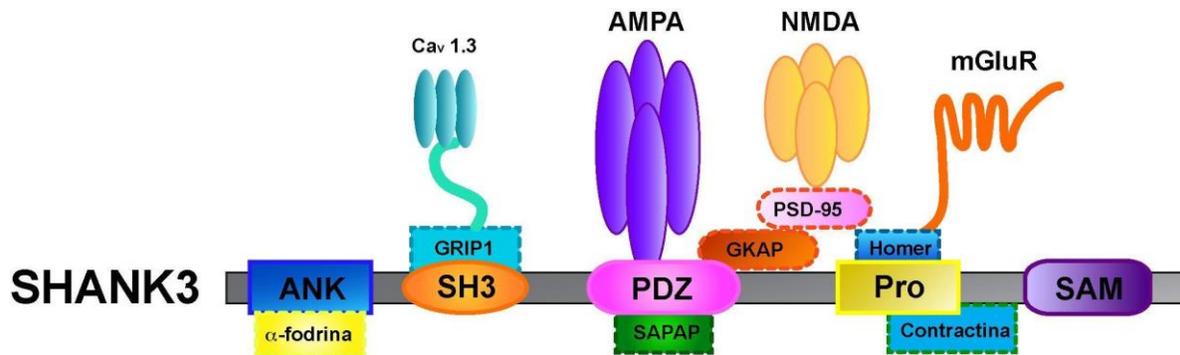
pacientes con PMD suelen presentar un comportamiento tipo autista que incluye contacto visual escaso, movimientos estereotipados, autoestimulación, etc. A pesar de que existen casos de PMD que no obtienen el diagnóstico clínico de TEA, tiene una alta prevalencia en esta población (Kolevzon et al., 2014). Así mismo, la mayoría de los individuos con variantes intragénicas de *Shank3* se han descrito como autistas o con discapacidad intelectual (Phelan and McDermid, 2012). El PMD representa el 0.5-2% de los casos de TEA (Kolevzon et al., 2014).

### 1.3 SHANK3

La proteína SHANK3 es codificada por el gen *Shank3*, este se encuentra en el cromosoma 22, en la región q13.3 en humanos, abarca cerca de 60 kb de ADN, y contiene 22 exones. Por *splicing* alternativo *Shank3* puede traducirse en seis isoformas (SHANK3a, SHANK3b, SHANK3c, SHANK3d, SHANK3e y SHANK3f). Esta proteína es miembro de la familia SHANK, la cual comprende a las proteínas SHANK1, SHANK2 y SHANK3 que son codificadas por los genes *Shank1*, *Shank2* y *Shank3* respectivamente (Monteiro and Feng, 2017; Kursula, 2019).

SHANK3 es una proteína de anclaje de la densidad postsináptica de neuronas glutamatérgicas. Estructuralmente cuenta con cinco dominios de interacción a proteínas, el primer dominio es una región de seis repeticiones de anquirina, el cual interactúa con la proteína de la densidad postsináptica SHARPIN y con el citoesqueleto a través de la proteína  $\alpha$ -fodrina. El segundo dominio es la región SH3 (por sus siglas en inglés: Src homology 3) que interactúa con la proteína GRIP y con canales de calcio dependientes de voltaje. El dominio PDZ, interactúa de manera directa con los receptores AMPA y con las proteínas SAPAP1 (por sus siglas en inglés: SAP90/PSD95-associated protein 1), que a su vez interactúan con los receptores NMDA. El cuarto dominio es una región rica en prolina, donde se une a la contractina y a la proteína Homer, la cual interactúa con los receptores metabotrópicos de glutamato. Finalmente se encuentra el dominio SAM, el cual es requerido para la localización de SHANK3 a la densidad postsináptica (

**Figura 1)** (Tu et al., 1999; Jiang and Ehlers, 2013; Monteiro and Feng, 2017).



**Figura 1 Esquema de la proteína SHANK3.** El esquema ilustra los dominios de unión a proteínas de SHANK3, repeticiones de anquirina (ANK), SH3, PDZ, región rica en Prolina (Pro) y SAM. Modificado de Jiang & Ehlers, 2013.

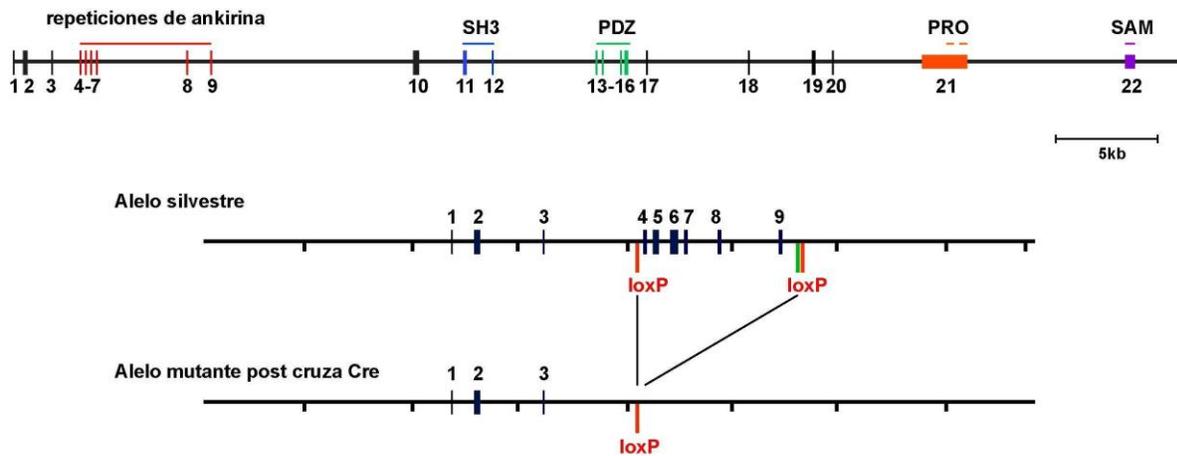
La familia de proteínas SHANK (*SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein*) se ha relacionado con trastornos del espectro autista, tanto sindrómicos como idiopáticos, así como con esquizofrenia, discapacidad intelectual, trastorno bipolar y enfermedad de Alzheimer esporádica (Alexandrov et al., 2017). Además de la evidente relevancia de SHANK3 para PMD, diversas mutaciones de *Shank3* se han reportado en otros pacientes con TEA, así como mutaciones de *Shank2* y *Shank1* (Schroeder et al., 2017). Se estima que en el 1% de los casos de TEA se presentan mutaciones en esta familia de genes (Monteiro and Feng, 2017).

Se han desarrollado trece diferentes líneas de ratones con mutaciones en *Shank3*, consideradas modelos para el estudio del TEA. También existe un modelo de *Shank3* en macaco con transmisión por línea germinal que presenta un aumento de comportamientos repetitivos y sociabilidad deteriorada (Zhou et al., 2016). En general, las mutaciones en genes de la familia *Shank* producen alteraciones en el comportamiento social, el auto acicalamiento, la plasticidad sináptica, el número y tamaño de las espinas dendríticas, el balance excitación/inhibición, así como la transmisión de AMPA (Bozdagi et al., 2010; Peça et al., 2011; Shcheglovitov et al., 2013; Monteiro and Feng, 2017).

### 1.3.2 Modelo murino de *Shank3*

La generación de modelos animales válidos es fundamental para la identificación de los mecanismos biológicos de los trastornos ocasionados por causas genéticas (Schroeder et al., 2017). En humanos, *Shank3* es uno de los genes mejor caracterizados implicados en el TEA. Sin embargo, existe poca información de las consecuencias de la haploinsuficiencia de *Shank3* en el sistema nervioso, y cómo altera la función sináptica y consecuentemente la actividad neuronal que pudiera estar provocando la condición neurológica del TEA. Como se mencionó anteriormente, se han creado ratones con diversas mutaciones en el gen *Shank3* localizado en el cromosoma 15E3 del ratón (Monteiro and Feng, 2017). Estas mutaciones incluyen deleciones en el dominio ANK, PDZ o SH3. Se considera que estos modelos presentan un fenotipo conductual del tipo autista, con deficiencias en la interacción social, comportamientos repetitivos, así como algunas vocalizaciones anormales (Peça et al., 2011; Jiang and Ehlers, 2013). Cada uno presenta fenotipos específicos o alteraciones celulares particulares, que son válidos para el estudio del TEA, pues en humanos se han reportado gran diversidad de deleciones de *Shank3* que provocan un mosaico de variabilidad de condiciones neurológicas.

Sin embargo, uno de los modelos en el cual la mutación en *Shank3* es más similar a la condición humana es el ratón heterocigoto de *Shank3*. Esta línea de ratones carece del gen *Shank3* en un solo alelo, similar a lo que ocurre en los humanos donde la mutación se presenta en una condición haploide. Esta deleción impide que la expresión de *Shank3* sea completa, pues reduce en un 50% la expresión de mRNA y proteína (Figura 2) (Bozdagi et al., 2010). Los ratones heterocigotos para *Shank3* son un modelo genético de TEA, que se caracterizan por presentar deficiencias en la interacción social, incremento en conductas repetitivas (como el acicalamiento), vocalizaciones ultrasónicas reducidas (Bozdagi et al., 2010; Yang et al., 2012; Jaramillo et al., 2016) así como hiposensibilidad al dolor (Han et al., 2016). Por lo tanto, este modelo de PMD presenta tanto validez de constructo como validez aparente, ya que recapitula el origen biológico del trastorno al mismo tiempo que expresa un fenotipo conductual semejante a la sintomatología del TEA (Amaral, 2011). Por otro lado, probar la validez predictiva presenta un reto, ya que a la fecha no hay tratamientos efectivos para el TEA (Schroeder et al., 2017).



**Figura 2. Modelo genético de TEA con haploinsuficiencia de *Shank3*.** Estructura genómica de *Shank3*, los números representan los exones. En medio: Localización de los sitios loxP flanqueando los exones 4-9 para la delección de dominio de repeticiones de anquirina en un alelo silvestre. Abajo: se muestra el alelo mutado por la acción del sistema Cre recombinasa, que elimina la porción flanqueada por los sitios loxP, produciendo el fenotipo *Shank3*<sup>+/-</sup>. Modificado de Bozdagi, et al., 2010.

### 1.4 Alteraciones sensoriales

Las alteraciones sensoriales se consideran actualmente como uno de los síntomas centrales del TEA, estando presentes en el 87% de los casos (Baum et al., 2015). Ha sido descrito que individuos con TEA responden diferente a experiencias sensoriales en comparación con individuos con desarrollo típico u otros trastornos del neurodesarrollo (Tomchek and Dunn, 2007; Walinga et al., 2023). Los perfiles sensoriales que han sido ampliamente descritos en esta población son la hipersensibilidad e hiposensibilidad (Marco et al., 2011; Baum et al., 2015). A pesar de que las modalidades visual y auditiva son las más estudiadas, no son las únicas modalidades afectadas. Todos los sentidos pueden presentar alteraciones, así como la integración multisensorial. Asimismo, pueden oscilar entre leves a severas, y pueden persistir hasta la adultez (Marco et al., 2011; Baum et al., 2015).

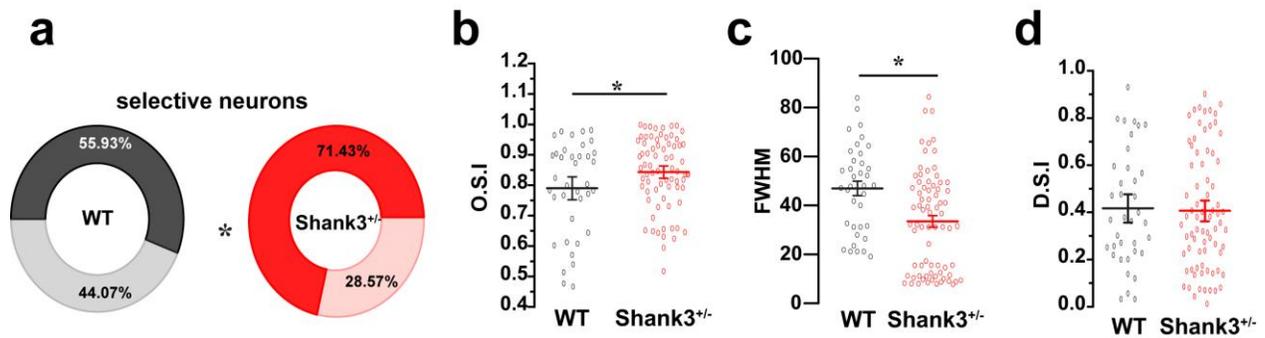
Se ha reportado que personas con TEA poseen una discriminación y atención sobresaliente de estímulos sensoriales simples, sin embargo, presentan dificultades para integrar estos estímulos en representaciones perceptuales complejas (Marco et al., 2011; Baum et al., 2015; Sharma et al., 2018). Por ejemplo, se ha reportado que la habilidad de “oído absoluto” es común en los individuos autistas; mas, al presentarles una melodía que integra diferentes tonos, exhiben una conciencia rítmica deficiente en comparación con neurotípicos (Sharma et al., 2018). De acuerdo con Baum et al., (2015), el procesamiento de la información sensorial subyace a las

funciones cognitivas y sociales de alto orden, por lo tanto, las alteraciones sensoriales del TEA juegan un papel central para entender este trastorno.

#### 1.4.2 Alteraciones en el procesamiento visual en el TEA

Actualmente el TEA ha sido descrito como un trastorno general del procesamiento neuronal (Belmonte et al., 2004). Al respecto, se ha reportado un incremento de la actividad neuronal en regiones cerebrales relacionadas con la integración visual en comparación con individuos no autistas (Lee et al., 2007; Samson et al., 2012; Keehn et al., 2013). Además de presentar atención visual atípica a través de múltiples niveles y categorías de objetos (Wang et al., 2015), se propone que el procesamiento sensorial de “segundo orden” se encuentra afectado en el TEA, pues se ha reportado que los sujetos con TEA son incapaces de discriminar estímulos basados en texturas o movimiento, además de mostrar actividad diferente en las vías visuales ventral y dorsal (Baum et al., 2015; Dumoulin and Knapen, 2018). Por otra parte, se ha reportado que los campos receptivos de V2, V3 y V4 son más extensos en personas con TEA (Schwarzkopf et al., 2014). Estos reportes sugieren que en el TEA existen alteraciones en la percepción visual. Sin embargo, se desconocen las causas que conllevan a estas alteraciones que a su vez influyen en las afecciones neurológicas de las personas con TEA.

Por otra parte, también se han reportado alteraciones en el procesamiento sensorial en modelos animales relacionados al TEA, como el síndrome de duplicación del gen MeCP2. En este modelo murino se observó que las neuronas de corteza visual son más sensibles a estímulos visuales de bajo contraste y alta frecuencia espacial en comparación con ratones silvestres (Zhang et al., 2017). Por el contrario, en el modelo del síndrome del X frágil (*Fmr1*<sup>-/-</sup>), la corteza visual primaria presenta una menor selectividad a la orientación (Goel et al., 2018). Respecto al modelo de *Shank3*<sup>+/-</sup>, datos del laboratorio muestran que estos ratones tienen mayor proporción de neuronas selectivas en comparación a los ratones silvestres. Además tienen un índice de selectividad a la orientación mayor, pero no a la dirección, lo que sugiere fuertemente que la haploinsuficiencia de *Shank3* afecta la codificación en corteza visual primaria (V1), y no así en las neuronas ganglionares de retina, donde se procesa la selectividad a la dirección (**Figura 3**) (Ortiz-Cruz, 2022).

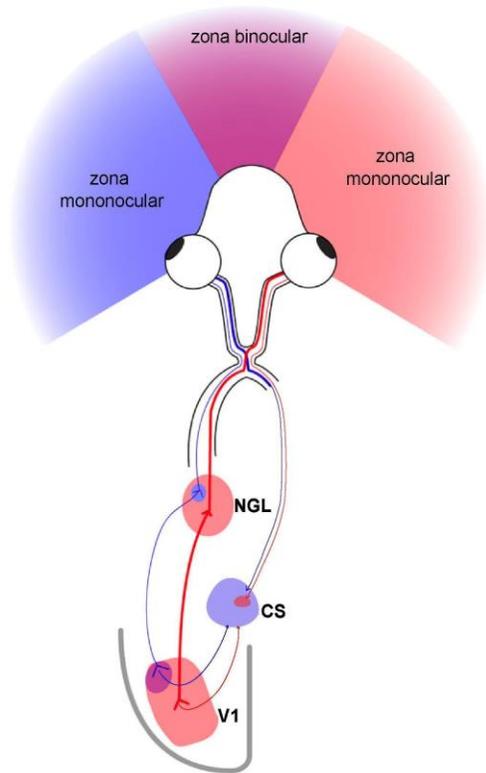


**Figura 3. Incremento en la sintonización a la orientación en neuronas de V1 de ratones *Shank3*<sup>+/-</sup>.** a) Proporción de neuronas selectivas en ratones silvestres (WT) y *Shank3*<sup>+/-</sup>. b) Cuantificación de la selectividad a la orientación (O.S.I.). c) Media del ancho de banda (FWHM) de neuronas selectivas. d) Cuantificación de la selectividad a la dirección (D.S.I.).

Estos reportes, tanto en humanos como en ratones, sugieren que en el TEA existen alteraciones de la actividad neuronal relacionada con el procesamiento de la información visual, pues se sabe que la retina, el núcleo geniculado lateral del tálamo y la corteza visual primaria procesan la información visual para la detección de dirección y movimiento (Fallah and Reynolds, 2001; Katzner et al., 2019; Grünert and Martin, 2020). A su vez, para la evaluación y el reconocimiento de objetos, V1 y las cortezas visuales de asociación son necesarias (Cooke and Bear, 2015; Ramesh et al., 2018; Henschke et al., 2020).

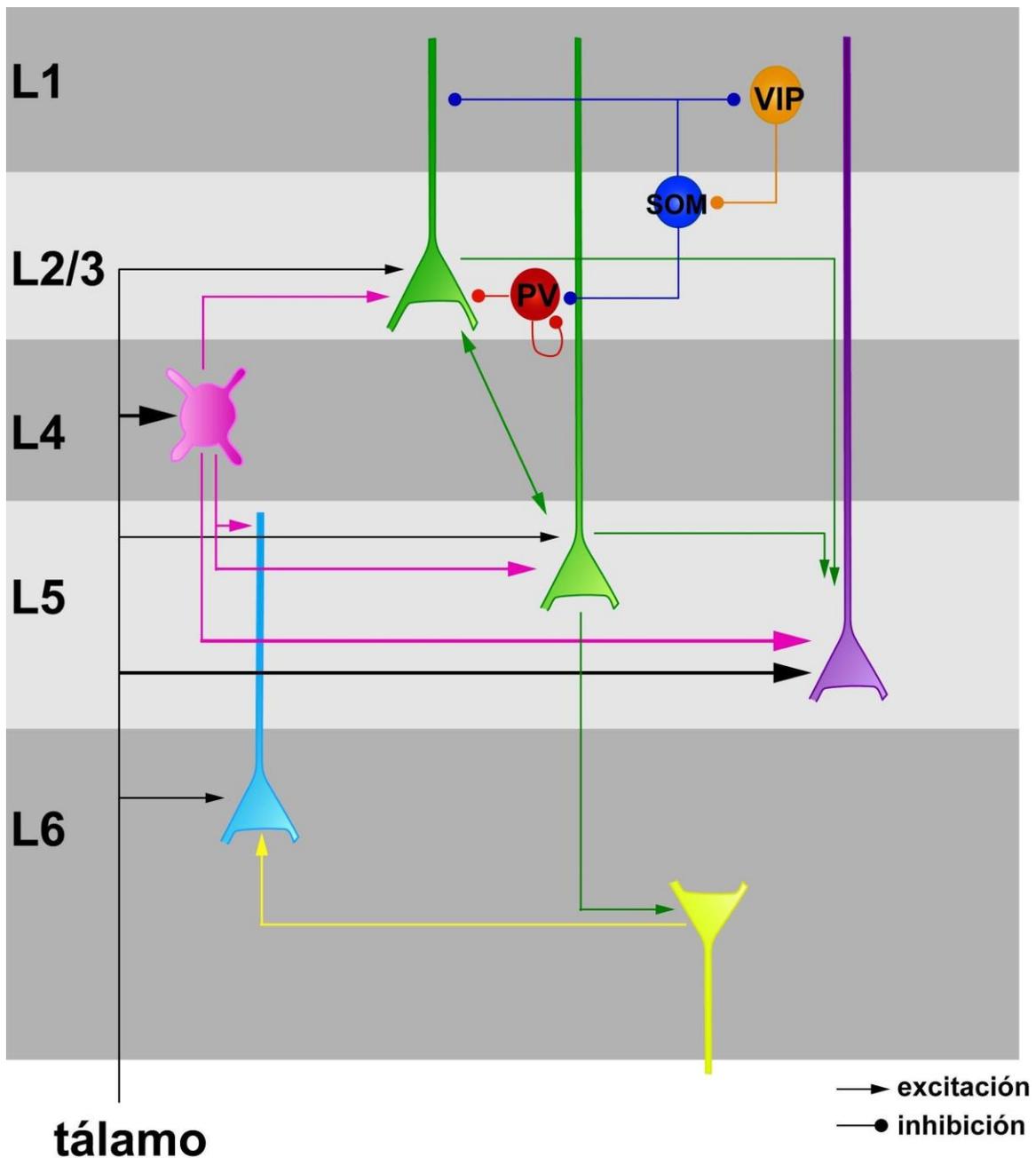
### 1.5 Procesamiento de la información visual en roedores

Los roedores se han convertido en un modelo muy versátil y útil para el estudio del sistema nervioso, pues pueden realizarse manipulaciones genéticas que permiten la disección anatómica y fisiológica de los circuitos neuronales. Dadas estas condiciones, actualmente la corteza visual se ha empezado a estudiar de manera más amplia en estos animales a pesar de las diferencias con humanos y otros mamíferos carnívoros. Una de las mayores diferencias del sistema visual de los ratones respecto a otros mamíferos es el tamaño del campo visual, donde, debido a la posición de los ojos, la región binocular ocupa cerca de un tercio del área de la corteza visual (Hübener, 2003; Niell, 2015). Esto quiere decir que la mayor parte de la corteza visual recibe entradas sinápticas provenientes del ojo contralateral, específicamente de la región monocular de la retina (Figura 4) (Priebe and McGee, 2014; Seabrook et al., 2017). Así mismo, a diferencia de otros mamíferos superiores, la corteza visual primaria de ratones carece de organización columnar (Hansel and van Vreeswijk, 2012; Ringach et al., 2016).



**Figura 4. Sistema visual de ratón.** Esquema del sistema visual del ratón, donde se muestran las zonas de visión binocular y monocular. Las células ganglionares de retina mandan sus proyecciones al núcleo geniculado lateral (NGL), y en menor proporción al colículo superior (CS). El NGL envía sus proyecciones a corteza primaria visual. Modificado de Priebe and McGee, 2014.

En el circuito del sistema visual de ratones, los estímulos lumínicos llegan a la retina y estos son transformados en señales eléctricas a través de señales intrarretinales por los fotorreceptores, la información es enviada al cerebro por aferentes de la retina, las células ganglionares. Estas células mandan sus proyecciones al colículo superior contralateral (Csc), y al núcleo geniculado lateral dorsal del tálamo (NGLd) (Figura 4). Este a su vez proyecta a la corteza visual primaria ipsilateral, específicamente a la capa 4, cuyas neuronas, por su parte, proyectan a neuronas de las capas 2 y 3, las cuales finalmente relevan la información a la capa 5 (Wilks et al., 2013; Priebe and McGee, 2014).



**Figura 5. Circuito canónico de corteza visual primaria de ratón.** El esquema muestra la información sensorial que llega del geniculado lateral del tálamo a las capas de V1. Se representan las neuronas principales (excitatorias), y los tres principales tipos de neuronas inhibitorias (somatostatinérgicas-SOM, positivas a péptido vaso-intestinal-VIP, y positivas a parvalbúmina-PV). Modificado de Niell & Scanziani, 2021, Harris & Mrsic-Flogel, 2013.

La corteza visual primaria (V1) está formada por seis capas corticales con diversos tipos neuronales, los cuales se han clasificado en dos grupos: neuronas excitatorias e inhibitorias (Fig. 5). Las neuronas excitatorias (positivas a CaMKII), además de las células no neuronales, son las

más abundantes en la corteza llegando a un aproximado de 80-85%, mientras que las neuronas inhibitorias corresponden sólo a un 20% del total de neuronas (Keller et al., 2018; Gouwens et al., 2019). Las neuronas inhibitorias se han clasificado en tres subclases principales, las neuronas positivas a Somatostatina (SOM), a Péptido vasointestinal (VIP) y a Parvalbúmina (PV), siendo estas últimas las interneuronas inhibitorias mejor caracterizadas tanto morfológica como electrofisiológicamente, además corresponden al tipo de interneurona que más se expresa en corteza (Gonchar et al., 2008; Callaway, 2016; Gouwens et al., 2019).

La corteza visual primaria de ratón se conforma de tres vías sinápticas principales: “*feed-forward*”, “*feed-back*” y lateral. Las conexiones “*feed-forward*” van principalmente del centro del NGLd hacia capa 4, y posteriormente de capa 4 a capa 2/3, estas conexiones se dan de forma organizada con preferencias temporales y de orientación similares. Por otro lado, las conexiones “*feed-back*” son enviadas por las capas 1 y 5, implicadas en la modulación de señales visomotoras, detección de dirección y frecuencia temporal (Berezovskii et al., 2011; Keller et al., 2020; Morimoto et al., 2021). Por último, las vías laterales recurrentes se presentan mayormente en capa 2/3 entre neuronas excitatorias e inhibitorias, y se ha reportado que estas conexiones juegan un papel esencial en funciones como la selectividad a la orientación (Lee et al., 2012; Zhang and Zhang, 2021).

## 1.6 Aprendizaje en cortezas sensoriales

Canónicamente se considera a la corteza visual como un área meramente sensorial. Sin embargo, recientemente se ha encontrado que la actividad en esta corteza puede modularse en respuesta al aprendizaje e incluso codificar información no visual. Actualmente, ha sido reportado que existe una reorganización dependiente de la experiencia durante el desarrollo de la corteza visual. En este sentido, se tienen identificados períodos sensibles y períodos críticos para la maduración de los circuitos cerebrales, siendo la plasticidad de la dominancia ocular uno de los modelos más ampliamente estudiados (Hooks and Chen, 2020).

No obstante, el papel de la plasticidad dependiente de experiencia no termina en el desarrollo, pues el procesamiento de estímulos visuales con relevancia conductual puede modificarse tras el aprendizaje. Jurjut et al. (2017) reportaron que, en una tarea de discriminación de estímulos visuales con diferentes orientaciones, las neuronas de V1 discriminan mejor las

orientaciones relevantes para la tarea desde etapas intermedias del aprendizaje. Esto ocurre como resultado de un aumento en las diferencias en la tasa de disparo y una disminución en la varianza de la respuesta al realizar la tarea (Jurjut et al., 2017).

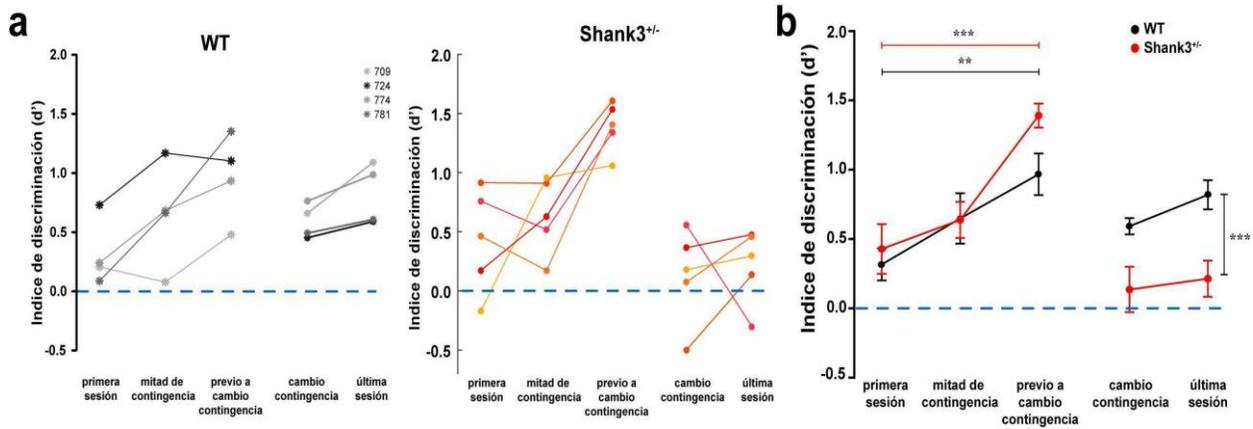
La dinámica temporal de la respuesta en V1 también cambia con el aprendizaje como lo muestran Makino y Komiyama (2015). Se observó que, durante una tarea de evitación activa, el pico de fluorescencia del indicador de calcio GCaMP ocurría durante el inicio de la estimulación en etapas tempranas del aprendizaje. Sin embargo, tras el aprendizaje, este pico de fluorescencia se desplaza hacia el final del estímulo, coincidiendo con el período en el que ocurriría el estímulo aversivo. Se presume que este cambio en la temporalidad de la respuesta está relacionado con entradas principalmente sensoriales (*bottom-up*) durante la etapa inexperta, mientras que, con el entrenamiento, las entradas serían principalmente de retroalimentación por áreas superiores, como la corteza retrosplenial (*top-down*) (Makino and Komiyama, 2015). Esto implicaría que la representación del estímulo visual en etapas tardías está dominada principalmente por el modelo predictivo interno generado gracias al aprendizaje.

### 1.7 Sobre-especificidad en el aprendizaje

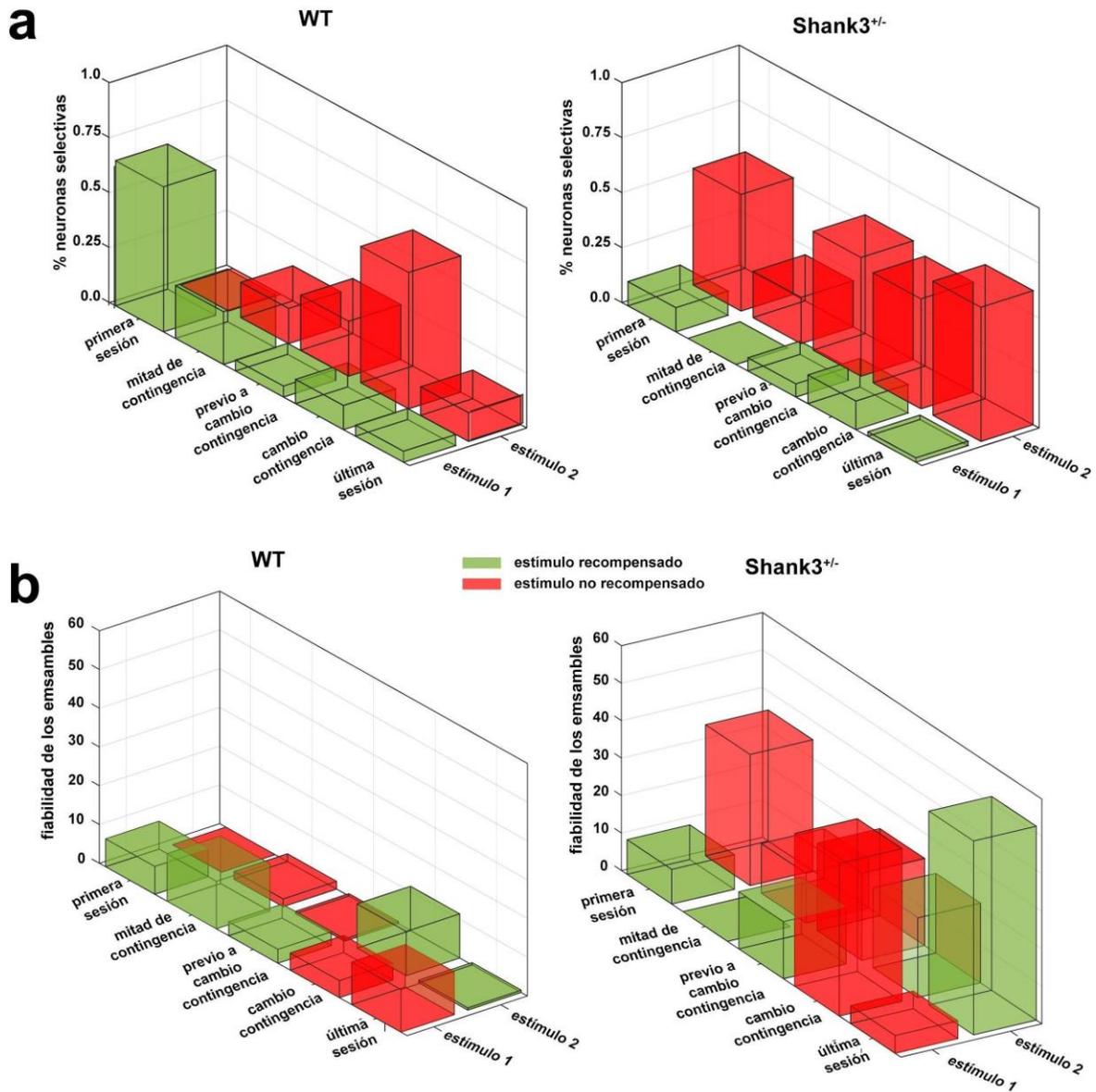
Entre las características de los individuos con TEA se encuentran su notable capacidad de discriminación perceptual, así como su agudeza perceptual. Sin embargo, también presentan anomalías en el aprendizaje perceptual, en específico tienen dificultades al momento de generalizar y transferir el aprendizaje a nuevos contextos (Church et al., 2015). En un estudio se encontró que los participantes con TEA se desempeñaron tan bien como los individuos control al realizar una tarea de discriminación de texturas. No obstante, al cambiar la localización del estímulo objetivo, los participantes con TEA fueron incapaces de generalizar la regla al nuevo contexto (Harris et al., 2015). Sin embargo, no todos los individuos presentan estas dificultades en el aprendizaje perceptual, entre los resultados heterogéneos se pueden distinguir dos perfiles: aquellos individuos con TEA cuya capacidad de generalización es indistinguible de los individuos con desarrollo típico y aquellos que presentan dificultades en la generalización (Church et al., 2015)

Al respecto, datos derivados del laboratorio muestran que los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* aprenden más rápido las tareas de discriminación visual en comparación a los ratones silvestres (Jiménez

Márquez, 2019; Ortiz-Cruz, 2022). Sin embargo, estos ratones presentan una sobre-especificidad en el aprendizaje, es decir, una vez que aprenden muy bien una tarea, son incapaces de aprender una nueva tarea muy similar a la primera (Figura 6). Creemos que esto ocurre como consecuencia de la falta de plasticidad en sus ensamblajes neuronales, los cuales son altamente selectivos y fiables, y no cambian durante el aprendizaje, como ocurre en los ratones silvestres (Figura 7) (Jiménez Márquez, 2019).



**Figura 6. Sobre-especificidad del aprendizaje en ratones *Shank3*<sup>+/-</sup>.** **a)** índice de discriminación (*d'*) de los ratones individuales en las etapas de aprendizaje. **b)** Promedios poblacionales a lo largo de las cinco sesiones de aprendizaje; prueba de permutaciones.



**Figura 7. Selectividad y fiabilidad en los ensambles neuronales. a)** Selectividad promedio de los ensambles a los estímulos en cada sesión para cada genotipo. **b)** Fiabilidad promedio de los ensambles a los estímulos en cada sesión para cada genotipo.

## 1.8 Teoría de grafos y análisis de redes complejas

Como se mencionó previamente, se ha señalado a las alteraciones en la conectividad cerebral como un eje central en la patofisiología del TEA (Belmonte et al., 2004; Kana et al., 2011; Lord et al., 2018; Sharma et al., 2018). Mucho se ha discutido sobre si es un problema de sobreconectividad, subconectividad o ambas, sin embargo, la postura más ampliamente reproducida plantea que existe una conectividad local excesiva y una carencia de conectividad entre áreas cerebrales en este trastorno (Belmonte et al., 2004; Courchesne and Pierce, 2005; Rane et al., 2015; O'Reilly et al., 2017; Sharma et al., 2018). La conectividad en TEA se ha estudiado principalmente por medio de técnicas funcionales macroscópicas como fMRI, PET o EEG (Belmonte et al., 2004; Courchesne and Pierce, 2005; O'Reilly et al., 2017). Sin embargo, dado que se postula que la base de estas alteraciones en la conectividad global radica en defectos a nivel celular, particularmente en el establecimiento de sinapsis (Lord et al., 2018), es importante estudiar la conectividad funcional a nivel celular.

La teoría de grafos es una herramienta conveniente para estudiar las conexiones entre neuronas, pues esta se basa en estudiar interacciones entre los componentes de un sistema (Fornito et al., 2016). Esta área de las matemáticas es particularmente útil para estudiar los sistemas complejos presentes en la biología como las interacciones metabólicas entre proteínas o ecológicas entre especies (Fornito et al., 2016; Zinoviev, 2018). En particular para el estudio del sistema nervioso, la teoría de grafos puede ayudarnos a entender el flujo de información entre los elementos de este sistema (Fornito et al., 2016). Por lo tanto, este enfoque se vuelve valioso para el estudio de la conectividad cerebral en TEA.

Al representar sistemas complejos en forma de redes (o grafos), los nodos constituyen los elementos del sistema y las interacciones entre dos elementos se indican como enlaces o conexiones (Rubinov and Sporns, 2010; Fornito et al., 2016). El cerebro se puede representar en forma de redes de diferentes maneras según la escala y técnica de registro utilizadas (Feldt et al., 2011). Los nodos pueden representar desde estructuras cerebrales hasta neuronas individuales, mientras que las conexiones pueden establecerse según la conectividad anatómica, funcional o efectiva (Rubinov and Sporns, 2010; Feldt et al., 2011). Los enlaces entre nodos pueden ser binarios (presente o ausente) o ponderados, así como dirigidos o no dirigidos (Feldt et al., 2011).

El número de nodos se denota como  $n$ , mientras que el grado se refiere al número de enlaces que presenta cada nodo y se indica como  $k$ . La topología de un grafo describe cómo están organizados los enlaces entre elementos del sistema (Rubinov and Sporns, 2010; Fornito et al., 2016). Así, uno de los objetivos del estudio de la estructura de red es entender y explicar el funcionamiento del sistema que representa (Newman, 2003). En el caso de las redes cerebrales, la topología de la red delimita la forma en que las señales pueden propagarse a través del sistema (Fornito et al., 2016). Dos métricas son básicas para describir la topología de la red: la longitud característica y el coeficiente de agrupamiento.

La longitud característica ( $L$ ) se refiere al promedio del mínimo número de enlaces necesarios para conectar a dos nodos cualesquiera en la red y representa una propiedad global de la red (Watts and Strogatz, 1998; Fornito et al., 2016). Por otro lado, el coeficiente de agrupamiento ( $C$ ) toma en cuenta la fracción existente del máximo número de enlaces posibles entre los vecinos inmediatos de un nodo. Esta es una medida de la densidad local de la red, reflejando que tan interconectado está un vecindario (Watts and Strogatz, 1998; Fornito et al., 2016).

De esta forma, la longitud característica se puede entender como una medida de integración, mientras que el coeficiente de agrupamiento representa una medida de segregación (Rubinov and Sporns, 2010). La segregación funcional dentro del contexto de redes cerebrales implica que ocurre un procesamiento especializado dentro de grupos altamente interconectados (Rubinov y Sporns, 2010). Por otro lado, la integración funcional se refiere a la capacidad para combinar información especializada (Rubinov y Sporns, 2010).

Asimismo, la  $L$  y el  $C$  son útiles para determinar qué tan ordenada o aleatoria es una red. Una red aleatoria es aquella en la cual la probabilidad de conexión es igual para cualquier par de nodos. Este tipo de redes presentan una  $L$  es pequeña con valores  $L_{aleatoria} \approx \ln(n)/\ln(k)$  (Watts and Strogatz, 1998). Una  $L$  corta indica una mayor rapidez y eficiencia de integración en la red (Fornito et al., 2016). De la misma forma, el  $C$  es pequeño en una red aleatoria con  $C_{aleatorio} \approx k/n$  (Watts and Strogatz, 1998). En las redes con patrones regulares, como anillos o cuadrículas por ejemplo, ocurre lo contrario con valores de  $L_{regular} \approx \ln(n)/2 \ln(k)$  y  $C_{regular} \approx 3/4$  (Watts and Strogatz, 1998). Así, las redes aleatorias se caracterizan por una alta integración global y baja segregación, mientras que las redes regulares presentan una alta segregación y baja integración.

Sin embargo, las redes que representan sistemas reales suelen ser grandes y complejas con estructuras no triviales sin llegar a ser completamente aleatorias (Rubinov and Sporns, 2010; Sporns, 2010; Zinoviev, 2018). Al estudio de estas redes reales se le conoce como análisis de redes complejas (Rubinov and Sporns, 2010; Feldt et al., 2011). Este tipo de redes son ubicuas, encontrando ejemplos de estas en campos como economía, sociología, tecnología y biología (Zinoviev, 2018). Cabe notar que la estructura de estas redes es el resultado de la evolución continua de las fuerzas que la formaron (Boccaletti et al., 2006), por lo que al entender la estructura podemos hacer inferencias sobre estos procesos generativos.

Dos tipos de redes que no son completamente aleatorias ni ordenadas son las redes de mundo pequeño y las redes libres de escala. Las redes de mundo pequeño son aquellas que presentan alta segregación funcional, pero conservando la integración entre módulos (Rubinov and Sporns, 2010). Las redes libres de escala se caracterizan por tener un puñado de nodos con un  $k$  muy elevado, conocidos como *hubs*, y la distribución de grado de estas redes está descrita por una función exponencial (Feldt et al., 2011).

Las redes del cerebro comparten características con otras redes reales de forma que no son completamente regulares, ni completamente aleatorias. Por ejemplo, el conectoma de *C. elegans* es uno de los ejemplos más claros de una red con estructura de mundo pequeño (Watts and Strogatz, 1998). También se ha encontrado que redes anatómicas y efectivas presentan esta propiedad (Rubinov and Sporns, 2010). Por otro lado, la conectividad funcional en el hipocampo en desarrollo exhibe características de una red libre de escala, pues existen neuronas GABAérgicas que actúan como hubs y son capaces de influenciar la dinámica de los eventos de sincronización de la red (Feldt et al., 2011). Por si fuera poco, se ha encontrado que la conectividad funcional puede estar modulada por los estados conductuales (Feldt et al., 2011). Esto tiene sentido, en especial para las redes macroscópicas, considerando que las conexiones funcionales pueden evolucionar en una escala de tiempo menor que las anatómicas (Van Wijk et al., 2010). Entonces, se puede entender que existen diferentes tipos de organización topológica de las redes cerebrales dependiendo de la escala, etapa del desarrollo, estado conductual o incluso condiciones psiquiátricas. Además, el análisis comparativo de las redes entre sujetos o poblaciones puede ayudar a detectar anomalías en la conectividad en diferentes trastornos cerebrales, por ejemplo, diferentes propiedades de las redes difieren entre controles y pacientes

con la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia, Trastorno por déficit de atención e hiperactividad así como con tumores cerebrales (Rubinov and Sporns, 2010; Van Wijk et al., 2010).

## 2. Planteamiento del problema

Datos obtenidos en nuestro laboratorio muestran alteraciones en la actividad neuronal de la corteza visual primaria (V1) de ratones *Shank3<sup>+/-</sup>*. Específicamente, encontramos que la haploinsuficiencia de *Shank3* incrementa la selectividad a la orientación, pero no la selectividad a la dirección. Esto sugiere que el procesamiento visual en V1 se ve afectado, mientras que el procesamiento en la retina no se afecta en nuestro modelo (Ortiz-Cruz, 2022).

Este incremento en la selectividad a la orientación en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* promueve que aprendan más rápido las tareas de discriminación visual en comparación a los ratones silvestres (Jiménez Márquez, 2019; Ortiz-Cruz, 2022). Sin embargo, estos ratones presentan una sobre-especificidad en el aprendizaje, es decir, una vez que aprenden muy bien una tarea, son incapaces de aprender una nueva tarea muy similar a la primera, creemos que esto ocurre como consecuencia de la falta de plasticidad en sus ensambles neuronales, los cuales son altamente selectivos y fiables, y no cambian durante el aprendizaje, a diferencia de lo que ocurre en los ratones silvestres (Jiménez Márquez, 2019).

Resultados previos del laboratorio apuntan que hay neuronas selectivas para los estímulos que no participan en los ensambles, así como neuronas no selectivas que forman parte de ensambles (Jiménez Márquez, 2019). Esto nos sugiere que para tener un mejor entendimiento del procesamiento de estímulos en corteza visual sería útil realizar análisis que tomen en cuenta a toda la población neuronal y nos den una idea de cómo interactúan estos elementos entre sí.

Sabiendo que las redes complejas son el resultado de los fenómenos dinámicos por los que se formaron, y tomando en cuenta que el TEA es un trastorno del neurodesarrollo, en específico de procesos relacionados con la conectividad entre neuronas, y que además el procesamiento en la corteza visual está afectado, sería de esperarse que las redes modeladas a partir de la actividad neuronal de V1 presenten diferencias estructurales entre genotipos. Por lo tanto, se vuelve relevante el análisis de redes neuronales, y cómo estas redes se modifican con el aprendizaje, para inferir cómo la haploinsuficiencia de *Shank3* altera los microcircuitos de la corteza visual primaria.

### 3. Hipótesis

Las redes neuronales de V1 se reestructurarán de forma diferente entre ratones silvestres y *Shank3<sup>+/-</sup>* durante el proceso de aprendizaje en una tarea de discriminación visual con sobre-especificidad e inversión de contingencias.

### 4. Objetivo General

Dado que el TEA es un trastorno del neurodesarrollo, y sabiendo por datos previos del laboratorio, que la codificación de la información en corteza visual es diferente en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>*, se vuelve importante evaluar si la haploinsuficiencia de *Shank3* tendrá un efecto sobre la estructura de red de las neuronas de la corteza visual primaria al comparar entre ratones silvestres y ratones *Shank3<sup>+/-</sup>*.

#### 4.1 Objetivos específicos

1. Caracterizar la estructura de las redes neuronales de V1 por cada evento conductual, sesión y genotipo.
2. Identificar los cambios en la estructura de la red a lo largo del aprendizaje
3. Comparar la estructura de red entre los diferentes estímulos visuales que comprende la tarea en cada una de las diferentes etapas del aprendizaje.

### 5. Metodología

#### 5.1 Tarea conductual

Los ratones se entrenaron en una tarea de discriminación visual con inversión de contingencias en la configuración de cabeza fija. Este paradigma conductual está basado en un protocolo de condicionamiento clásico en el que el estímulo incondicionado es una gota de leche de soya al 10% y la respuesta incondicionada es el lengüeteo del operando. El estímulo condicionado es uno de los patrones de enrejado (barras horizontales con desplazamiento hacia arriba o barras verticales con desplazamiento a la izquierda), mientras que la respuesta condicionada corresponde al lengüeteo anticipatorio durante la presentación del estímulo condicionado (Fig. 8).

Los estímulos se presentaron de forma semi-aleatoria con una probabilidad de 33% de que aparezca cualquiera de los dos estímulos (estímulo condicionado o estímulo neutro), así como un 33% de probabilidad de que ocurriera un ensayo vacío que consistía en una pantalla gris

con una duración de 6s. Cada ensayo está constituido por una pantalla blanca por 1.4s que marca el inicio del ensayo, seguida por el estímulo de enrejado con movimiento con una duración de 2.8s. Posteriormente, se presenta una pantalla gris por 1s que puede ser seguida por el estímulo incondicionado o la ausencia de este, en ambos casos la pantalla gris se alarga por 5s más.

Los lengüeteos anticipatorios durante el estímulo condicionado se contaron como **aciertos**, mientras que aquellos que ocurrieron durante el estímulo neutro se contaron como **falsas alarmas**. La ausencia de lengüeteos durante el estímulo neutro se tomó como **rechazo correcto** y la ausencia de estos durante el estímulo condicionado se consideró **error**.

Durante las primeras 40 sesiones, uno de los estímulos fue pareado con el estímulo incondicionado. En la sesión 41, la contingencia se invierte de forma que el estímulo condicionado deja de ser pareado con el estímulo incondicionado y ahora el estímulo neutro se convierte en el nuevo estímulo condicionado. Esta segunda contingencia se mantiene hasta la sesión 60 (**Figura 8**).

El registro de la actividad neuronal se realizó en las sesiones 1, 20, 40, 41 y 60. La detección de la señal de calcio producida por el indicador de calcio genéticamente codificado, GCaMP7f, se realizó empleando un microscopio de 2 fotones con una tasa de adquisición de 5Hz. Para conocer a detalle las especificaciones de la adquisición referirse a Jiménez Márquez, 2021.

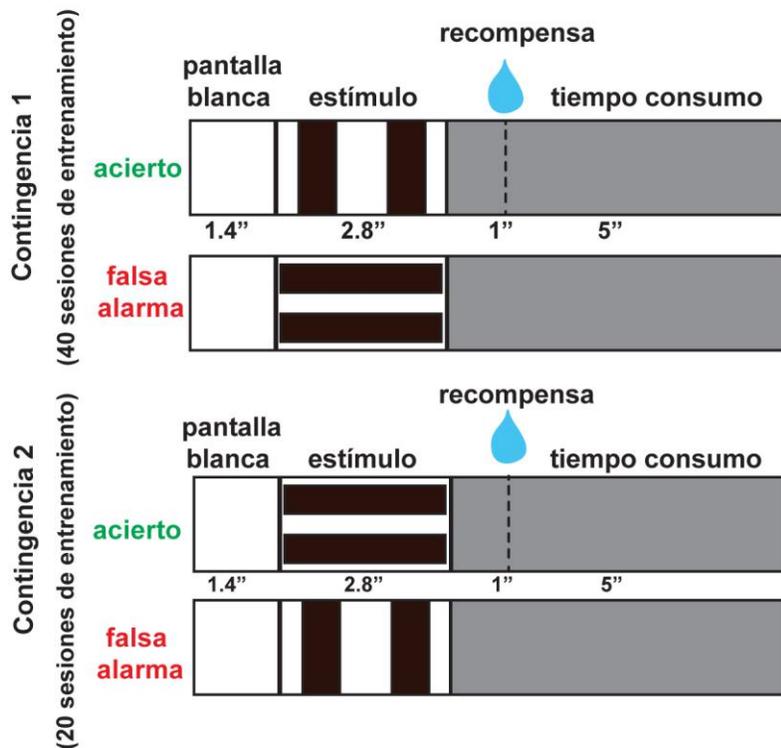


Figura 8. Esquema de la tarea de sobre-especificidad. Contingencia 1 tuvo una duración de 40 sesiones, en la Contingencia 2 las reglas fueron invertidas y tuvo una duración de 20 sesiones. Cada sesión estuvo compuesta de la presentación de alrededor de 150 ensayos. Los tiempos de los elementos de la tarea se representan en el esquema.

## 5.2 Base de datos

El presente trabajo se elaboró a partir de una base de datos perteneciente al laboratorio obtenida por Emiliano Jiménez Márquez (2021). No se realizaron experimentos adicionales. La base de datos consistió en un paquete de archivos de 9 animales (5 silvestres y 4 *Shank3<sup>+/-</sup>*) que incluye: matriz de transitorios de calcio de dimensiones: neuronas por cuadros de registro de 200ms (NxT), matriz de cuadros activos de dimensiones NxT, así como un listado del orden y tiempo en que ocurrió cada uno de los eventos conductuales (estímulo 1, estímulo 2, pantalla gris, gota de leche y lengüeteos) durante para cada sesión. La base también incluye resultados del análisis conductual (tasas de aciertos, errores, falsas alarmas y rechazos correctos), entre otros. Se obtuvo un paquete de archivos con contenidos semejantes para los 9 animales con 5 sesiones de registro por cada uno. Sin embargo, de la sesión 20 del ratón 775 y la sesión 40 del ratón 781 no se encontró el listado de eventos conductuales, por lo que los paquetes correspondientes fueron descartados para el análisis.

La extracción de los transitorios de calcio de la base de datos se realizó utilizando el paquete CNMF-E implementado para MATLAB. A partir de la deconvolución de la actividad neuronal obtenida por CNMF-E (**variable S**) se calculó la matriz de cuadros activos. Para esto se creó una variable nueva (matriz de actividad) con las mismas dimensiones de S (**NxT**), se calculó

la desviación estándar ( $DS$ ) de  $S$ , y aquellos cuadros que superaran el umbral de  $2*DS$  se anotaron como cuadros activos (1) en la matriz de actividad. De esta forma, se obtiene una matriz binaria donde 1 indica que la neurona estuvo activa en un determinado tiempo y 0 indica que la neurona no estuvo activa.

### 5.3 Matrices de adyacencia

Dado que la estructura de las redes cambia dependiendo de los estados conductuales (Feldt et al., 2011), se calculó una matriz de adyacencia para cada evento conductual: estímulo 1, estímulo 2 y pantalla gris. De la matriz de actividad y tomando el listado de eventos conductuales, se concatenaron únicamente los cuadros en los que estuvo presente un estímulo dado. Mientras que para los estímulos se contempló el tiempo en el que estuvieron presentes (es decir 2.8s por ensayo), para la pantalla gris se tomaron los 2s previos a que empezara el ensayo, por lo que la pantalla gris corresponde al período basal o interensayo. Así, de cada matriz de actividad se obtuvieron 3 submatrices de actividad relacionada a cada tipo de estímulo.

A partir de estas submatrices se calcularon las correlaciones parciales entre neuronas. Para evitar el problema de definir un umbral a partir del cual binarizar el enlace entre neuronas (Feldt et al., 2011), se realizó un remuestreo de la matriz de actividad, manteniendo fijo el número total de cuadros activos por neurona pero aleatorizando el orden en el que ocurrió esta actividad. Derivado de estas permutaciones aleatorias de la actividad se calcularon nuevamente las correlaciones parciales. Dado que este es un proceso que depende del azar, se realizaron 5,000 permutaciones para aumentar la reproducibilidad de las redes obtenidas. Se estableció un nivel de significancia de 0.05, es decir, sólo se consideraron como conexiones no azarosas aquellas que aparecieron en menos del 5% de las matrices remuestreadas. Se consideró que dos neuronas estaban conectadas si tenían una correlación parcial mayor a 0.

### 5.4 Caracterización de la red

Una vez obtenidas las matrices de adyacencia se utilizó el paquete Network X de Python para generar los grafos a partir de una lista de enlaces. Para los análisis sólo se tomó en cuenta el componente conectado. Utilizando diversas funciones de este paquete se determinó el grado de los nodos, la densidad, la longitud característica, eficiencia, coeficiente de agrupamiento, así como el componente gigante de cada una de las redes.

Para la propiedad de mundo pequeño se utilizó el índice propuesto por She et al. (2016):  $S_w =$

$$\frac{L_{aleatorio}}{L} - \frac{C}{C_{regular}} \cdot L_{aleatorio}$$

Este índice representa una estimación de la  $L$  correspondiente a una red con los mismos parámetros de grado promedio ( $\langle k \rangle$ ) y el número de nodos ( $n$ ) de una red aleatoria de tipo Watts-Strogatz. Este parámetro se calculó según lo descrito por Watts y Strogatz (1998) de la siguiente forma:  $L_{aleatorio} = \frac{\ln N}{\ln k}$ . Por otro lado,  $C_{regular}$  se refiere al coeficiente de agrupamiento de una red de anillo regular simulada usando el modelo de generación de Watts-Strogatz implementado en NetworkX, con los parámetros  $\langle k \rangle$  y  $n$  iguales a los de la red evaluada y con  $p(\text{reconexión})=0$ , es decir, una red de hipótesis nula. Para estos análisis se descartaron las redes que tenían un grado demasiado bajo de forma que era imposible simular un anillo conectado.

## 5.5 Estadística

Para los análisis entre genotipos se usó la prueba U de Mann-Whitney. Para los análisis entre sesiones se realizaron pruebas de Kruskal-Wallis. Todas las pruebas se tomaron con un nivel de confianza de 0.95 ( $p \leq 0.05$  se consideró significativa). Los resultados se reportan como  $\text{media} \pm \text{error estándar}$ .

## 6.0 Resultados

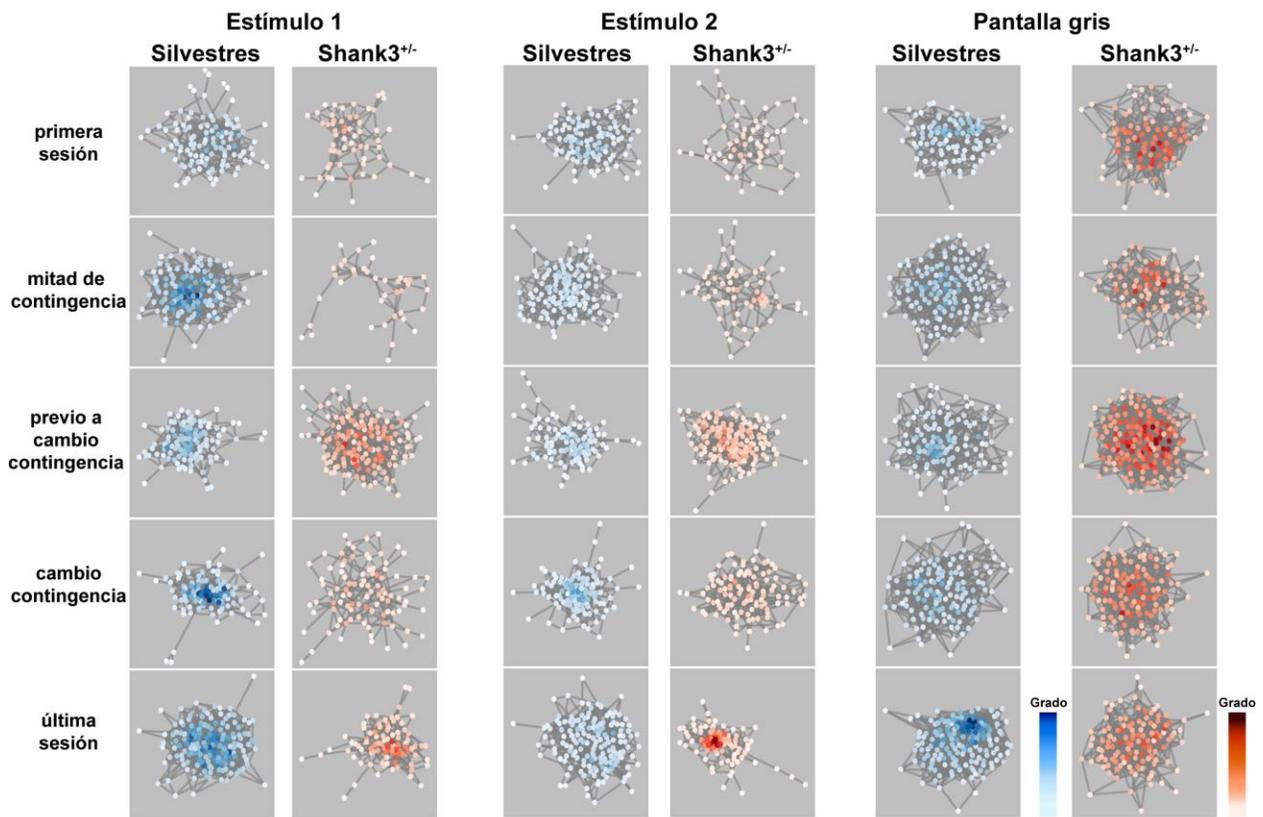
### 6.1 Representación en redes a partir de la actividad neuronal

Para el análisis de redes se utilizó una base de datos de registros de calcio *in vivo* de corteza visual primaria (V1) de ratones silvestres y *Shank3<sup>+/-</sup>* del laboratorio (AL-205) obtenida durante una tarea de sobre-especificidad. Esta tarea consiste en la discriminación entre un estímulo visual asociado a estímulo apetecible (Estímulo 1), y un estímulo visual neutro (Estímulo 2), así como la inversión de esta contingencia después de la sesión 40 (Figura 8).

A partir de nuestra base de datos se calcularon 129 matrices de correlación de la actividad neuronal. Estas son matrices cuadradas cuya dimensión está dada por el número de neuronas registradas en cada sesión ( $127.56 \pm 51.7$  neuronas para los registros de animales silvestres y  $117.95 \pm 25.12$  para los de ratones *Shank3<sup>+/-</sup>*). Derivado de estas matrices se determinaron las matrices de adyacencia y su correspondiente representación en forma de red (o grafo) binaria no dirigida; donde cada nodo es una neurona registrada y las conexiones están determinadas por la correlación entre cada par de neuronas. Las redes se agruparon por genotipo para cada tipo de evento conductual y cada etapa de la tarea de sobre-especificidad.

Al respecto, observamos que en los ratones silvestres las conexiones formadas en respuesta al estímulo 1 se reestructuraron con el aprendizaje a la mitad de la contingencia, aumentando el grado promedio y disminuyendo la longitud (Figura 9). Por otro lado, en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* observamos que al igual que en los ratones silvestres, existen cambios en la organización, y además aumenta el número de neuronas reclutadas con el aprendizaje. Sin embargo, en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* estos cambios se hacen evidentes en la sesión previa al cambio de contingencia, cuando los ratones ya se les reforzó el aprendizaje más de lo necesario para resolver la tarea (Figura 9).

Respecto al estímulo 2 durante la primera contingencia (cuando este estímulo no es recompensado), se observa que en ratones silvestres se mantiene estable el grado promedio, aunque el número de conexiones totales sí disminuye (Figura 9). Este cambio no existe en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>*. Sin embargo, en la etapa en la que ya aprendieron la tarea, antes del cambio de contingencia, presentan un agrupamiento mayor que los silvestres. Esta diferencia es notoria también durante última sesión, se observa en la red representativa como se forma un grupo de neuronas con un grado alto y con una organización muy concentrada (Figura 9).



**Figura 9. Redes representativas.** Se muestran las redes representativas de un ratón silvestre y un ratón *Shank3<sup>+/-</sup>* agrupadas por evento conductual para cada una de las diferentes etapas de la tarea visual. Cada punto corresponde a una neurona, y la intensidad del color representa el grado, es decir, el número de conexiones funcionales de cada neurona. Las neuronas con tonos más intensos establecen un mayor número de conexiones con otras neuronas.

Por otra parte, en la tarea tenemos un período interensayo, representado por una pantalla gris, la cual funciona como un estímulo neutro. En contraste con lo observado en las redes de los estímulos, las redes de esta pantalla gris presentan una organización y un tamaño estable a lo largo de la tarea, tanto para ratones silvestres y como ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* (Figura 9).

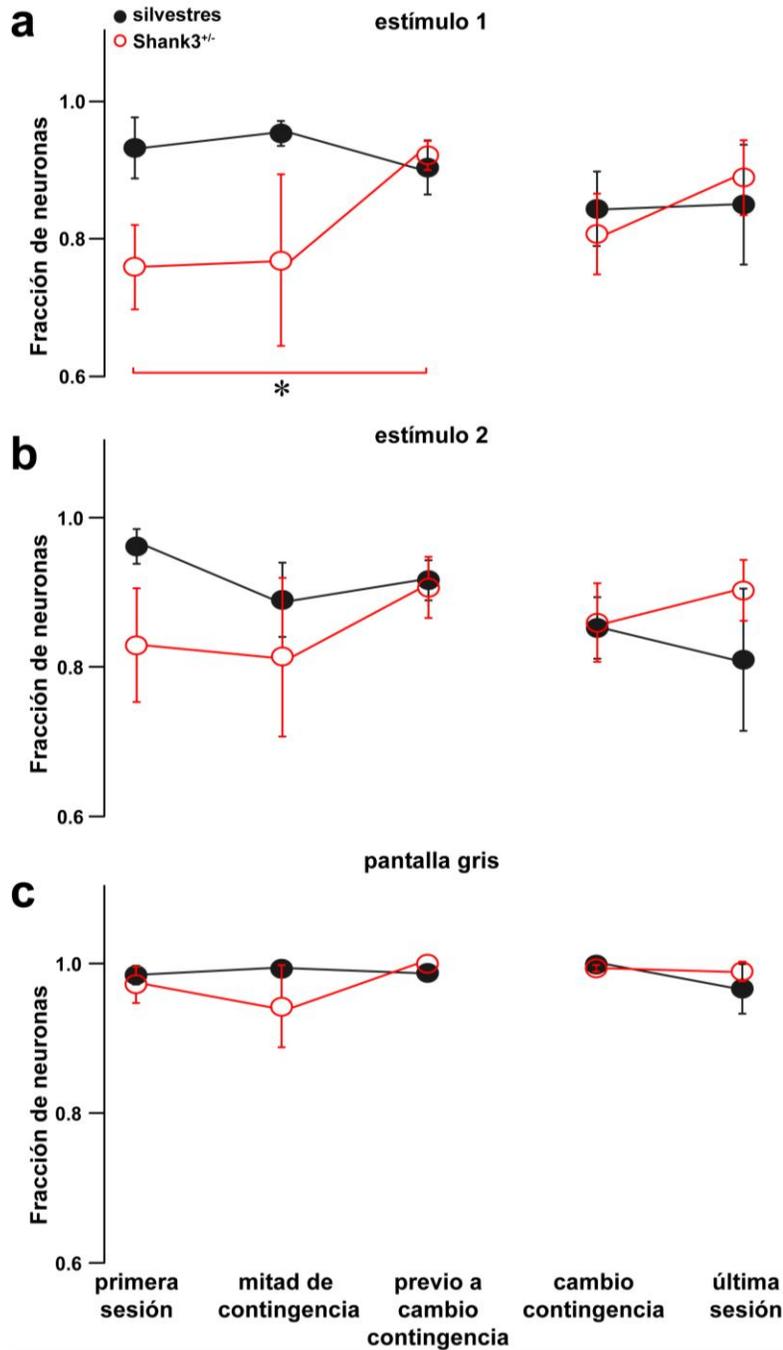
## 6.2 Tamaño de la red: componente gigante

Dentro de la teoría de grafos, se consideran redes conectadas a aquellas en las que todos los nodos de la red están conectados entre sí, ya sea de forma directa o indirecta. Sin embargo, las redes que representan sistemas reales (biológicos, informáticos o de cualquier tipo) no suelen presentar este comportamiento (Boccaletti et al., 2006; Fornito et al., 2016). A estas redes se les conoce como desconectadas o fragmentadas, y están compuestas por subconjuntos excluyentes de nodos interconectados, llamados componentes (Newman, 2003; Fornito et al., 2016). Las redes modeladas a partir de nuestros datos no incluyen a la totalidad de las neuronas registradas, por lo que, bajo estos conceptos, son redes desconectadas. Cabe notar que las neuronas que no forman parte de la red suelen estar aisladas, es decir, no están asociadas funcionalmente con ninguna otra neurona registrada. El porcentaje de neuronas que participan en la red varía por genotipo y tipo de estímulo, y es representado como la fracción de neuronas que conforman el componente gigante, es decir, el componente de la red con el mayor número de neuronas interconectadas. El tamaño del componente gigante determina la fracción de la red a la que es posible el flujo de información (Newman, 2003), entonces se puede decir que aquellas neuronas que están desconectadas están “incomunicadas” y no participarían en el procesamiento de la información.

Cuando comparamos entre genotipos, encontramos que los ratones *Shank3*<sup>+/-</sup> presentan una tendencia a reclutar menos neuronas que sus contrapartes silvestres para procesar el estímulo 1 (sesión 1: WT:  $0.93 \pm 0.02$  fracción de neuronas; *Shank3*<sup>+/-</sup>:  $0.75 \pm 0.05$  fracción de neuronas), pero esta diferencia no llega a ser significativa ( $p=0.06$ ) (Figura 10a). Esta tendencia se conserva para el estímulo 2 (sesión 1: WT:  $0.96 \pm 0.01$  fracción de neuronas; *Shank3*<sup>+/-</sup>:  $0.82 \pm 0.07$  fracción de neuronas) pero es menos marcada (Figura 10b).

A pesar de la alta variabilidad de las redes intracorticales, se presentan tendencias que sugieren que las redes sí cambian con el aprendizaje. En los ratones silvestres se observa una dinámica en la fracción de neuronas reclutadas para los estímulos visuales, sin embargo, no llega a ser significativa. Resulta interesante destacar que, en los ratones silvestres, en la segunda contingencia hay una tendencia a reclutar menos neuronas que las reclutadas al inicio de la tarea. Esto ocurre tanto para el estímulo 1 (sesión 1:  $0.93 \pm 0.02$  fracción de neuronas, sesión 41:  $0.84 \pm 0.04$  fracción de neuronas, sesión 60:  $0.85 \pm 0.06$  fracción de neuronas) como para el estímulo 2

(sesión 1:  $0.96 \pm 0.01$  fracción de neuronas, sesión 41:  $0.85 \pm 0.03$  fracción de neuronas, sesión 60:  $0.80 \pm 0.07$  fracción de neuronas; Figura 10a, b).



**Figura 10. Evolución temporal del tamaño de la red durante el aprendizaje.** Se reporta la fracción de neuronas conectadas al componente gigante del total de neuronas registradas de los sujetos silvestres (negro) y *Shank3<sup>+/-</sup>* (rojo) a) Fracción de neuronas para el estímulo 1. b) Fracción de neuronas para el estímulo 2. c) Fracción de neuronas para la pantalla gris. Kruskal Wallis test, \*  $p=0.02$ .

En cuanto a los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>*, observamos que para el estímulo 1 incrementa el número de neuronas reclutadas en la sesión previa al cambio de contingencia ( $0.95 \pm 0.01$  fracción de neuronas), respecto a la primera sesión ( $0.75 \pm 0.05$  fracción de neuronas) (Figura 10a). Pareciera

que este incremento se revierte en el cambio de contingencia para los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* (sesión 41:  $0.80 \pm 0.05$  fracción de neuronas) (Figura 10a). Esta misma dinámica ocurre para el estímulo 2, sin embargo, debido a la dispersión de los datos no encontramos diferencias significativas (Figura 10b).

De manera muy interesante encontramos que estas dinámicas no se presentan para la pantalla gris, donde las fracciones de neuronas reclutadas no cambia con el aprendizaje ni en el cambio de contingencia para ningún genotipo (Figura 10c).

Por lo tanto, estos datos sugieren que la dinámica de las redes neuronales cambia con el aprendizaje, y es dependiente del genotipo, sin embargo, es pertinente considerar incrementar el número de experimentos para robustecer la estadística. A partir de este punto en adelante, todas las medidas reportadas describen la estructura de red del componente gigante correspondiente. Las neuronas desconectadas no fueron consideradas para análisis posteriores.

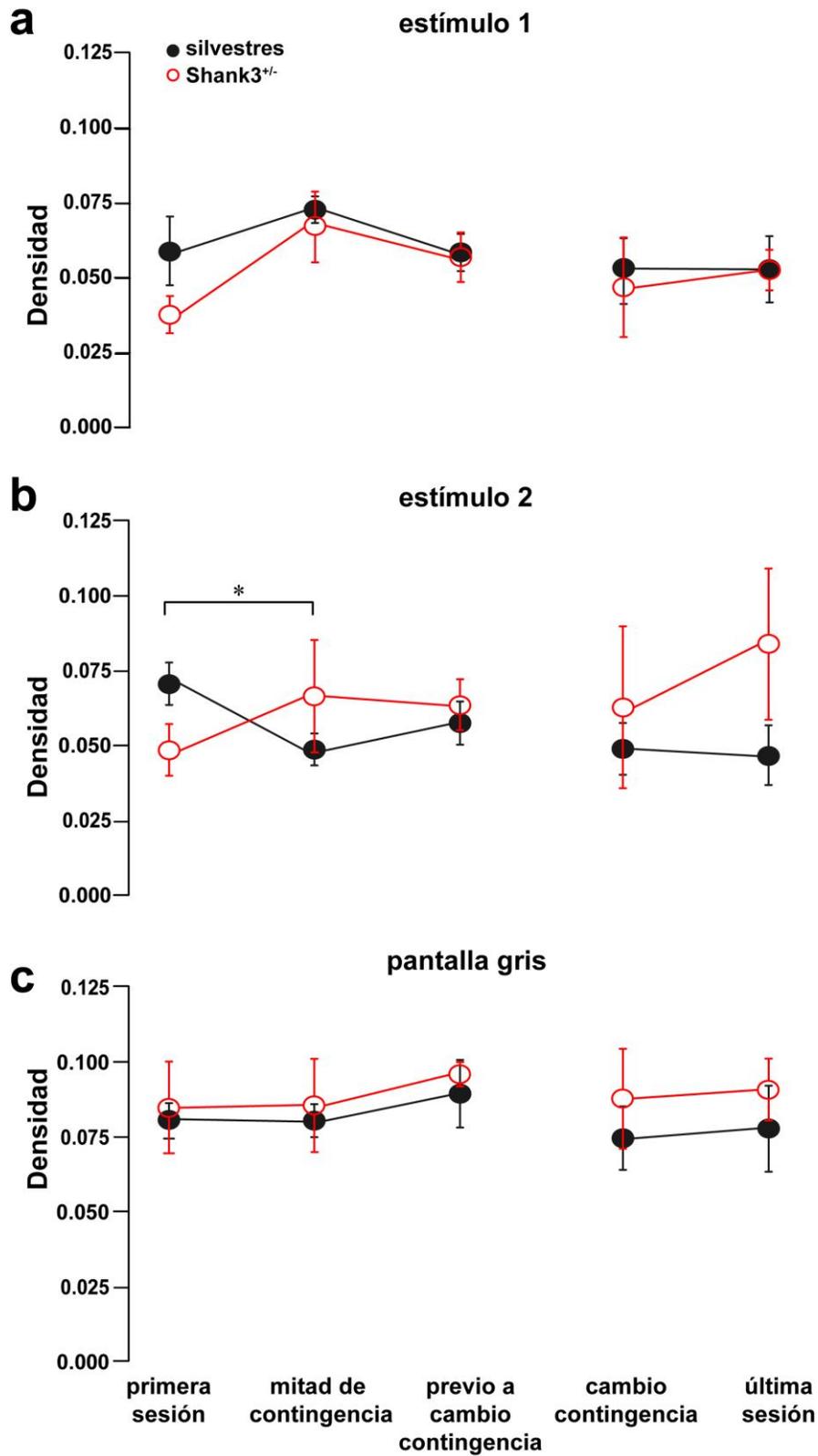
### 6.3 Conectividad global: densidad de la red

La densidad de la red representa la relación entre el número máximo de conexiones posibles en un grafo completo (dado por  $\frac{N(N-1)}{2}$ ) y la cantidad de conexiones reales presentes en la red (Fornito et al., 2016). Un valor de 0 representaría que no existen conexiones y un valor de 1 que la red está completamente conectada.

Respecto a los ratones silvestres, hay una tendencia a incrementar el número de conexiones a la mitad de la contingencia para el estímulo 1 (sesión 20:  $0.072 \pm 0.002$ ) en comparación al resto de las sesiones ( $0.059 \pm 0.03$ ), esta misma tendencia se observa en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* (sesión 20:  $0.067 \pm 0.004$ , otras sesiones:  $0.048 \pm 0.004$ ; Figura 11a).

En cuanto al estímulo 2, observamos en los ratones silvestres que después de la primera sesión ( $0.070 \pm 0.005$ ) existe una disminución en el número de conexiones (sesión 20:  $0.048 \pm 0.003$ ) y después se mantiene estable. De manera interesante encontramos que para este estímulo los ratones silvestres tienden a presentar mayor número de conexiones en la sesión 1 ( $0.070 \pm 0.005$ ) que los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* (sesión 1:  $0.048 \pm 0.007$ ). Aunque no hay diferencias significativas, se observa que posteriormente los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* exhiben una tendencia a

incrementar el número de conexiones en la última sesión de la segunda contingencia (*Shank3*<sup>+/-</sup>: 0.083 ± 0.002, silvestres: 0.046±0.007) (Figura 11b).



**Figura 11. Densidad de la red en el aprendizaje.** Se reporta la fracción presentes del total de conexiones posibles para los animales silvestres (negro) y *Shank3*<sup>+/-</sup> (rojo). Densidad para es estímulo 1 (a), estímulo 2(b) y pantalla gris (c). Kruskal Wallis test, \* p=0.057.

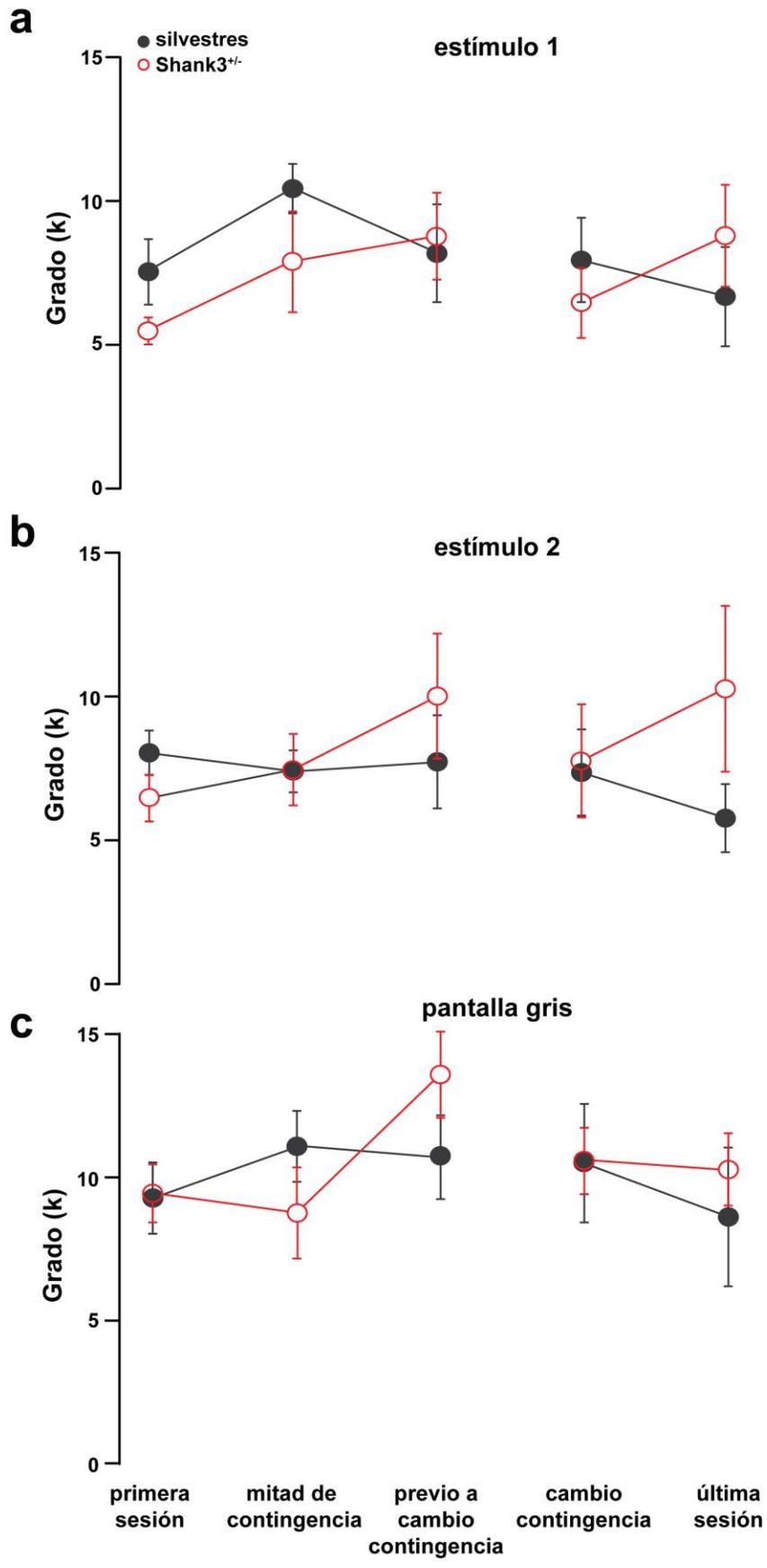
Por lo tanto, el número de conexiones tiende a cambiar con el aprendizaje, sin embargo, igual que como hemos reportado anteriormente, la pantalla gris no presenta estos cambios durante el aprendizaje en ninguno de los genotipos (Figura 11c).

#### 6.4 Grado

El grado ( $k$ ) se refiere al número de conexiones que posee un nodo, consecuentemente el grado promedio ( $\langle k \rangle$ ) es el promedio del grado de todos los nodos de la red. La distribución del  $k$  de todos los nodos de una red es una de las propiedades principales requeridas para describir la topología de la red (Rubinov and Sporns, 2010; Fornito et al., 2016). A diferencia de la densidad que nos indica la cantidad total de enlaces en la red, el grado nos indica como se reparten esos enlaces entre los nodos. A partir del análisis de la distribución del grado se puede determinar si existen nodos más importantes que otros en la red (Fornito et al., 2016).

Por otro lado, es necesario conocer  $\langle k \rangle$ , así como  $n$ , cuando se quieren simular redes de hipótesis nula (regulares o aleatorias) para comparar la topología de la red de interés (Rubinov and Sporns, 2010). Esto es importante pues se ha visto que las propiedades de red pueden diferir entre redes con  $n$   $\langle k \rangle$  y diferentes aunque la topología subyacente sea la misma (Van Wijk et al., 2010).

Al respecto, encontramos que los ratones silvestres tienden a aumentar el grado promedio de las redes en respuesta al estímulo 1 durante la sesión de la mitad de la contingencia (sesión 20:  $10.43 \pm 0.86$ ) con respecto al inicio de la tarea (sesión 1:  $7.54 \pm 1.14$  conexiones; Figura 12a). Fuera de eso, el grado se mantiene estable y no es diferente entre genotipos o estímulos para ambos genotipos (Figura 12b, c).



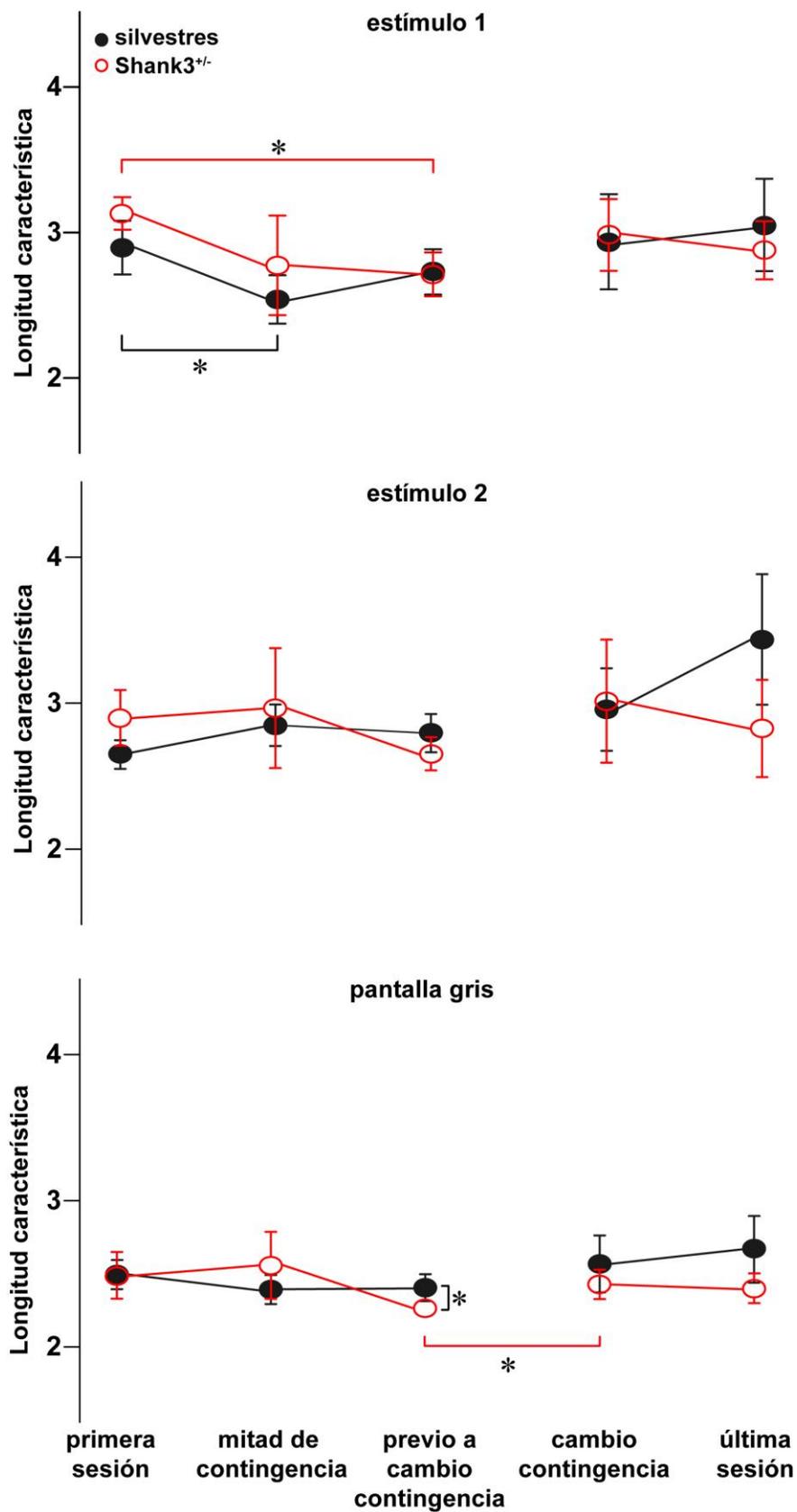
**Figura 12. Grado promedio de las redes durante el aprendizaje.** Se reporta el grado promedio  $\langle k \rangle$  de los ratones silvestres (negro) y *Shank3*<sup>+/-</sup> (rojo).  $\langle k \rangle$  para estímulo 1 (a), para el estímulo 2 (b) y para la pantalla gris (c).

## 6.5 Integración de la red: Longitud Característica

En una red modelada a partir de los registros de conectividad efectiva, la longitud característica ( $L$ ) representaría el número promedio de sinapsis necesarias para conectar a dos neuronas cualesquiera dentro de la red (Fornito et al., 2016). Sin embargo, los resultados aquí presentados se computaron basándose en conectividad funcional, por lo tanto, la interpretación de esta métrica es más compleja. Dentro del contexto de redes que representan la interacción funcional entre regiones del cerebro, la longitud característica es una medida que se relaciona con la integración funcional de la red. Esta integración funcional se refiere, por lo tanto, a “la habilidad para combinar información especializada de regiones cerebrales distribuidas” (Rubinov and Sporns, 2010). Bajo esta misma premisa, podemos entender a la longitud característica como una aproximación de la eficiencia con la que se puede propagar la información entre las neuronas de la red.

Evaluando la longitud característica de nuestros datos, observamos que la capacidad de integración de las redes es indistinguible si comparamos entre genotipos tanto para el estímulo 1 y estímulo 2. Sin embargo, observamos que  $L$  disminuye en los ratones silvestres a la mitad de la contingencia ( $2.54 \pm 0.11$ ) con respecto a la primera sesión ( $2.89 \pm 0.15$ ) (Figura 13a). Para los ratones *Shank3*<sup>+/-</sup> esta disminución se presenta en la sesión previa al cambio de contingencia ( $2.87 \pm 0.10$ ) respecto a la primera sesión ( $3.12 \pm 0.07$ ) (Figura 13a). En la segunda fase de la tarea, posterior al cambio de contingencia,  $L$  permanece constante para ambos genotipos. Asimismo, las redes que se forman en respuesta al estímulo 2 mantienen una longitud característica estable a lo largo de toda la tarea (Figura 13b).

Interesantemente, la longitud de las redes que se forman durante la pantalla gris es menor en los ratones *Shank3*<sup>+/-</sup> ( $2.40 \pm 0.04$ ) respecto a los silvestres ( $2.26 \pm 0.02$ ) en la sesión previa al cambio de contingencia (Figura 13c). La pantalla gris mantiene una longitud característica menor que la de los estímulos durante toda la tarea para ambos genotipos. Sin embargo, encontramos que en los ratones *Shank3*<sup>+/-</sup> incrementa la longitud característica entre la sesión previa al cambio de contingencia ( $2.26 \pm 0.02$ ) y la primera sesión de la segunda contingencia ( $2.42 \pm 0.07$ ; Figura 13c).



**Figura 13. Longitud característica de la red en el aprendizaje.** Se muestra la longitud característica de las redes modeladas de ratones silvestres (negro) y *Shank3*<sup>+/-</sup> (rojo). Longitud característica del estímulo 1 (a), del estímulo 2 (b) y de la pantalla gris (c). Kruskal Wallis test, \* p=0.043

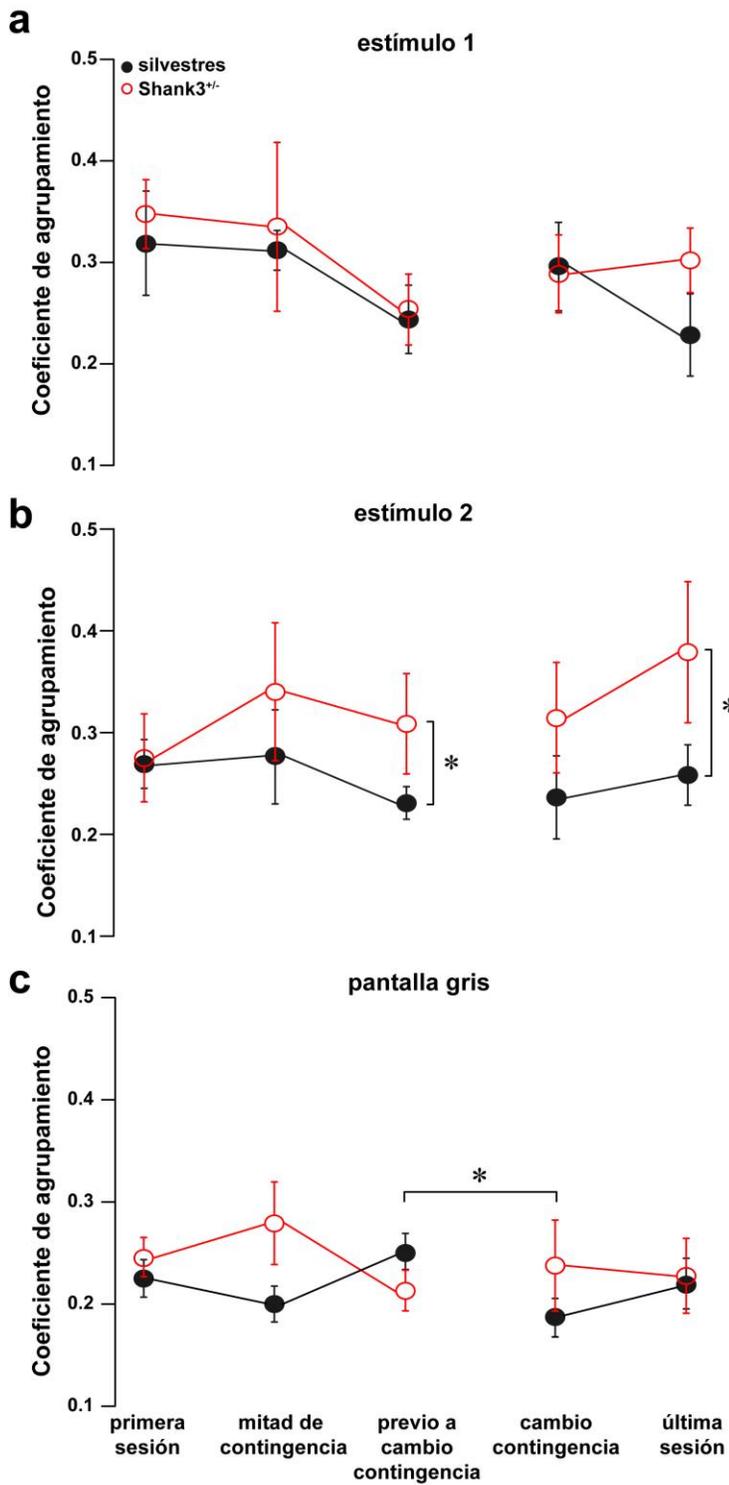
## 6.6 Segregación de la red: Coeficiente de agrupamiento

El coeficiente de agrupamiento ( $C$ ) se puede entender como “la probabilidad de que los vecinos de un nodo estén conectados entre sí” (Van Wijk et al., 2010). Esta métrica nos indicaría que tan probable es que dos neuronas estén relacionadas cuando ambas están conectadas a una tercera neurona. Hablando de redes cerebrales funcionales, esta medida también puede interpretarse como la “segregación funcional de una red en módulos altamente interconectados con un procesamiento especializado” (Rubinov and Sporns, 2010).

El  $C$  del estímulo 1 presenta una tendencia a disminuir con el aprendizaje en la primera contingencia tanto para los ratones silvestres (sesión 1:  $0.31 \pm 0.044$ ; sesión 40:  $0.24 \pm 0.02$ ) como para los *Shank3<sup>+/-</sup>* (sesión 1:  $0.347 \pm 0.030$ ; sesión 40:  $0.254 \pm 0.031$ ), sin embargo, dada la dispersión de los datos, no encontramos diferencias significativas (Figura 14a). Posteriormente con el cambio de contingencia, el  $C$  de los ratones silvestres tiende a aumentar (sesión 41:  $0.29 \pm 0.03$ ), mientras que para los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* se mantiene estable (Figura 14a).

Con relación a la segregación funcional de las redes del estímulo 2, las de los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* (s40:  $0.308 \pm 0.044$ ; s60:  $0.379 \pm 0.034$ ) están más agrupadas que las redes de los ratones silvestres (s40:  $0.230 \pm 0.010$ ; s60:  $0.258 \pm 0.013$ ) al final de cada una de las contingencias (s40: Mann–Whitney  $U=1.0$ ,  $n_1=5$ ,  $n_2=4$ ,  $p=0.031$ ; s60: Mann–Whitney  $U=1.0$ ,  $n_1=5$ ,  $n_2=4$ ,  $p=0.031$ ) (Fig. 14b). Por otra parte, el coeficiente de agrupamiento de las redes asociadas al estímulo 2, no cambia de forma significativa para ninguno de los genotipos (Figura 14b).

Finalmente, encontramos que  $C$  disminuye en los ratones silvestres en respuesta a la pantalla gris después del cambio de contingencias (sesión 40:  $0.250 \pm 0.013$ , sesión 41:  $0.187 \pm 0.014$ ). En contraste, las redes basales de los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* no responden al cambio de contingencia.



**Figura 14. Coeficiente de agrupamiento.** Se muestra la evolución temporal del coeficiente de agrupamiento de ratones silvestres (negro) y Shank3<sup>+/-</sup> (rojo). Coeficiente de agrupamiento del estímulo 1 (a), del estímulo 2 (b), y de la pantalla gris (c). Mann-Whitney test \* $p=0.037$  (b), Kruskal Wallis test \* $p=0.028$  (c).

## 6.7 Mundo pequeño

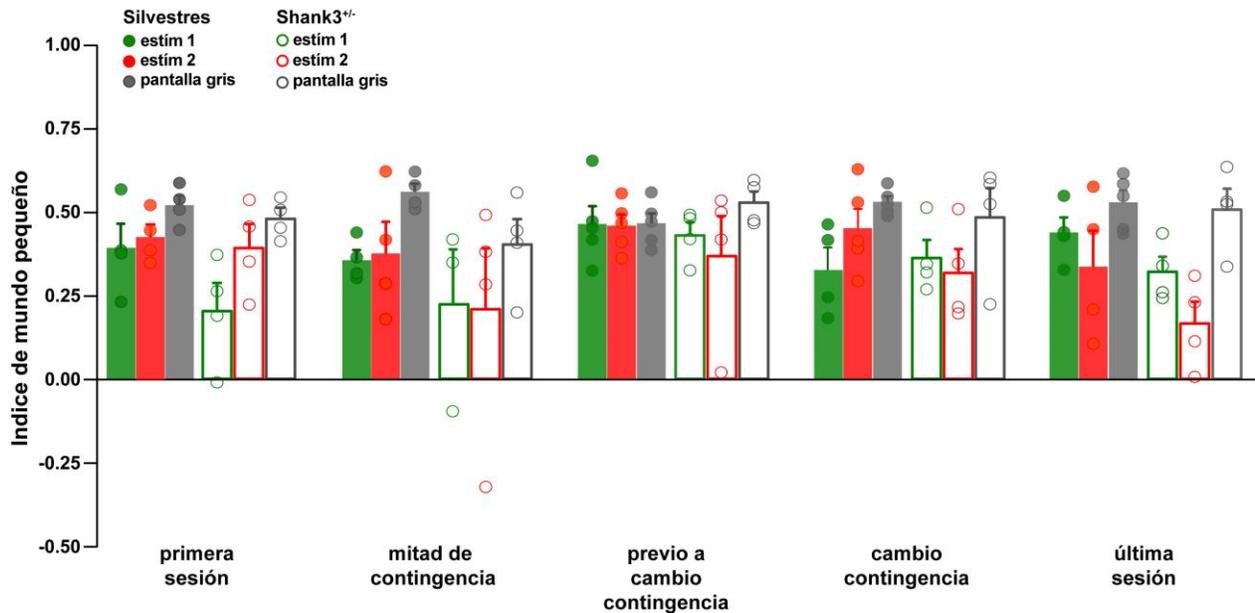
Una red de mundo pequeño está conformada por módulos funcionalmente segregados conservando una alta capacidad de integración por medio de enlaces intramodulares (Rubinov and Sporns, 2010). Por lo tanto, la estructura de mundo pequeño es una amalgamación entre las características de una red con una estructura aleatoria ( $L$  pequeña) y de una red con una estructura regular ( $C$  considerable).

Uno de los criterios para determinar si una red cumple con la propiedad de mundo pequeño consiste en comparar su longitud característica y coeficiente de agrupamiento contra aquellos de una red de hipótesis nula de tipo aleatoria (Humphries and Gurney, 2008). Sin embargo, esta estrategia complica la comparación entre redes, ya que se obtiene un resultado categórico: la red es o no es de mundo pequeño. Por esta razón se optó por utilizar el índice de mundo pequeño propuesto por She et al. (2016), que compara las propiedades de la red contra aquellas de una red aleatoria y una regular. De acuerdo con este índice, una red aleatoria tendría un índice de mundo pequeño ( $I_{sw}$ ) cercano a 1 y de forma complementaria una red regular tendría un  $I_{sw}$  cercano a -1. Una red con estructura de mundo pequeño se encontraría cerca de la mitad de esta escala con  $I_{sw} \approx 0$ .

Analizando nuestros datos, no encontramos diferencias significativas en ninguno de los genotipos a lo largo del aprendizaje, aunque muestra tendencias que podrían sugerir cambios en esta propiedad. En el caso de los silvestres, parece que el  $I_{sw}$  del estímulo 1 disminuye con el cambio de contingencia (sesión 40:  $0.465 \pm 0.053$ ; sesión 41:  $0.327 \pm 0.067$ ). En el caso de los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>*, el cambio más evidente ocurre con el sobreentrenamiento, donde registramos una tendencia en el incremento del  $I_{sw}$  para el estímulo 1 en la sesión previa al cambio de contingencia (sesión 40:  $0.430 \pm 0.037$ ) en comparación a la primera sesión (sesión 1:  $0.204 \pm 0.080$ ) (**Figura 15**).

Para el estímulo 2 no encontramos diferencias significativas para ninguno de los genotipos. Sin embargo, encontramos una tendencia a disminuir el  $I_{sw}$  en la mitad de la contingencia (sesión 20:  $0.210 \pm 0.182$ ) en comparación a la primera sesión ( $0.392 \pm 0.067$ ), esta misma tendencia la observamos en la segunda contingencia, cuando comparamos la sesión de cambio de contingencia ( $0.318 \pm 0.071$ ) y la última sesión ( $0.166 \pm 0.066$ ). Respecto a la pantalla

gris, no observamos cambios aparentes en ninguna sesión de la tarea para ambos genotipos (Figura 15).



**Figura 15. Índice de mundo pequeño.** Las redes con un  $I_{sw}$  cercano a 1 tendrían una topología principalmente aleatoria, aquellas con un  $I_{sw}$  cercano a -1 serían redes principalmente regulares y finalmente aquellas con un  $I_{sw} \approx 0$  corresponderían a una topología de mundo pequeño. Las barras representan la Media  $\pm$  E.E., los círculos el índice para cada ratón.

## 7. Discusión

En el presente trabajo se analizó la estructura de las redes de neuronas registradas en la corteza visual primaria de ratones silvestres y *Shank3<sup>+/-</sup>* (modelo genético de TEA) durante una tarea de discriminación visual con sobre-especificidad del aprendizaje. Se examinaron las diferencias de tres variables principales: genotipo, sesión de entrenamiento y evento conductual. En primer lugar, encontramos diferencias entre genotipos. Estas diferencias se encuentran en etapas puntuales del aprendizaje para distintas propiedades de la red. Respecto al segundo eje, encontramos que el aprendizaje modifica las redes en ambos genotipos, sin embargo, los patrones de evolución de las redes difieren entre genotipos. Finalmente, a pesar de la presencia de tendencias que sugieren que las redes cambian entre estímulos, la evidencia presentada no es suficiente para afirmar que las redes entre neuronas de V1 son funcionalmente diferentes para cada uno de los eventos conductuales. Para confirmar o descartar estas tendencias se requieren más experimentos. Cabe mencionar, que este es el primer estudio que se hace de redes

funcionales en un modelo de TEA a nivel de neuronas individuales y con un seguimiento durante el aprendizaje.

En ratones silvestres, se observó que, durante la primera contingencia, la densidad de la red disminuye para el estímulo no recompensado, pero no cambia su longitud característica, lo cual sugiere que la red se reorganiza. Por otra parte, para el estímulo recompensado observamos que la densidad no cambia, pero la longitud característica disminuye, lo cual sugiere que la red incrementa su eficiencia. En cuanto a las redes en estado basal, es decir, que responden a un estímulo neutro (pantalla gris), se mantienen estables a lo largo del aprendizaje.

Por el contrario, en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* los cambios significativos fueron encontrados en la sesión previa al cambio de contingencia respecto a la primera sesión. En este caso, observamos que se incrementa el número de neuronas reclutadas en la red y disminuye la longitud característica para el estímulo recompensado. Estos cambios se presentan como resultado del sobre-especificidad del aprendizaje, puesto que este efecto sólo aparece en la última sesión de la primera contingencia. Esto implicaría que la sobre-especificidad no sólo facilita el flujo de información entre neuronas, sino que además este procesamiento tiene un mayor alcance al reclutar más neuronas. Además, encontramos que la longitud característica aumenta en el cambio de contingencia. Por lo tanto, suponemos que en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* el cambio de contingencias representa un cambio más drástico en la red respecto a los ratones silvestres.

El aprendizaje aumenta la eficiencia, al disminuir la longitud característica, en ambos genotipos. Mas, este fenómeno ocurre en diferentes temporalidades, puesto que para los ratones silvestres 20 sesiones son suficientes para que ocurra esta reestructuración, mientras que en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* no ocurre hasta la sesión 40. En ambos casos podemos considerar que ocurre una reestructuración de las conexiones. En el caso de los ratones silvestres, esta afirmación está sustentada ya que el número de nodos y enlaces no cambia para estas redes durante este período. Si bien, los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* sí aumentan el número de neuronas reclutadas en la red, y la longitud característica es dependiente del tamaño de la red (Van Wijk et al., 2010), este cambio en la longitud característica no está relacionado al aumento del tamaño de la red ya que lo esperado sería que la longitud característica aumentara. Por esta razón, el efecto de reducción de la longitud característica que vemos en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* no se debe al aumento de nodos

de la red, sino a una reestructuración de esta. Esta eficiencia se mantiene aún después del cambio de contingencia hasta el final de la tarea.

Por otro lado, los ratones silvestres disminuyen la cantidad de conexiones para el estímulo no recompensado, mientras que los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* presentan una densidad baja para este estímulo desde el inicio. En el caso de las redes silvestres podríamos estar hablando de un proceso de refinamiento ante un estímulo con una valencia neutra. En nuestro modelo de TEA parece no ser necesario este proceso. También encontramos diferencias puntuales entre genotipos para el coeficiente de agrupamiento en una misma fase del entrenamiento, específicamente para el estímulo no recompensado. Para el final tanto de la primera como de la segunda contingencia, los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* presentan redes más segregadas que las de los ratones silvestres. Retomando la idea de que el coeficiente de agrupamiento sugiere un procesamiento especializado en módulos interconectados, una posible explicación es que se estén procesando propiedades individuales del estímulo codificadas en V1, como orientación, frecuencia, dirección, contraste (Elstrott and Feller, 2009; Lee et al., 2009; Rochefort et al., 2011; Glickfeld et al., 2013; Scholl et al., 2013; Sun et al., 2016) o la probabilidad de predecir el estímulo incondicionado, en unidades de procesamiento como podrían ser los ensambles neuronales (Carrillo-Reid et al., 2019). Un análisis de la modularidad de la red sería pertinente para explorar esta idea.

Finalmente, un hallazgo inesperado es que el cambio de contingencia afecte las redes que se establecen durante el período interensayo. En el caso de los ratones silvestres, el coeficiente de agrupamiento disminuye y en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* la longitud característica aumenta. Una posible explicación es que el cambio de contingencia actúa como una perturbación de las redes ya establecidas. Quizá esta perturbación es lo suficientemente saliente como para aumentar la duración del procesamiento del estímulo de forma que siga reverberando la información durante el período entre ensayos.

Dado que estas redes se forman en V1 en ausencia de estimulación, podemos considerarlas como el estado basal del sistema. Entonces, las redes que se forman durante los estímulos son representaciones del mismo sistema en diferentes estados. Una posible explicación de por qué el cambio de contingencia afecta las redes basales y no las de los estímulos, es que la principal diferencia entre estos dos estados, la predicción de la recompensa está siendo alterada. En este sentido, las entradas sensoriales están compitiendo con el modelo predictivo generado y

consolidado durante las 40 sesiones previas. Por lo tanto, se vuelve difusa la línea que separa estos dos estados y las alteraciones terminan reflejándose en la base común del sistema.

Esto tiene sentido especialmente con lo que ocurre en los ratones silvestres, pues al disminuir el coeficiente de agrupamiento pareciera que las unidades de procesamiento especializado que se formaron durante el aprendizaje se están desacoplando, lo que daría la flexibilidad para crear nuevas unidades con el nuevo aprendizaje. Si bien en los *Shank3<sup>+/-</sup>* no ocurre este fenómeno y se conserva el grado de segregación, la integración sí se ve afectada. Pareciera que esta perturbación sobrecarga las redes y entorpece la integración de la información.

### ***¿Cómo encajan estos resultados en la teoría de hipo/hiperconectividad?***

Alteraciones en la conectividad del cerebro de individuos con TEA en comparación con individuos con desarrollo típico han sido reportadas en estudios con técnicas macroscópicas funcionales de registro como PET, SPECT y fMRI (Belmonte et al., 2004; Courchesne and Pierce, 2005; Kana et al., 2011; O'Reilly et al., 2017). Siguiendo este marco contextual se encontró una falta de sincronización entre diversas regiones, en especial entre la corteza frontal y las cortezas parietal y occipital (en respuesta a una gran diversidad de tareas), anormalidades volumétricas y de integridad en la materia blanca, así como una hipoactividad en regiones integradoras (Belmonte et al., 2004; Kana et al., 2011). Este es un resumen del sustento de la hipótesis de hipoconectividad entre estructuras como modelo explicativo del TEA.

Por otro lado, la evidencia experimental que apoya la hipótesis de la hiperconectividad local en el TEA se basa principalmente en alteraciones estructurales o registros *ex vivo*. Se han señalado alteraciones en la citoarquitectura de pacientes con TEA, pues se ha encontrado que presentan un crecimiento anormal de las proyecciones locales de la materia blanca, principalmente en regiones frontales (Belmonte et al., 2004), además de alteraciones en la cantidad y dimensiones de las minicolumnas de la corteza (Casanova et al., 2002; Kana et al., 2011). En un modelo de delección del receptor tipo tirosina cinasa MET se reportó una hiperconectividad en los circuitos corticales de la corteza del cíngulo anterior (Qiu et al., 2011), interpretándose la hiperconectividad como el aumento de la amplitud de los inputs sinápticos.

A pesar de la sugerencia de que la conectividad local debería estar exacerbada por el aumento de proyecciones locales, en nuestros resultados no encontramos diferencias en el número de conexiones funcionales entre genotipos (**Figura 11**). Sin embargo, sí encontramos diferencias que sugieren una organización diferencial de estas conexiones funcionales entre neuronas.

Se teoriza que el aumento del número de mini columnas, las cuales son más estrechas, pero con una mayor densidad de neuronas implicaría un desbalance en la excitación/inhibición de los circuitos corticales. Al aumentar la excitación local sería posible que se ocasione un nivel más alto de ruido dentro de la unidad de procesamiento que representan las mini columnas, lo que disminuiría la especificidad de la red (Kana et al., 2011). Sin embargo, lo que nosotros encontramos es que a nivel conductual nuestro modelo es mejor discriminando los estímulos (Jiménez Márquez, 2019) y a nivel de redes se sugiere un procesamiento más especializado que el observado en ratones silvestres.

Según la teoría de la Coherencia Central Débil, las personas con TEA presentan dificultades para integrar propiedades independientes para darle sentido a la información (Belmonte et al., 2004; Kana et al., 2011). De acuerdo con esta teoría, existiría un sesgo preferencial por el procesamiento especializado de características individuales. A pesar de que no encontramos diferencias en la longitud característica entre genotipos, sí las hay en el coeficiente de agrupamiento (**Figura 14**). Por lo tanto, pareciera que se están formando grupos de procesamiento especializado que, sin embargo, aún son capaces de integrar la información a nivel local. Esto nos indicaría que la conectividad a nivel local en nuestro modelo de TEA perpetúa este sesgo por el procesamiento de características particulares de la información, aunque mantiene la integración dentro de esta red local.

Tal como se sugirió anteriormente, trabajos previos del laboratorio indican que efectivamente se forman más ensamblajes entre las neuronas de los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* (Jiménez Márquez, 2019). Estos podrían estar funcionando como unidades especializadas de procesamiento como sugiere la mayor segregación de la información encontrada en este trabajo. Así mismo, la cantidad de neuronas que responden a los estímulos, pero que sin embargo no presentan una selectividad exclusiva por uno u otro estímulo, es menor en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* en comparación con los silvestres en la última sesión del entrenamiento (Jiménez Márquez, 2019). Esto es

congruente con que justamente en esta sesión el coeficiente de agrupamiento es más alto en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>*, por lo cual tiene sentido inferir que al haber menos neuronas que responden flexiblemente a información de diferentes estímulos, los grupos de procesamiento se vuelven más especializados.

A pesar de que se sugiere que en los individuos con TEA las entradas sensoriales “*Bottom-Up*” tienen más peso al momento de procesar la información (Kana et al., 2011), resultados previos del laboratorio parecen indicar que, al menos en nuestro modelo, existe un sesgo por las señales “*Top-Down*”. De acuerdo con los resultados específicos para este modelo, tanto en trabajos anteriores, así como en el presente, tendría sentido pensar que los ratones forman un modelo predictivo desde la etapa temprana de la tarea y que este modelo se mantiene resistente a las modificaciones por el resto de la tarea. El aumento en la longitud característica como consecuencia del cambio de contingencia podría entorpecer la integración de la información “*Bottom-Up*” contradictoria e impedir la actualización del modelo interno ya establecido en nuestros animales *Shank3<sup>+/-</sup>*.

### ***Redes Complejas en el cerebro: Mundo pequeño***

A pesar de que la propiedad de mundo pequeño está presente en redes cerebrales obtenidas a partir de resonancia magnética funcional (Van Wijk et al., 2010; Feldt et al., 2011), los resultados aquí mostrados parecen indicar que esta propiedad está ausente a nivel de redes intracorticales, o al menos entre neuronas de la misma capa (**Figura 15**). Sin embargo, estas redes no llegan a ser completamente aleatorias. Recordando que las redes aleatorias se caracterizan por una longitud característica corta, mientras que la característica las redes regulares es un alto coeficiente de agrupamiento (Watts and Strogatz, 1998), el índice de mundo pequeño hace una comparación entre nuestra red real y las redes de hipótesis nula correspondientes (She et al., 2016). Esto nos indica que las redes que se forman entre las neuronas de la capa 2/3 de la corteza visual primaria de los ratones silvestres presentan una alta integración funcional y baja segregación funcional. Esto podría sugerir que, aunque diferentes grupos de neuronas pueden codificar preferentemente diversas propiedades de los estímulos como contraste, orientación o dirección, parece que no se forman grupos especializados de neuronas que procesen de forma colectiva estas propiedades individuales, dándole preferencia a la integración de esta información. Una posible explicación es que V1 ya es un área cortical especializada en el

procesamiento de información visual y podría ser que las redes intracorticales que se forman actúan como un solo módulo de procesamiento embebido dentro de una red mayor, dando como resultado una red local con preferencia por la integración de la información y baja segregación funcional.

### ***Limitaciones***

La conectividad funcional se establece a partir de dependencias estadísticas, es decir, bajo este paradigma, existe un enlace entre dos neuronas cuando se puede predecir la actividad de una neurona a partir de la actividad de la otra (Feldt et al., 2011). Sin embargo, esta aproximación tiene varias limitaciones, principalmente que no nos permite hacer inferencias sobre los mecanismos físicos por los cuales estas neuronas están relacionadas. Tampoco nos aporta información sobre la causalidad o direccionalidad de estas dependencias estadísticas. Estas limitaciones deben de tomarse en cuenta al discutir las diferentes propiedades de la red.

El gran problema para interpretar la longitud característica en redes funcionales es que los caminos entre nodos son “secuencias de asociaciones estadísticas” que no necesariamente reflejan las conexiones anatómicas reales detrás de estas (Rubinov and Sporns, 2010). Por esta razón no se puede establecer un correlato directo con el flujo de información a través de las conexiones anatómicas y es complicado el interpretar esta métrica. Un fenómeno que contribuye a este problema es el efecto de “terceros” (Fornito et al., 2016), en cuál se infiere erróneamente que dos nodos están conectados cuando su actividad está correlacionada debido a la conexión con un tercer nodo en común. Este efecto puede influir tanto el coeficiente de agrupamiento como en la longitud característica. Sin embargo, una de las ventajas de usar correlaciones parciales para construir la matriz de adyacencia es que toma en cuenta la varianza compartida con otros elementos del sistema, lo que limita o incluso elimina la presencia de este fenómeno (Fornito et al., 2016). Por otro lado, esta metodología tiene la desventaja de que puede reducir artificialmente el coeficiente de agrupamiento.

El coeficiente de agrupamiento es una medida de la conectividad agrupada alrededor de nodos individuales. En redes modeladas a partir de registros funcionales esta medida puede estar sobreestimada debido a que está normalizado por nodo, por lo que los nodos con un grado bajo tendrían un C alto (Rubinov and Sporns, 2010). En nuestras redes, el grado promedio no es

diferente entre genotipos en ninguna condición, por lo que podemos descartar que las diferencias que observamos en el C entre genotipos estén influenciadas por un efecto del grado.

Así mismo, dado que la propiedad de mundo pequeño depende tanto de la longitud característica como del coeficiente de agrupamiento, las limitaciones de ambas métricas también aplican para esta propiedad.

Comparar medidas de redes diferentes trae consigo su propio conjunto de dificultades. Empezando por que las medidas que se usan para describir la topología de red son sensibles al número de nodos (N) y el grado promedio  $\langle k \rangle$  (Van Wijk et al., 2010). Sin embargo, para las redes analizadas no existen diferencias en  $\langle k \rangle$  y N entre genotipos, por lo que podemos descartar un efecto de estos parámetros en las diferencias que encontramos entre topologías. Además, las redes se modelaron usando el mismo procedimiento y parámetros para todos los registros considerados dentro de este trabajo, por lo que podemos descartar la presencia de sesgos.

Por último, los registros utilizados se extienden apenas unos cientos de micrómetros (425x425  $\mu\text{m}$ ), y dentro de una sola capa de la corteza. Sin embargo, consideramos que las neuronas muestreadas son representativas de la actividad de la corteza visual primaria. Si bien sería interesante estudiar la conectividad a lo largo del arreglo columnar de la corteza, se ha reportado que las colaterales axonales proximales de las neuronas piramidales tienen una arborización más local (Bock et al., 2011).

## 8. Perspectivas

El presente trabajo fue principalmente de carácter exploratorio con el objetivo de caracterizar las propiedades principales de las redes en un modelo de trastorno del neurodesarrollo y en desarrollo típico a lo largo del aprendizaje. Sin embargo, los resultados son prometedores y abren la puerta a muchas interrogantes interesantes que valdría la pena explorar. Las redes complejas involucran una gran cantidad de nodos, siendo común encontrar redes con miles o millones de nodos, por lo que el análisis de estas redes deja de lado el enfoque en nodos particulares y se concentra más bien en propiedades estadísticas de la red (Boccaletti et al., 2006). Sin embargo, una de las ventajas de tener una red compleja con una N en el orden de  $10^2$  es que existe la oportunidad de analizar propiedades de nodos individuales. Aprovechando el hecho de que la base de datos utilizada es un registro crónico de la misma población de neuronas,

una de las preguntas que se podrían responder a futuro es si las propiedades como grado, coeficiente de agrupamiento o intermediación de neuronas individuales cambia o es constante durante el aprendizaje. Otro posible enfoque dentro de este tema de investigación sería indagar el papel dentro de la red de las neuronas selectivas a los estímulos presentados y observar los cambios que puedan presentarse durante el aprendizaje. Tomando en cuenta que las neuronas con una centralidad mayor integran información de múltiples neuronas lo que esperaríamos es que estas neuronas centrales no tengan selectividad y que probablemente sean interneuronas (Bock et al., 2011; Feldt et al., 2011). Para este set de datos en particular no se realizaron experimentos de selectividad a la orientación, dirección o contraste, pero es una opción que se puede considerar para grupos experimentales futuros.

De trabajos previos, sabemos que los ensambles de los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* son más fiables y selectivos (Jiménez Márquez, 2019), sería interesante realizar análisis de resiliencia en las redes de estos ratones para averiguar si existen diferencias en la resiliencia de las redes entre genotipos. Si el éxito en el procesamiento de la información depende de la respuesta fiable de estos módulos de procesamiento, podríamos esperar que las redes de *Shank3<sup>+/-</sup>* sean menos resilientes que las redes silvestres.

Finalmente, a pesar de que predominan las características de una red aleatoria en las redes modeladas, no podemos descartar una organización de tipo libre de escala. Resultados preliminares sugieren que la distribución de la intermediación de las neuronas no es uniforme, lo que sugeriría la presencia de *hubs* en las redes que se forman en la corteza visual primaria del ratón, tanto silvestres como en ratones heterocigotos *Shank3<sup>+/-</sup>*.

## 9. Conclusiones

Las redes intracorticales de la corteza visual primaria son altamente dinámicas, tanto para animales silvestres como *Shank3<sup>+/-</sup>*. Además, presentan una alta variabilidad entre sujetos, por lo que, a pesar de que existen cambios, estos no siempre son generalizables.

Las redes de los animales silvestres se modifican con el aprendizaje después de 20 sesiones, es decir, cuando los animales empiezan a discriminar satisfactoriamente el estímulo recompensado del neutro. Por otro lado, en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>*, las diferencias en la red se presentan como consecuencia de la sobre-especificidad del aprendizaje.

En ambos genotipos el cambio de contingencia altera las redes basales de V1, sin embargo, lo hace de formas diferentes. Pareciera que en los ratones silvestres se reestructuran para permitir la formación de nuevas unidades de procesamiento, mientras que en los ratones *Shank3<sup>+/-</sup>* se entorpece la integración de las entradas sensoriales contradictorias.

## 10. Referencias

- Alexandrov PN, Zhao Y, Jaber V, Cong L, Lukiw WJ (2017) Deficits in the proline-rich synapse-associated Shank3 protein in multiple neuropsychiatric disorders. *Frontiers in neurology*:670.
- Amaral DG (2011) The promise and the pitfalls of autism research: an introductory note for new autism researchers. *Brain research* 1380:3-9.
- Association AP (2013) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®): American Psychiatric Pub.
- Baum SH, Stevenson RA, Wallace MT (2015) Behavioral, perceptual, and neural alterations in sensory and multisensory function in autism spectrum disorder. *Progress in neurobiology* 134:140-160.
- Belmonte MK, Cook E, Anderson GM, Rubenstein JL, Greenough WT, Beckel-Mitchener A, Courchesne E, Boulanger LM, Powell SB, Levitt PR (2004) Autism as a disorder of neural information processing: directions for research and targets for therapy. *Molecular psychiatry* 9:646-663.
- Berezovskii VK, Nassi JJ, Born RT (2011) Segregation of feedforward and feedback projections in mouse visual cortex. *Journal of Comparative Neurology* 519:3672-3683.
- Boccaletti S, Latora V, Moreno Y, Chavez M, Hwang D-U (2006) Complex networks: Structure and dynamics. *Physics reports* 424:175-308.
- Bock DD, Lee W-CA, Kerlin AM, Andermann ML, Hood G, Wetzell AW, Yurgenson S, Soucy ER, Kim HS, Reid RC (2011) Network anatomy and in vivo physiology of visual cortical neurons. *Nature* 471:177-182.
- Bozdagi O, Sakurai T, Papapetrou D, Wang X, Dickstein DL, Takahashi N, Kajiwara Y, Yang M, Katz AM, Scattoni ML, Harris MJ, Saxena R, Silverman JL, Crawley JN, Zhou Q, Hof PR, Buxbaum JD (2010) Haploinsufficiency of the autism-associated Shank3 gene leads to deficits in synaptic function, social interaction, and social communication. *Mol Autism* 1:15.
- Callaway EM (2016) Inhibitory cell types, circuits and receptive fields in mouse visual cortex. *Micro-, Meso- and Macro-Connectomics of the Brain*:11-18.
- Carrillo-Reid L, Han S, Yang W, Akrouh A, Yuste R (2019) Controlling visually guided behavior by holographic recalling of cortical ensembles. *Cell* 178:447-457. e445.
- Casanova MF, Buxhoeveden DP, Switala AE, Roy E (2002) Minicolumnar pathology in autism. *Neurology* 58:428-432.
- Church BA, Rice CL, Dovgopoly A, Lopata CJ, Thomeer ML, Nelson A, Mercado E (2015) Learning, plasticity, and atypical generalization in children with autism. *Psychonomic Bulletin & Review* 22:1342-1348.
- Cooke SF, Bear MF (2015) Visual recognition memory: a view from V1. *Current opinion in neurobiology* 35:57-65.
- Costales JL, Kolevzon A (2015) Phelan-McDermid Syndrome and SHANK3: Implications for Treatment. *Neurotherapeutics* 12:620-630.
- Courchesne E, Pierce K (2005) Why the frontal cortex in autism might be talking only to itself: local over-connectivity but long-distance disconnection. *Current opinion in neurobiology* 15:225-230.
- Dumoulin SO, Knapen T (2018) How visual cortical organization is altered by ophthalmologic and neurologic disorders. *Annual Review of Vision Science* 4:357-379.
- Elstrott J, Feller MB (2009) Vision and the establishment of direction-selectivity: a tale of two circuits. *Current opinion in neurobiology* 19:293-297.
- Fallah M, Reynolds JH (2001) Attention! V1 neurons lining up for inspection. *Neuron* 31:674-675.
- Feldt S, Bonifazi P, Cossart R (2011) Dissecting functional connectivity of neuronal microcircuits: experimental and theoretical insights. *Trends in neurosciences* 34:225-236.
- Fornito A, Zalesky A, Bullmore E (2016) *Fundamentals of brain network analysis*: Academic press.
- Glickfeld LL, Histed MH, Maunsell JH (2013) Mouse primary visual cortex is used to detect both orientation and contrast changes. *Journal of Neuroscience* 33:19416-19422.
- Goel A, Cantu DA, Guilfoyle J, Chaudhari GR, Newadkar A, Todisco B, de Alba D, Kourdougli N, Schmitt LM, Pedapati E, Erickson CA, Portera-Cailliau C (2018) Impaired perceptual learning in a mouse model

- of Fragile X syndrome is mediated by parvalbumin neuron dysfunction and is reversible. *Nat Neurosci* 21:1404-1411.
- Gonchar Y, Wang Q, Burkhalter AH (2008) Multiple distinct subtypes of GABAergic neurons in mouse visual cortex identified by triple immunostaining. *Frontiers in neuroanatomy* 2:3.
- Gouwens NW, Sorensen SA, Berg J, Lee C, Jarsky T, Ting J, Sunkin SM, Feng D, Anastassiou CA, Barkan E (2019) Classification of electrophysiological and morphological neuron types in the mouse visual cortex. *Nature neuroscience* 22:1182-1195.
- Grünert U, Martin PR (2020) Cell types and cell circuits in human and non-human primate retina. *Progress in retinal and eye research* 78:100844.
- Han Q, Kim YH, Wang X, Liu D, Zhang Z-J, Bey AL, Lay M, Chang W, Berta T, Zhang Y (2016) SHANK3 deficiency impairs heat hyperalgesia and TRPV1 signaling in primary sensory neurons. *Neuron* 92:1279-1293.
- Hansel D, van Vreeswijk C (2012) The mechanism of orientation selectivity in primary visual cortex without a functional map. *Journal of Neuroscience* 32:4049-4064.
- Henschke JU, Dylka E, Katsanevaki D, Dupuy N, Currie SP, Amvrosiadis T, Pakan JM, Rochefort NL (2020) Reward association enhances stimulus-specific representations in primary visual cortex. *Current Biology* 30:1866-1880. e1865.
- Hooks BM, Chen C (2020) Circuitry underlying experience-dependent plasticity in the mouse visual system. *Neuron* 106:21-36.
- Humphries MD, Gurney K (2008) Network ‘small-world-ness’: a quantitative method for determining canonical network equivalence. *PLoS one* 3:e0002051.
- Hübener M (2003) Mouse visual cortex. *Current opinion in neurobiology* 13:413-420.
- Jaramillo TC, Speed HE, Xuan Z, Reimers JM, Liu S, Powell CM (2016) Altered striatal synaptic function and abnormal behaviour in Shank3 exon4-9 deletion mouse model of autism. *Autism Research* 9:350-375.
- Jiang YH, Ehlers MD (2013) Modeling autism by SHANK gene mutations in mice. *Neuron* 78:8-27.
- Jiménez Márquez E (2019) Actividad neuronal en la corteza visual de ratones SHANK3<sup>+/-</sup> en respuesta a una tarea visual de sobre-especificidad. In: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Psicología, UNAM. MEXICO CITY: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Jurjut O, Georgieva P, Busse L, Katzner S (2017) Learning enhances sensory processing in mouse V1 before improving behavior. *Journal of Neuroscience* 37:6460-6474.
- Kana RK, Libero LE, Moore MS (2011) Disrupted cortical connectivity theory as an explanatory model for autism spectrum disorders. *Physics of life reviews* 8:410-437.
- Katzner S, Born G, Busse L (2019) V1 microcircuits underlying mouse visual behavior. *Current Opinion in Neurobiology* 58:191-198.
- Keehn B, Shih P, Brenner LA, Townsend J, Müller RA (2013) Functional connectivity for an “island of sparing” in autism spectrum disorder: An fMRI study of visual search. *Human brain mapping* 34:2524-2537.
- Keller AJ, Roth MM, Scanziani M (2020) Neurons in Visual Cortex are Driven by Feedback Projections when their Feedforward Sensory Input is Missing. *bioRxiv*.
- Keller D, Erö C, Markram H (2018) Cell densities in the mouse brain: a systematic review. *Frontiers in neuroanatomy* 12:83.
- Kolevzon A, Bush L, Wang AT, Halpern D, Frank Y, Grodberg D, Rapaport R, Tavassoli T, Chaplin W, Soorya L (2014) A pilot controlled trial of insulin-like growth factor-1 in children with Phelan-McDermid syndrome. *Molecular autism* 5:1-9.
- Kursula P (2019) Shanks—multidomain molecular scaffolds of the postsynaptic density. *Current Opinion in Structural Biology* 54:122-128.
- Lee PS, Foss-Feig J, Henderson JG, Kenworthy LE, Gilotty L, Gaillard WD, Vaidya CJ (2007) Atypical neural substrates of Embedded Figures Task performance in children with Autism Spectrum Disorder. *Neuroimage* 38:184-193.

- Lee S-H, Kwan AC, Zhang S, Phoumthippavong V, Flannery JG, Masmanidis SC, Taniguchi H, Huang ZJ, Zhang F, Boyden ES (2012) Activation of specific interneurons improves V1 feature selectivity and visual perception. *Nature* 488:379-383.
- Lee SJ, Escobedo-Lozoya Y, Szatmari EM, Yasuda R (2009) Activation of CaMKII in single dendritic spines during long-term potentiation. *Nature* 458:299-304.
- Lord C, Elsabbagh M, Baird G, Veenstra-Vanderweele J (2018) Autism spectrum disorder. *The lancet* 392:508-520.
- Lord C, Charman T, Cusack J, Guillaume D, Frazier T, Jones RM, Pickles A, Lounds TJ, Jeremy V-V (2020) Autism spectrum disorder (primer). *Nature Reviews: Disease Primers* 6.
- Makino H, Komiyama T (2015) Learning enhances the relative impact of top-down processing in the visual cortex. *Nat Neurosci* 18:1116-1122.
- Marco EJ, Hinkley LB, Hill SS, Nagarajan SS (2011) Sensory processing in autism: a review of neurophysiologic findings. *Pediatr Res* 69:48R-54R.
- Monteiro P, Feng G (2017) SHANK proteins: roles at the synapse and in autism spectrum disorder. *Nat Rev Neurosci* 18:147-157.
- Morimoto MM, Uchishiba E, Saleem AB (2021) Organization of feedback projections to mouse primary visual cortex. *Iscience* 24:102450.
- Newman ME (2003) The structure and function of complex networks. *SIAM review* 45:167-256.
- Niell CM (2015) Cell types, circuits, and receptive fields in the mouse visual cortex. *Annual review of neuroscience* 38:413-431.
- Ortiz-Cruz CA, Jiménez Márquez, E., Linares-García, C.I., Perera-Murcia, G.R., Ramiro-Cortés Y. (2022) Haploinsufficiency of Shank3 increases the orientation selectivity of V1 neurons. In.
- O'Reilly C, Lewis JD, Elsabbagh M (2017) Is functional brain connectivity atypical in autism? A systematic review of EEG and MEG studies. *PloS one* 12:e0175870.
- Peça J, Feliciano C, Ting JT, Wang W, Wells MF, Venkatraman TN, Lascola CD, Fu Z, Feng G (2011) Shank3 mutant mice display autistic-like behaviours and striatal dysfunction. *Nature* 472:437-442.
- Phelan K, McDermid HE (2012) The 22q13.3 Deletion Syndrome (Phelan-McDermid Syndrome). *Mol Syndromol* 2:186-201.
- Priebe NJ, McGee AW (2014) Mouse vision as a gateway for understanding how experience shapes neural circuits. *Frontiers in Neural Circuits* 8:123.
- Qiu S, Anderson CT, Levitt P, Shepherd GM (2011) Circuit-specific intracortical hyperconnectivity in mice with deletion of the autism-associated Met receptor tyrosine kinase. *Journal of Neuroscience* 31:5855-5864.
- Ramesh RN, Burgess CR, Sugden AU, Gyetvan M, Andermann ML (2018) Intermingled ensembles in visual association cortex encode stimulus identity or predicted outcome. *Neuron* 100:900-915. e909.
- Rane P, Cochran D, Hodge SM, Haselgrove C, Kennedy D, Frazier JA (2015) Connectivity in autism: a review of MRI connectivity studies. *Harvard review of psychiatry* 23:223.
- Reim D, Schmeisser MJ (2017) Neurotrophic factors in mouse models of autism spectrum disorder: focus on BDNF and IGF-1. *Translational Anatomy and Cell Biology of Autism Spectrum Disorder*:121-134.
- Ringach DL, Mineault PJ, Tring E, Olivas ND, Garcia-Junco-Clemente P, Trachtenberg JT (2016) Spatial clustering of tuning in mouse primary visual cortex. *Nature communications* 7:12270.
- Rochefort NL, Narushima M, Grienberger C, Marandi N, Hill DN, Konnerth A (2011) Development of direction selectivity in mouse cortical neurons. *Neuron* 71:425-432.
- Rubinov M, Sporns O (2010) Complex network measures of brain connectivity: uses and interpretations. *Neuroimage* 52:1059-1069.
- Samson F, Mottron L, Soulieres I, Zeffiro TA (2012) Enhanced visual functioning in autism: an ALE meta-analysis. *Hum Brain Mapp* 33:1553-1581.
- Scholl B, Tan AY, Corey J, Priebe NJ (2013) Emergence of orientation selectivity in the mammalian visual pathway. *Journal of Neuroscience* 33:10616-10624.

- Schroeder JC, Reim D, Boeckers TM, Schmeisser MJ (2017) Genetic Animal Models for Autism Spectrum Disorder. *Curr Top Behav Neurosci* 30:311-324.
- Schwarzkopf DS, Anderson EJ, de Haas B, White SJ, Rees G (2014) Larger extrastriate population receptive fields in autism spectrum disorders. *Journal of Neuroscience* 34:2713-2724.
- Seabrook TA, Burbridge TJ, Crair MC, Huberman AD (2017) Architecture, function, and assembly of the mouse visual system. *Annual review of neuroscience* 40:499-538.
- Sharma SR, Gonda X, Tarazi FI (2018) Autism spectrum disorder: classification, diagnosis and therapy. *Pharmacology & therapeutics* 190:91-104.
- Shcheglovitov A, Shcheglovitova O, Yazawa M, Portmann T, Shu R, Sebastiano V, Krawisz A, Froehlich W, Bernstein JA, Hallmayer JF (2013) SHANK3 and IGF1 restore synaptic deficits in neurons from 22q13 deletion syndrome patients. *Nature* 503:267-271.
- She Q, Chen G, Chan RH (2016) Evaluating the small-world-ness of a sampled network: Functional connectivity of entorhinal-hippocampal circuitry. *Scientific reports* 6:1-13.
- Sporns O (2010) Networks of the brain: quantitative analysis and modeling. *Analysis and function of large-scale brain networks* 7:7-13.
- Sun W, Tan Z, Mensh BD, Ji N (2016) Thalamus provides layer 4 of primary visual cortex with orientation- and direction-tuned inputs. *Nat Neurosci* 19:308-315.
- Sztainberg, Y., Zoghbi, H. Lessons learned from studying syndromic autism spectrum disorders. *Nat Neurosci* 19, 1408–1417 (2016). <https://doi.org/10.1038/nn.4420>
- Tomchek SD, Dunn W (2007) Sensory processing in children with and without autism: a comparative study using the short sensory profile. *The American journal of occupational therapy* 61:190-200.
- Tu JC, Xiao B, Naisbitt S, Yuan JP, Petralia RS, Brakeman P, Doan A, Aakalu VK, Lanahan AA, Sheng M, Worley PF (1999) Coupling of mGluR/Homer and PSD-95 complexes by the Shank family of postsynaptic density proteins. *Neuron* 23:583-592.
- Van Wijk BC, Stam CJ, Daffertshofer A (2010) Comparing brain networks of different size and connectivity density using graph theory. *PloS one* 5:e13701.
- Vitrac A, Leblond CS, Rolland T, Cliquet F, Mathieu A, Maruani A, Delorme R, Schön M, Grabrucker AM, van Ravenswaaij-Arts C (2023) Dissecting the 22q13 region to explore the genetic and phenotypic diversity of patients with Phelan-McDermid syndrome. *European journal of medical genetics* 66:104732.
- Walinga M, Jesse S, Alhambra N, Van Buggenhout G (2023) Consensus recommendations on altered sensory functioning in Phelan-McDermid syndrome. *European journal of medical genetics* 66:104726.
- Wang S, Jiang M, Duchesne XM, Laugeson EA, Kennedy DP, Adolphs R, Zhao Q (2015) Atypical Visual Saliency in Autism Spectrum Disorder Quantified through Model-Based Eye Tracking. *Neuron* 88:604-616.
- Watts DJ, Strogatz SH (1998) Collective dynamics of 'small-world' networks. *nature* 393:440-442.
- Wilks TA, Harvey AR, Rodger J (2013) Seeing with two eyes: integration of binocular retinal projections in the brain. *Functional Brain Mapping and the Endeavor to Understand the Working Brain*:227-250.
- Yang M, Bozdagi O, Scattoni ML, Wöhr M, Roullet FI, Katz AM, Abrams DN, Kalikhman D, Simon H, Woldeyohannes L (2012) Reduced excitatory neurotransmission and mild autism-relevant phenotypes in adolescent Shank3 null mutant mice. *Journal of Neuroscience* 32:6525-6541.
- Zhang D, Yu B, Liu J, Jiang W, Xie T, Zhang R, Tong D, Qiu Z, Yao H (2017) Altered visual cortical processing in a mouse model of MECP2 duplication syndrome. *Sci Rep* 7:6468.
- Zhang Y, Zhang X (2021) Portrait of visual cortical circuits for generating neural oscillation dynamics. *Cognitive Neurodynamics* 15:3-16.
- Zhou Y, Kaiser T, Monteiro P, Zhang X, Van der Goes MS, Wang D, Barak B, Zeng M, Li C, Lu C, Wells M, Amaya A, Nguyen S, Lewis M, Sanjana N, Zhou Y, Zhang M, Zhang F, Fu Z, Feng G (2016) Mice with Shank3 Mutations Associated with ASD and Schizophrenia Display Both Shared and Distinct Defects. *Neuron* 89:147-162.

Zinoviev D (2018) Complex network analysis in Python: Recognize-construct-visualize-analyze-interpret.  
Complex Network Analysis in Python:1-200.