

INVESTIGACIÓN

Acceso abierto



El fenotipado conductual identifica estereotipias repetitivas similares al autismo en un modelo de rata con haploinsuficiencia de Tsc2

Antonia Ramme¹ , Mirjam Zachow¹ , Bettina Habelt¹ , Iveta Vojtechova² , Tomás Petrasek² , Roberto Waltereit^{3,4} y Nadine Bernhardt^{1*}

Abstracto

Además de los déficits en la comunicación e interacción social, los patrones de comportamiento repetitivo son manifestaciones fundamentales del trastorno del espectro autista (TEA). Los fenotipos son heterogéneos y pueden variar desde simples estereotipias motoras de orden inferior hasta una inflexibilidad cognitiva de orden superior más compleja e intereses fijos. Debido a la etiología multifacética del TEA, los modelos animales suelen generarse a partir de enfermedades monogénicas asociadas con el TEA, como el complejo de esclerosis tuberosa (CET), y se espera que copien los déficits conductuales centrales para aumentar el valor traslacional del modelo en la investigación del TEA y el desarrollo de nuevos tratamientos. Se ha demostrado que el modelo de rata Eker Tsc2+/- haploinsuficiente global presenta síntomas centrales del TEA en el ámbito social. Sin embargo, la presencia y el alcance de patrones de comportamiento repetitivo aberrantes en la rata Eker aún no se han investigado. Por lo tanto, el presente estudio aplicó un conjunto de pruebas conductuales para determinar el perfil conductual repetitivo en ratas Eker Tsc2+/- y utilizó análisis de neurotransmisores específicos de cada región cerebral para respaldar los hallazgos a nivel molecular. Los animales Tsc2+/- mostraron un comportamiento repetitivo de orden inferior, como un excesivo acicalamiento y la destrucción de nidos en condiciones sin estrés, que coexistió con déficits de interacción social. Sin embargo, no se detectó un comportamiento repetitivo de orden superior en las ratas Tsc2+/- . Curiosamente, las ratas Tsc2+/- mostraron mayores niveles de dopamina homeostática en la corteza prefrontal, lo que respalda la relación entre la transmisión dopaminérgica cortical aberrante y la aparición de fenotipos repetitivos de orden inferior. En conjunto, nuestros resultados respaldan a la rata Eker Tsc2+/- como modelo de comportamiento similar al TEA para una mayor investigación del desarrollo y la neurobiología relacionados con este trastorno.

Palabras clave: Trastorno del espectro autista, Complejo de esclerosis tuberosa, Comportamiento repetitivo, Rata Eker

*Correspondencia:

Nadine Bernhardt

nadine.bernhardt@uniklinikum-dresden.de

¹ Departamento de Psiquiatría y Psicoterapia, Hospital Universitario Carl

Gustav Carus, Universidad Técnica de Dresde, Dresde, Alemania

² Instituto Nacional de Salud Mental, Klecany, Chequia

³ Departamento de Psiquiatría Infantil y Adolescente, Facultad de Medicina de la Universidad Centro, Göttingen, Alemania

⁴ Universidad del Ruhr de Bochum, Bochum, Alemania



© El/Los autor(es) 2025. Acceso abierto. Este artículo está licenciado bajo una Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional, que permite el uso, intercambio, adaptación, distribución y reproducción en cualquier medio o formato, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente al/los autor(es) original(es) y a la fuente, se proporcione un enlace a la licencia Creative Commons del artículo, a menos que se indique lo contrario en una línea de crédito al material. Si el material no está incluido en la licencia Creative Commons del artículo y el uso que pretende hacer no está permitido por la regulación legal o excede el uso permitido, deberá obtener permiso directamente del titular de los derechos de autor. Para ver una copia de esta licencia, visite <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Fondo

El trastorno del espectro autista (TEA) es un trastorno del neurodesarrollo definido por déficits en dos dominios conductuales fundamentales: la interacción social y los patrones de comportamiento repetitivos [1, 2]. A pesar de una alta prevalencia global de aproximadamente el 1% [3], faltan fármacos eficaces, y las intervenciones conductuales tempranas siguen siendo la opción de tratamiento más prometedora [4]. El principal obstáculo para el desarrollo de fármacos sigue siendo la etiología compleja e incompletamente comprendida del TEA. La patogénesis de la enfermedad surge de una interacción multifacética entre diversos factores genéticos y ambientales que, en conjunto, dan lugar a una amplia heterogeneidad de síntomas en los pacientes con TEA. Además, el TEA está vinculado a más de 100 genes candidatos y una gran cantidad de factores de riesgo genéticos como reordenamientos cromosómicos y variaciones en el número de copias, con tamaños de efecto principalmente pequeños a moderados [5-9], lo que plantea un desafío adicional para generar modelos de enfermedad con alta precisión traduccional.

De manera similar, diferentes modelos transgénicos de roedores con TEA exhiben conjuntos únicos de alteraciones conductuales que se ajustan a la alta heterogeneidad etiológica y sintomática en humanos [10-12]. Si bien el comportamiento social está bien descrito en la mayoría de los modelos de roedores con TEA, las caracterizaciones de perfiles de comportamiento repetitivo se reportan con menos frecuencia. Los comportamientos repetitivos en pacientes con TEA incluyen una gama de patrones motores divididos en (a) "orden inferior" (movimientos motores estereotipados o repetitivos), (b) respuestas "orden superior" más complejas (compulsiones, insistencia en la monotonía, inflexibilidad cognitiva y adherencia a la rutina) y (c) intereses altamente restringidos como la fijación inusual de objetos [1, 13]. En modelos de TEA en roedores, los patrones repetitivos específicos de la cepa se pueden revelar mediante la aplicación de combinaciones de pruebas conductuales que cubran múltiples categorías de comportamiento.

Los modelos comúnmente usados se basan a menudo en trastornos de un solo gen asociados con TEA, como la esclerosis tuberosa (TSC) y el síndrome del cromosoma X frágil [14, 15], o genes de alto riesgo de efecto como SHANK3, NLGN3 y NLGN4, ya que ofrecen una alta validez de constructo y, por lo tanto, aumentan la relevancia [12, 16-18]. Entre las aberraciones genéticas reportadas en TEA, el gen TSC2 sigue siendo uno de los principales contribuyentes [19]. La TSC es un trastorno monogénico de inicio temprano causado por mutaciones de pérdida de función en el gen Tsc1 o Tsc2. Los pacientes presentan fenotipos neuroconductuales similares al autismo, incluyendo déficits sociales y convulsiones epilépticas [20-22], y son co-diagnosticados con TEA en hasta el 69% de los casos, lo que sugiere un vínculo genético de TEA y TSC [19, 23]. Si bien la conexión entre las alteraciones genéticas y anatómicas aún no se comprende por completo, molecularmente, se sabe que las mutaciones de Tsc1 y Tsc2 dan como resultado una mTORC1 hiperactiva (diana mamífera del complejo 1 de rapamicina), lo que interfiere con los procesos metabólicos, incluido el crecimiento celular, la proliferación, la diferenciación y la síntesis de proteínas [24]. La señalización hiperactiva de mTOR es

asociado con un deterioro del desarrollo neurológico, la plasticidad sináptica y la señalización y, por lo tanto, se correlaciona fuertemente con enfermedades del desarrollo neurológico como la epilepsia y el TEA [25, 26].

El modelo de rata Eker Tsc2+/- porta una mutación espontánea de la línea germinal del gen Tsc2 [27, 28], lo que lo convierte en una herramienta valiosa para estudiar la etiología de la TSC y sus implicaciones en el TEA [21, 29-31]. Según se informa, las ratas Eker recapitulan las anomalías cerebrales y la patología celular presentes en la TSC humana [21, 32-34], muestran plasticidad sináptica alterada [33] y presentan deterioros sociales leves pero constantes similares al autismo [35-37]. Se encontró que los déficits sociales observados mejoran la inhibición selectiva de mTORC1 en animales Tsc2+/-, lo que respalda la señalización hiperactiva de mTORC1 como un posible impulsor de las manifestaciones conductuales en el TEA [37]. Sin embargo, junto con las preocupaciones sobre la ausencia de actividad convulsiva espontánea, la falta de caracterización del comportamiento repetitivo genera un debate sobre la idoneidad de la rata Eker como modelo de TEA [21].

Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo proporcionar una caracterización ampliada del comportamiento repetitivo similar al TEA en ratas Eker Tsc2+/- exponiendo a los animales a una batería de prueba que abordaba fenotipos repetitivos de orden inferior y superior para fortalecer el valor traslacional del modelo en la investigación del TEA.

Métodos

Animales

Todos los experimentos se realizaron en la cepa de ratas heterocigotas Eker con mutación Tsc2+/- sobre un fondo Long-Evans, RRID: RGD_625624, y sus compañeros de camada de tipo salvaje (wt, Tsc2+/+) , que se utilizaron como controles. Los animales fueron criados y obtenidos del Instituto Nacional de Salud de España, Madrid, España, a las 8 semanas de edad. Se realizó aclimatación y manejo diario durante 4 semanas antes de los experimentos de comportamiento. Los animales se alojaron en parejas de 2 a 3 en jaulas estándar (Makrolon®, Tipo IV-S, Tecniplast Deutschland GmbH, Hohenpeißenberg, Alemania) en un ambiente controlado de 21 a 24 °C y una humedad promedio del 55 %, bajo un ciclo automatizado de día y noche de 12 h/12 h. Se les proporcionó alimento y agua ad libitum. Los experimentos se realizaron durante la fase tardía del día, y el peso de los animales se controló dos veces por semana.

Pruebas de comportamiento

Los experimentos de comportamiento comenzaron cuando los animales tenían 12 semanas de edad, de acuerdo con la literatura relevante sobre el comportamiento social de las ratas Eker Tsc2+/- [35]. Se utilizaron 11 ratas Tsc2+/- y 11 ratas wt, que se sometieron a la secuencia de pruebas de comportamiento y al posterior análisis post mortem. El tamaño de la muestra se calculó a priori mediante G*Power. Los grupos de genotipos incluyeron animales machos (n=6) y hembras (n=5), respectivamente. Experimentos.

se llevaron a cabo en dos cohortes de nacimiento separadas, con sexo contrapesado entre cohortes. Las pruebas y análisis experimentales fueron realizados por experimentadores entrenados y ciegos. Se utilizó una amplia batería de pruebas de comportamiento que evaluó el comportamiento repetitivo de orden inferior (prueba de enterrar canicas, prueba de trituración de nidos, prueba de confinamiento de luz y sonido, prueba de natación forzada) y superior (prueba de laberinto en T acuático). Se recopilaron lecturas adicionales para el comportamiento social (prueba de reconocimiento social), la función de recompensa (prueba de consumo de sacarosa) y la cognición (prueba de laberinto en T acuático) para informar alteraciones repetitivas del comportamiento en el contexto de anomalías ya conocidas. Las pruebas de comportamiento se realizaron en una secuencia fija que se muestra en la Fig. 1, permitiendo un mínimo de 24 h de período de descanso entre pruebas para limitar el estrés y los posibles efectos de arrastre; sin embargo, no se pueden excluir por completo las interferencias

Se distribuyeron uniformemente canicas de vidrio comerciales (de aprox. 15 mm de diámetro) sobre la mitad de la superficie de la jaula. Se permitió a los animales explorar durante 30 minutos sin alimento ni agua, tras lo cual regresaron a su jaula. Se contabilizó el número de canicas enterradas que estaban cubiertas al menos en dos tercios con material de cama [38, 39].

Prueba de trituración de Nestlet

La prueba de trituración de nidos se utilizó para detectar comportamientos repetitivos de orden inferior en condiciones sin estrés [38]. Los animales se colocaron individualmente en una jaula estándar con material de cama, material fresco para nidos y un pañuelo de papel cuadrado (5 cm × 5 cm, con un peso de 2,5 g) en la esquina opuesta. La prueba se realizó durante 30 minutos sin alimento ni agua antes de que los animales regresaran a su jaula. Posteriormente, se pesó el material restante sin triturar [38, 39].

Prueba de enterramiento de mármol

La prueba de enterramiento de canicas se utilizó para detectar estereotipias motoras de orden inferior en forma de comportamiento de excavación repetitivo en condiciones no estresantes [38, 40]. Los animales se colocaron individualmente en una jaula estándar con material de cama lleno hasta 5 cm de altura, en la que 9 limpios,

Prueba de confinamiento de luz y sonido

Se realizó una prueba de confinamiento de luz-sonido (LSC) para evaluar el comportamiento repetitivo de orden inferior en condiciones agudas de creciente estrés mediante la aplicación de estrés auditivo y visual combinado en un nuevo entorno de confinamiento. Los animales se colocaron en un tubo de plexiglás (30 cm de altura y 12 cm de diámetro) (Stoeltus Co., Irlanda) fijado a una jaula estándar y el tubo se dispuso como sigue. Se utilizó un dispositivo disponible en el mercado (SoundCore Select 2 Bluetooth Loudspeaker, Anker, Alemania) y una fuente de luz (KL 1600 LED, Schott AG, Alemania). El comportamiento de las ratas se filmó desde dos lados utilizando Many-Cam (Visicom Media Inc.) durante 30 minutos en total. Durante los primeros 10 minutos, se registró la actividad de los animales sin estresores audiogénicos o visuales, lo que refleja una condición de estrés leve aplicada a través de la nueva arena espacialmente limitada (fase previa a la prueba). Durante la siguiente fase de prueba de 10 minutos, los animales fueron expuestos a factores estresantes visuales y auditivos. Se aplicó luz a un máximo de 1400 lx combinada con ráfagas de ruido blanco (100 dB SPL, 50 ms) (programadas con Audacity versión 2.3.0 y Mat-lab versión R2019a), reproducidas con intervalos aleatorios entre estímulos de entre 10 y 20 s. Tras la eliminación de ambos factores estresantes, se registró la actividad de los animales durante otros 10 minutos (fase posterior a la prueba). Se analizó el tiempo total de acicalamiento y excavación en cada fase [41–43].

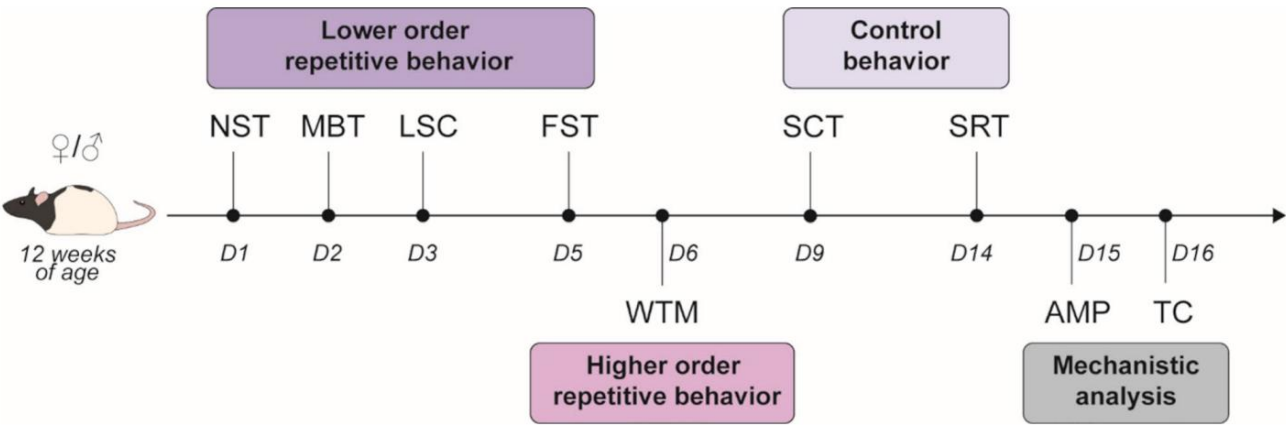


Fig. 1. Secuencia de pruebas de comportamiento. Todas las ratas Tsc2+/- y wt se sometieron a una batería secuencial de pruebas de comportamiento que incluía la prueba de trituración de nidos (NST), la prueba de enterramiento de canicas (MBT), la prueba de confinamiento de luz y sonido (LSC) y la prueba de natación forzada (FST) para revelar comportamientos repetitivos de orden inferior, y la prueba del laberinto acuático en T (WTM) para evaluar estereotipias repetitivas de orden superior. Se realizaron la prueba de consumo de sacarosa (SCT) y la prueba de reconocimiento social (SRT) para descartar que las tendencias anhedónicas influyeran en los resultados obtenidos y confirmar el contexto de deterioro social en nuestro modelo (control). Finalmente, se realizó una prueba de comportamiento estereotipado inducido por anfetaminas (AMP), seguida de la recolección de tejido (TC) para análisis post mortem. Las pruebas de comportamiento comenzaron cuando los animales de ambos sexos tenían 12 semanas de edad.

Prueba de natación forzada

Se realizó la prueba de natación forzada (FST) para medir las estrategias de afrontamiento activo en respuesta al estrés [44]. Además, se evaluó la conducta de respuesta para detectar patrones repetitivos. Para la habituación, los animales se colocaron individualmente en un cilindro de vidrio (60 cm de altura, 24 cm de diámetro) lleno de agua a 23 ± 1 °C hasta una altura de 30 cm durante 15 minutos. Posteriormente, se secaron bajo una fuente de luz roja (lámpara de luz roja SIL-6, Beurer, Hans Dinslage GmbH, Alemania) y se devolvieron a su jaula. Después de 24 horas, se realizó una prueba en agua a 40 cm de altura y se registró su actividad durante 5 minutos. El tiempo total de inmovilidad por animal se determinó mediante el software EthoVision® XT (Noldus Information Technology, Países Bajos) [45, 46].

Además, un experimentador capacitado evaluó manualmente los posibles patrones repetitivos de escalada y la posible natación circular repetida e ininterrumpida se evaluó en la función de mapa de calor de EthoVision.

Laberinto de agua en forma de T

La prueba del laberinto acuático en T (WTM) se realizó para detectar comportamientos repetitivos de orden superior, así como para evaluar el aprendizaje y la memoria [47]. El experimento se realizó en una piscina en forma de T (Maze Engineers, Conduct Science®, EE. UU.) llena de agua opaca a 23 ± 1 °C (blanco de titanio XSL, pigmentos Kremer, Alemania), que constaba de un tallo largo (L 70 cm, W 15,5 cm, H 46 cm) que se bifurca en dos brazos (L 121 cm × W 15,5 cm × H 46 cm).

Se colocó aleatoriamente una plataforma transparente (15,5 cm x 15,5 cm, 24 cm de altura) en uno de los dos brazos del laberinto en T y se sumergió 1 cm por debajo del nivel del agua. El primer día (fase de adquisición), se entrenó a los animales para que encontraran la posición de la plataforma en un brazo fijo. Se les colocó en el brazo inicial y se les permitió elegir la dirección al llegar al final del vástago. Una vez que el animal alcanzaba cualquiera de los brazos en un período de prueba de 60 s, se cerraba el brazo con una puerta de plexiglás (47 cm × 20 cm), confinándolo durante 5 s antes de ser trasladado a una jaula de retención durante 10 s y repetir la prueba. El entrenamiento se repitió hasta que el animal eligiera el brazo correcto y escapara a la plataforma en cinco ensayos consecutivos.

El segundo día, 24 horas después, los animales fueron entrenados nuevamente repitiendo el procedimiento de prueba del día anterior (fase de repetición). Una vez completado el aprendizaje de la posición, la plataforma se cambió al brazo opuesto del laberinto en T y se repitió el procedimiento de prueba descrito (prueba de inversión). Durante cada período de espera fuera del laberinto, los animales se secaron bajo una fuente de luz roja (lámpara de luz roja SIL-6, Beurer, Hans Dinslage GmbH, Alemania). Se registró el número de intentos que necesitaba cada animal para tomar cinco decisiones correctas consecutivas; el número máximo de ensayos se limitó a 25 por día.

Prueba de consumo de sacarosa

La prueba de consumo de sacarosa, utilizada para evaluar la función de recompensa y los episodios depresivos [48], sirvió para evaluar las tendencias anhedónicas asociadas con la conducta repetitiva. Los animales se habituaron a una botella estándar de leche condensada azucarada (Nestlé, Milchkädchen, (1:3)) en su jaula de alojamiento durante 30 minutos. Después de 24 horas, los animales se habituaron a la jaula estándar de alojamiento individual tipo III (Makrolon®, Techniplast Deutschland GmbH, Alemania) durante 30 minutos y, posteriormente, se les restringió la alimentación durante 21 horas (15 g por animal). El día de la prueba, los animales estuvieron expuestos a la botella con solución de sacarosa durante 10 minutos. Se registró el peso de la botella antes y después de la fase de prueba.

Los animales fueron pesados cada día de prueba, así como el día después del consumo de sacarosa [49].

Prueba de reconocimiento social

La prueba de reconocimiento social se utilizó para evaluar la sociabilidad con una rata de pareja desconocida. Los animales se mantuvieron aislados durante tres días consecutivos y se familiarizaron con la caja de prueba (45 cm × 45 cm, LE802S Pan-lab square arena, SLU Panlab, España) durante una hora diaria. El día de la prueba, a cada animal experimental se le presentó un conespecífico desconocido de la misma cepa, del mismo sexo y edad, y se le colocó en una caja de sobresalto cerrada (Grid Rod Animal Holder, OCB Systems Ltd., Reino Unido) con aberturas para el contacto hocico con hocico. Se permitió a los animales experimentales explorar o interactuar durante 60 s en un total de cuatro ensayos con el mismo animal con compañero social, en intervalos de 10 min. En un quinto ensayo, se les presentó a los animales experimentales un nuevo compañero social. Tras cada ensayo, el animal con compañero social fue devuelto a su jaula durante el intervalo de 10 min, y se desinfectó la caja de sobresalto.

Todos los ensayos fueron grabados en vídeo y el tiempo de examen transcurrido en estrecha proximidad se determinó manualmente [50].

Prueba de comportamiento estereotipado inducido por anfetaminas

Se realizó una prueba de inducción con anfetamina para caracterizar su efecto sobre las estereotipias de comportamiento repetitivo. Se inyectó a los animales por vía intraperitoneal 2,0 mg de anfetamina (Lipomed AG, Suiza) por kg de peso corporal, basándose en la aparición de estereotipia inducida por anfetamina en animales de peso normal con dosis superiores a 2 mg/kg [49]. Las ratas se colocaron en una caja de prueba (46,5 × 46,5 cm × 44 cm) y se grabaron en vídeo durante 2 h. El comportamiento tras la administración de anfetamina se analizó en intervalos de 5 min, y se puntuó el comportamiento más prominente en cada intervalo. La puntuación se realizó según un protocolo adaptado descrito en Kelly et al. (1975) [51] dividiendo el comportamiento en (0) ninguna actividad locomotora (dormir, residir sin olfateo aparente) (1) actividad exploratoria limitada (olfateo discontinuo, encabritado o acicalamiento) (2) locomoción (frecuente

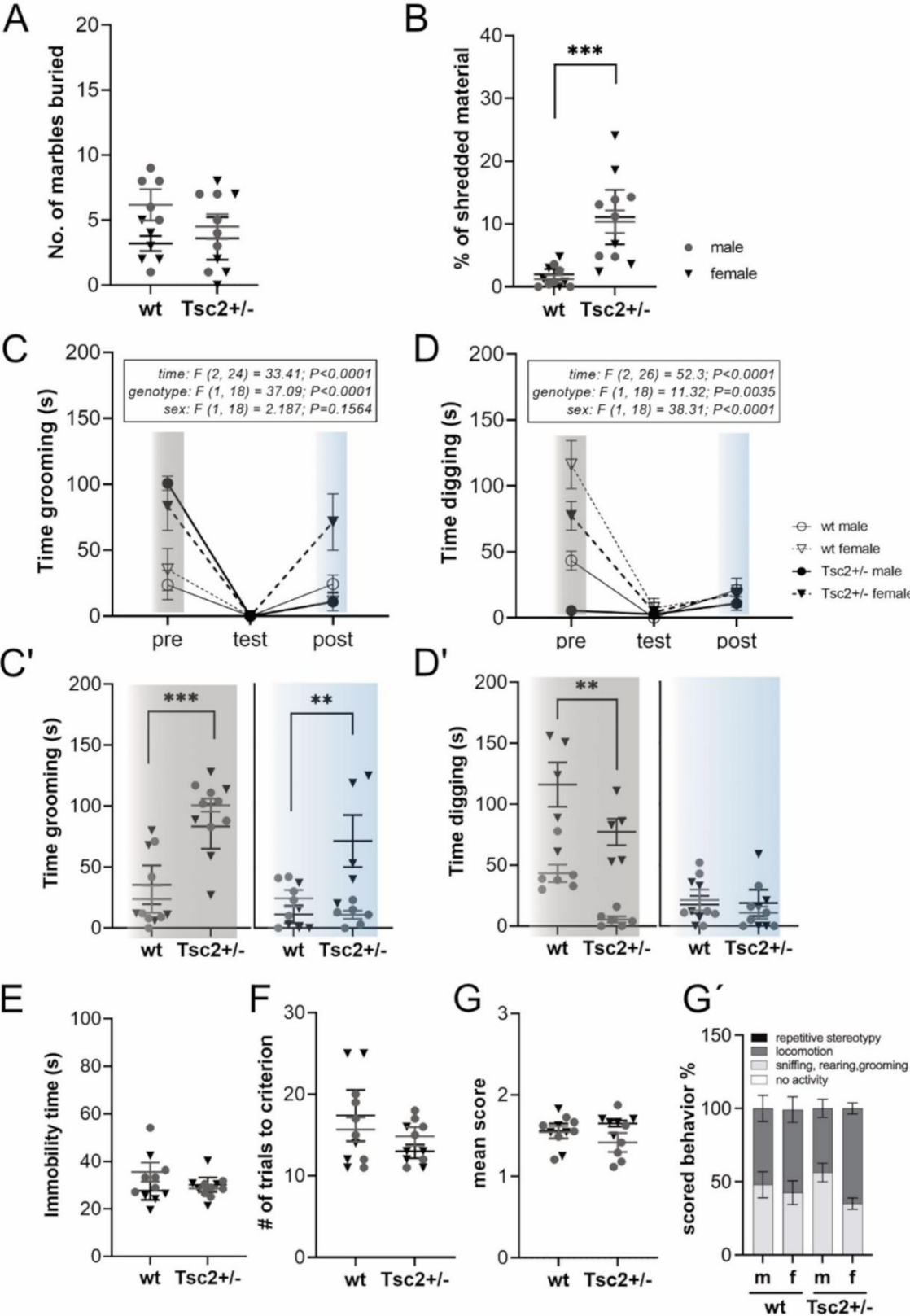


Fig. 2 (Ver leyenda en la página siguiente.)

(Ver figura en la página anterior.)

Fig. 2. Las ratas Tsc2+/-Eker presentan un aumento en el comportamiento repetitivo de orden inferior sin anomalías repetitivas de orden superior. A. En la prueba de enterramiento de canicas, no se observó un cambio significativo en el número de canicas enterradas entre genotipos ($p = 0,589$) ni entre sexos ($p = 0,382$). B. En la prueba de trituración de nidos, las ratas Tsc2+/- mostraron un aumento significativo en el comportamiento de trituración en comparación con las ratas wt ($p = 0,001$). C, D, C', D'. Datos obtenidos de una prueba de confinamiento de luz y sonido. Durante la habituación pre-test, las ratas Tsc2+/- mostraron un acicalamiento significativamente aumentado ($p=0,001$). En caso de excavación, se observó un efecto significativo del sexo, con las hembras mostrando un comportamiento de excavación más intenso que los machos ($p=0,001$). Además, se reveló un efecto significativo del genotipo ($p=0,002$). En la fase de prueba, ambos genotipos exhibieron un comportamiento mínimo de excavación y acicalamiento. Durante la recuperación post-test, se observó una interacción significativa entre el sexo y el genotipo en caso de acicalamiento ($p=0,004$). Las ratas hembra Tsc2+/- mostraron un mayor comportamiento de acicalamiento en comparación con los machos wt y Tsc2+/-/. El genotipo y el sexo no afectaron el comportamiento de excavación en la fase post-test ($p=0,578$). C' y D' muestran la fase pre- y post-test con valores individuales. E En la prueba FST, no se observó ningún efecto significativo del genotipo ($p = 0,497$) ni del sexo ($p < 0,961$). F No se detectó ningún efecto del genotipo ($p = 0,163$) ni del sexo ($p = 0,978$) en el paradigma de aprendizaje inverso de la prueba WTM. Se muestra el número total de ensayos necesarios en el día 2. G, G' Tras la administración sistémica de anfetamina, Tsc2+/- Los animales no mostraron mayor susceptibilidad a la inducción de conductas repetitivas ($p = 0,846$). G representa la puntuación media de las categorías de conducta tras la clasificación descrita en la sección de métodos. G' muestra las proporciones de las clasificaciones de puntuación por genotipo. Los animales de todos los genotipos (macho [m], hembra [f]) mostraron un comportamiento predominante en solo dos categorías: (1) actividad exploratoria limitada (olfateo, encabritamiento, acicalamiento) y (2) locomoción, pero sin descanso (0) ni comportamiento estereotipado (3).

(encabritarse, olfateo) y (3) comportamiento estereotipado (acicalamiento repetitivo, encabritarse y lamido). La puntuación fue realizada manualmente por un único experimentador entrenado y ciego.

El cegamiento se logró codificando numéricamente a los animales para el análisis de video con el fin de eliminar el sesgo de genotipo.

Cromatografía líquida de alta resolución post mortem

Los animales fueron anestesiados intraperitonealmente con pentobarbital (60 mg/kg) y decapitados. Se extrajeron los cerebros completos, se congelaron en metilbutano durante 2 min a una temperatura de -20 a -40 °C y se almacenaron a -80 °C. Se homogeneizaron micropunciones bilaterales ($\varnothing$ 1 mm) de tejido de la corteza prefrontal (CPF) y del cuerpo estriado (putamen caudado, CPU) en 500 μ l de ácido perclórico 0,1 M mediante ultrasonificación aplicada durante 3 x 10 s en hielo. Tras la cuantificación de proteínas (ensayo de proteínas Pierce™ de 660 nm; Thermo Fisher Scientific Inc., EE. UU.), los homogeneizados se centrifugaron durante 15 min a 13 000 g a 4 °C. El sobrenadante se separó mediante HPLC (sistema LC 1260 Infinity II, software OpenLab LC ChemStation, Agilent Technologies, EE. UU.) en una columna analítica PRONTOSIL 120-5-C18SH (VDS Optilab, Alemania), seguido de la detección electroquímica (Coulchem III, Thermo Fisher Scientific Inc., EE. UU.) de los niveles de dopamina (DA), ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) y ácido homovanílico (HVA) en μ g/g de proteína. El recambio de dopamina se calculó a partir de los niveles de concentración, ajustados al contenido proteico de la muestra, como la relación neurotransmisor/metabolito (DA/(DOPAC+HVA)).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism 9.5.1 y Jamovi 2.6.44. Todas las pruebas de comportamiento, así como las medidas de HPLC, se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para el efecto principal del genotipo (wt, Tsc2+/- Eker) y el sexo (masculino, femenino). Considerando el pequeño conjunto de datos, no se realizó una prueba de normalidad, sino que se basó en la inspección visual de los gráficos qq para los residuos y la robustez del ANOVA ante violaciones de la normalidad, especialmente cuando los tamaños de muestra son pequeños e iguales en todos los grupos [52]. Se utilizó la HSD de Tukey para ajustar las comparaciones post hoc múltiples. Se realizó un análisis de correlación.

Se realizó un análisis para los hallazgos con un efecto significativo del genotipo mediante el coeficiente de correlación de Spearman. No se excluyó ningún animal del análisis. La significancia estadística se estableció en $p < 0,05$.

Resultados

La haploinsuficiencia de Tsc2 aumenta los patrones de comportamiento repetitivo de orden inferior

Para determinar si el genotipo Tsc2+/- induce un comportamiento asociado al TEA en ratas, se realizó un conjunto de pruebas de comportamiento en el modelo de Eker para revelar patrones de comportamiento repetitivos.

En primer lugar, se observó un comportamiento restringido de orden inferior en condiciones sin estrés mediante la prueba de trituración de nidos y la prueba de enterramiento de canicas. Ambas pruebas conductuales se utilizan comúnmente para revelar comportamientos repetitivos estereotípicos [38, 40]. Si bien no se observaron diferencias en el comportamiento de enterramiento de canicas entre los ratones de tipo salvaje (wt) y los ratones Tsc2+/- En los animales (Fig. 2A), las ratas Tsc2+/- mostraron un comportamiento de trituración de nidos significativamente mayor ($F(1, 18)=16,39, p=0,001$) (Fig. 2B), lo que indica un comportamiento repetitivo de orden inferior en las ratas Eker.

Dado que el comportamiento repetitivo representa una estrategia para manejar el estrés y la ansiedad, se evaluaron los movimientos estereotipados en condiciones estresantes. Se utilizó la prueba de luz, sonido y confinamiento para investigar el comportamiento repetitivo de excavación y acicalamiento bajo la aplicación de múltiples factores estresantes. Primero, los animales fueron sometidos a la fase de preprueba, en la que se adaptaron al nuevo entorno de prueba sin necesidad de intervención adicional.

Factores estresantes. Las ratas Tsc2+/- mostraron un comportamiento de acicalamiento significativamente mayor en comparación con las ratas wt (Fig. 2C, C'; $F(1, 18)=23,47, p=0,001$), lo que sugiere además anomalías conductuales repetitivas en el modelo de rata Eker. Con-

Por el contrario, el tiempo de excavación se redujo significativamente en Tsc2+/- Ratitas en comparación con las de peso normal en la fase pretest (Fig. 2D, D'; $F(1, 18)=13,43, p=0,002$), pero no se correlacionó significativamente con el comportamiento de acicalamiento en la misma prueba. Cabe destacar que se observó un efecto sexual significativo en el caso de excavar en la fase pretest (Fig. 2D, D'; $F(1, 18)=47,92, p=0,001$), ya que las ratas hembras mostraron niveles más altos de

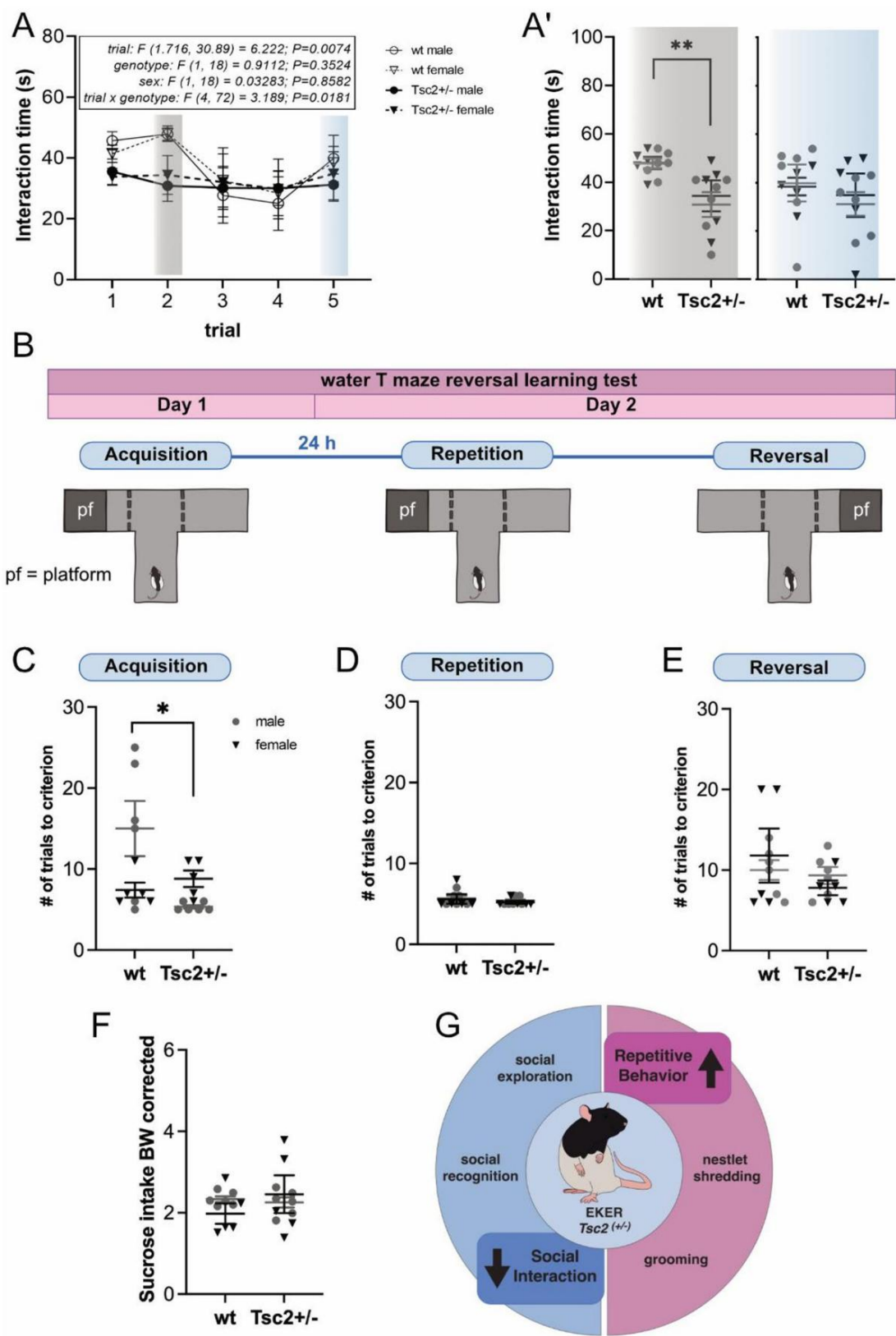


Fig. 3 (Ver leyenda en la página siguiente.)

(Ver figura en la página anterior.)

Fig. 3. Ratas Eker presentan cambios en la interacción social. A. No se observó un efecto significativo del genotipo en la prueba de reconocimiento social ($p = 0,353$). Sin embargo, las ratas Tsc2+/- no mostraron habituación en sesiones posteriores ni una mejora en la exploración tras una estimulación social novedosa. A. Comparación de la interacción social en los ensayos 2 y 5. En el ensayo 2, se observó un efecto significativo del genotipo ($p = 0,003$), mostrando Tsc2+/- una disminución del tiempo de interacción social en comparación con wt. B. Esquema experimental de la prueba de laberinto en T de agua. CE. El rendimiento en la prueba de laberinto en T no reveló ningún efecto del genotipo en la memoria espacial en el aprendizaje inicial (fase de adquisición, C , $p = 0,052$), la fase de repetición (D , $p = 0,321$) y la prueba de inversión (E , $p = 0,163$). Sin embargo, en la fase de adquisición, se observó una interacción significativa entre el sexo y el genotipo ($p = 0,012$), ya que las ratas macho Tsc2+/- requirieron significativamente menos ensayos que las ratas macho wt ($p = 0,001$). F En la prueba de consumo de sacarosa, no se detectó un efecto significativo del genotipo ($p = 0,441$). G Resumen gráfico de los dominios centrales del TEA alterados en el modelo de rata de Eker.

Comportamiento de excavación más frecuente que los machos. Curiosamente, si bien la trituration repetitiva de nidos mostró una correlación negativa con la excavación en el grupo pre-LSC ($r_s(19) = -0,474$, $p=0,03$), se correlacionó positivamente con el acicalamiento repetitivo pre-LSC ($r_s(19) = 0,531$, $p=0,01$), lo que sugiere que ambos comportamientos reflejan una patología similar de estereotipia de orden inferior.

A continuación, los animales fueron sometidos a la fase de prueba, donde se introdujeron estresores visuales y acústicos impredecibles para elevar los niveles de estrés. Ningún genotipo demostró comportamiento de acicalamiento ni comportamiento de excavación durante la aplicación del estresor (Fig. 2C, D). Curiosamente, se observó una interacción de sexo y genotipo para el acicalamiento durante la recuperación en la fase posterior a la prueba, ya que las ratas hembra Tsc2+/- mostraron un comportamiento de acicalamiento significativamente mayor en comparación con los animales macho Tsc2+/- y wt (Fig. 2C, C'; $F(1, 18)=11,22$, $p=0,004$). Por el contrario, el comportamiento de excavación no difirió significativamente entre genotipos o sexo durante la recuperación en la fase posterior a la prueba (Fig. 2D, D'). Sin embargo, los animales podrían necesitar más tiempo para recuperarse de la fase de estrés, por lo tanto, no se puede excluir la aparición de un efecto del genotipo en puntos temporales posteriores.

En conclusión, si bien se observó que los animales Tsc2+/- mostraban un comportamiento repetitivo de bajo orden, en forma de un mayor acicalamiento en condiciones sin estrés, la aplicación de alto estrés en la prueba de Confinamiento de Luz y Sonido (LSC) no exacerbó los patrones de comportamiento repetitivo en la rata Eker. Sin embargo, las ratas hembra Tsc2+/- podrían recuperarse más rápidamente tras niveles altos de estrés y mostraron un mayor comportamiento de acicalamiento compulsivo en comparación con las ratas wt.

No se encontró ningún comportamiento de excavación repetitivo en el modelo de rata Eker.

Para comprobar si las ratas Tsc2+/- presentan una movilidad alterada como respuesta al estrés, se sometieron a la prueba de natación forzada (FST). El tiempo total de inmovilidad no difirió significativamente entre los animales Tsc2+/- y los animales wt (Fig. 2E), lo que sugiere que las respuestas de afrontamiento del estrés que implican movilidad no se alteran en el modelo de rata Eker. Además, no se detectó ningún comportamiento repetitivo que pudiera presentarse como dar vueltas o trepar repetidamente en las ratas Tsc2+/-.

Se investigó la presencia de comportamiento repetitivo de orden superior mediante la prueba del laberinto acuático en T (WTM), ya que su paradigma de aprendizaje inverso revela la capacidad de un animal para cambiar de estrategia conductual. El comportamiento repetitivo de orden superior se habría presentado como un comportamiento perseverativo al no completar con éxito el criterio de la tarea, una elección consistente de la ubicación de una plataforma novedosa; por lo tanto, los animales alcanzarían el número máximo de ensayos en

Día 2 del WTM. En cambio, tanto las ratas wt como las Tsc2+/- completaron la tarea con éxito sin diferencias significativas (Fig. 2F). Tanto el recuerdo del hábito de posición aprendido (fase de repetición) como el hallazgo de una posición de plataforma desconocida (fase de inversión) no mostraron diferencias significativas en los intentos necesarios para cumplir el criterio (Fig. 3D, E). Por lo tanto, el rendimiento inalterado en el WTM sugiere que la rata Eker no muestra una falta significativa de variabilidad en la respuesta conductual y, por lo tanto, no presenta un comportamiento repetitivo de orden superior.

Se cree que la conducta repetitiva inducida por estrés actúa como alivio de la ansiedad al activar el sistema de recompensa dopaminérgico, lo que representa una estrategia importante para la regulación emocional en modelos de TEA y trastorno obsesivo-compulsivo [53]. De hecho, las estereotipias repetitivas anormales de orden inferior se asocian con la sobreactivación del circuito dopaminérgico de los ganglios basales corticales [54]. En consecuencia, el tratamiento con anfetamina, un agonista indirecto de la dopamina, exagera las estereotipias motoras repetitivas y puede revelar cambios subyacentes en el sistema de dopamina (DA) en modelos de roedores [55]. Por lo tanto, optamos por investigar si la administración de anfetamina en una dosis de 2 mg/kg revelaría signos de conducta repetitiva en ratas Eker. Para determinar si el modelo de rata Eker presenta una función de DA alterada y la ocurrencia relacionada de conducta repetitiva, se aplicó un protocolo de provocación con anfetamina. La categorización conductual utilizó un protocolo de puntuación adaptado de Kelly et al. (1975) [51] reveló que tanto los animales wt como los Tsc2+/- presentaban principalmente un comportamiento exploratorio limitado (1) y frecuente (2) (encabritado, olfateo, acicalamiento), pero no exhibían un comportamiento estereotipado repetitivo (3) (encabritado y acicalamiento repetitivo) (Fig. 2G). Se calculó una puntuación media de categorización conductual para mostrar la actividad locomotora general del sexo y el genotipo. Las medidas repetidas de ANOVA no revelaron efectos significativos del sexo en las categorías de comportamiento, por lo que se combinaron los datos de machos y hembras.

No se observó ningún efecto significativo en la magnitud ni el tipo de locomoción entre los animales wt y Tsc2+/- tras la inyección de anfetamina (Fig. 2G, G'). Por lo tanto, la administración de anfetamina provocó respuestas inalteradas en los animales Tsc2+/- y no indujo conductas repetitivas.

En conclusión, se observó que el modelo de rata Eker presentaba alteraciones de comportamiento repetitivo de bajo orden en condiciones de bajo estrés, como el destrozo excesivo de nidos y el acicalamiento. Sorprendentemente, la aplicación de factores estresantes no exacerbó los patrones de comportamiento repetitivo.

Además, no se detectó ningún comportamiento repetitivo de orden superior, lo que indica suficiente flexibilidad conductual en ratas Tsc2+/- . Por último, el modelo de Eker parece mostrar respuestas conductuales similares a las de los animales normales tras la manipulación del sistema dopaminérgico mediante la administración de anfetamina, lo que sugiere que no existen alteraciones importantes del sistema DA.

Se observan alteraciones repetitivas del comportamiento en la rata Eker en un contexto de deterioro del comportamiento social.

Además de las estereotipias repetitivas, el TEA presenta déficits en el comportamiento social y la comunicación, así como deterioro cognitivo e inflexibilidad conductual [1].

Si bien se ha informado de un comportamiento social similar al del autismo en ratas Eker, se encontró que el rendimiento del aprendizaje y la memoria no se alteró, lo que sugiere una función cognitiva normal [35].

Para validar que las ratas Tsc2+/- muestran déficits previamente reportados en interacción social, se realizó una prueba de reconocimiento social. Primero, las ratas fueron expuestas a una rata desconocida. Las ratas Eker mostraron una duración de interacción general menor en comparación con las ratas wt durante tres de los cinco ensayos (Fig. 3A), con un tiempo de interacción significativamente menor durante el segundo ensayo (Fig. 3A', $F(1, 18)=12.47$, $p=0.003$), confirmando la disminución general previamente reportada en interés social. Los animales wt mostraron variedad en comportamiento exploratorio social, con una disminución gradual en interacción durante los primeros cuatro ensayos y un aumento en la interacción tras la introducción de una rata actor nueva en el ensayo 5, lo que indica un reconocimiento social normal. Por el contrario, se encontró que los animales Tsc2+/- mantuvieron niveles similares de tiempo de interacción en todos los ensayos, independientemente de la familiaridad o novedad de la rata actor (Fig. 3A), lo que sugiere un interés social restringido y alteraciones en el reconocimiento social en las ratas Eker.

Se descubrió que la haploinsuficiencia de Tsc2 causa cambios en la plasticidad sináptica del hipocampo dependiente de la actividad [33]. Para evaluar si las ratas Eker muestran signos de memoria espacial deteriorada, que depende del aprendizaje hipocampal, los animales fueron desafiados con la prueba del laberinto acuático en T (Fig. 3B-E). Durante la fase de adquisición, se observó una interacción significativa entre sexo y genotipo ($F(1, 18)=4.353$, $p=0.012$), ya que las ratas macho Tsc2+/- necesitaron significativamente menos ensayos que los machos wt para aprender la posición correcta del brazo (Fig. 3C; $p=0.001$). Sin embargo, no se observó ningún efecto negativo del genotipo Tsc2+/- en la velocidad de aprendizaje, lo que sugiere que el aprendizaje no está deteriorado en las ratas Eker. En la prueba de repetición, 24 h después, los animales wt y Tsc2+/- encontraron la posición correcta del brazo igualmente bien (Fig. 3D). De igual manera, no se detectaron diferencias significativas en el número de ensayos necesarios para el criterio entre genotipos en la prueba de inversión (Fig. 3E). Estos resultados indican que la formación de la memoria espacial no se ve afectada en ratas Eker y concuerdan con estudios previos [35].

Para evaluar si las alteraciones en la función de recompensa y la motivación podrían influir en los resultados de las pruebas de comportamiento, se realizó una prueba de consumo de sacarosa. No se observaron diferencias entre genotipos ni efectos de interacción (Fig. 3F), lo que indica que los animales Tsc2+/- presentan una función de recompensa intacta y no desarrollan tendencias anhedónicas.

En resumen, las ratas Eker muestran signos de deterioro del comportamiento social, en forma de un interés social anormal. Por el contrario, el aprendizaje y la memoria espacial, así como la función de recompensa, no se vieron afectados por la suficiencia de la haploína Tsc2. En este estudio, proporcionamos evidencia de que la Tsc2+/- El modelo animal del TEA presenta un patrón de comportamiento repetitivo evidente que ocurre junto con alteraciones del comportamiento social (Fig. 3G, G').

Las ratas Eker muestran evidencia de una señalización dopaminérgica dependiente del PFC deteriorada

A continuación, optamos por explorar las alteraciones neuroquímicas en el cerebro de ratas Tsc2+/- mediante la determinación de los niveles de DA en tejido cerebral post mortem. A pesar de la ausencia de cambios en la respuesta a la anfetamina tras la administración sistémica, la vía dopaminérgica sigue siendo un objetivo prometedor debido a su estrecha relación con la formación de conductas repetitivas y la modulación general del movimiento [53, 56, 57].

Un objetivo importante de DA es la vía cortico-estriatal-tálamo-cortical (CSTC), un circuito neuronal que es crucial para la selección e iniciación del movimiento [57-59] y que está implicado en influir en el comportamiento estereotipado, como el acicalamiento repetitivo y la excavación en roedores [60, 61].

Por lo tanto, analizamos los niveles de neurotransmisores en el cuerpo estriado (CPu) y la corteza prefrontal (PFC), ya que ambas son áreas clave que regulan y modulan la actividad y función del CSTC y están vinculadas al inicio del comportamiento estereotipado [62-64].

Por lo tanto, se realizó una HPLC específica de región para la dopamina (DA) y sus metabolitos derivados, el ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) y el ácido homovanílico (HVA). Si bien no se observó una alteración significativa del nivel de DA en el tejido de la CPu de rata Tsc2+/- (Fig. 4A), se observaron niveles significativamente mayores de DA en la corteza prefrontal (CPF) de los animales Tsc2+/- en comparación con los animales wt (Fig. 4B; $F(1, 18)=4.478$, $p=0.0485$). De igual manera, no se observaron cambios en el recambio de DA en el tejido de la CPu (Fig. 4C). En la CPF, la interacción sexo x genotipo reveló una disminución significativa de DA/

La relación (DOPAC+HVA) en ratas macho Tsc2+/- en comparación con ratas hembra Tsc2+/- y ratas wt (Fig. 4D; $F(1, 18)=8.5$, $p=0.01$), sugiere un aumento significativo en la tasa de recambio de DA en los animales macho Tsc2+/- . En general, se observó un efecto significativo del genotipo, que reveló una mayor tasa de recambio de DA en ratas Eker Tsc2+/- en comparación con las ratas wt ($F(1, 18)=15$, $p=0.001$).

Si bien los niveles de DA del PFC no se correlacionaron con la interacción social, sí se correlacionaron en gran medida con conductas repetitivas de orden inferior (destrucción de nidos ($r_s(19) = 0.551$, $p = 0.01$) y

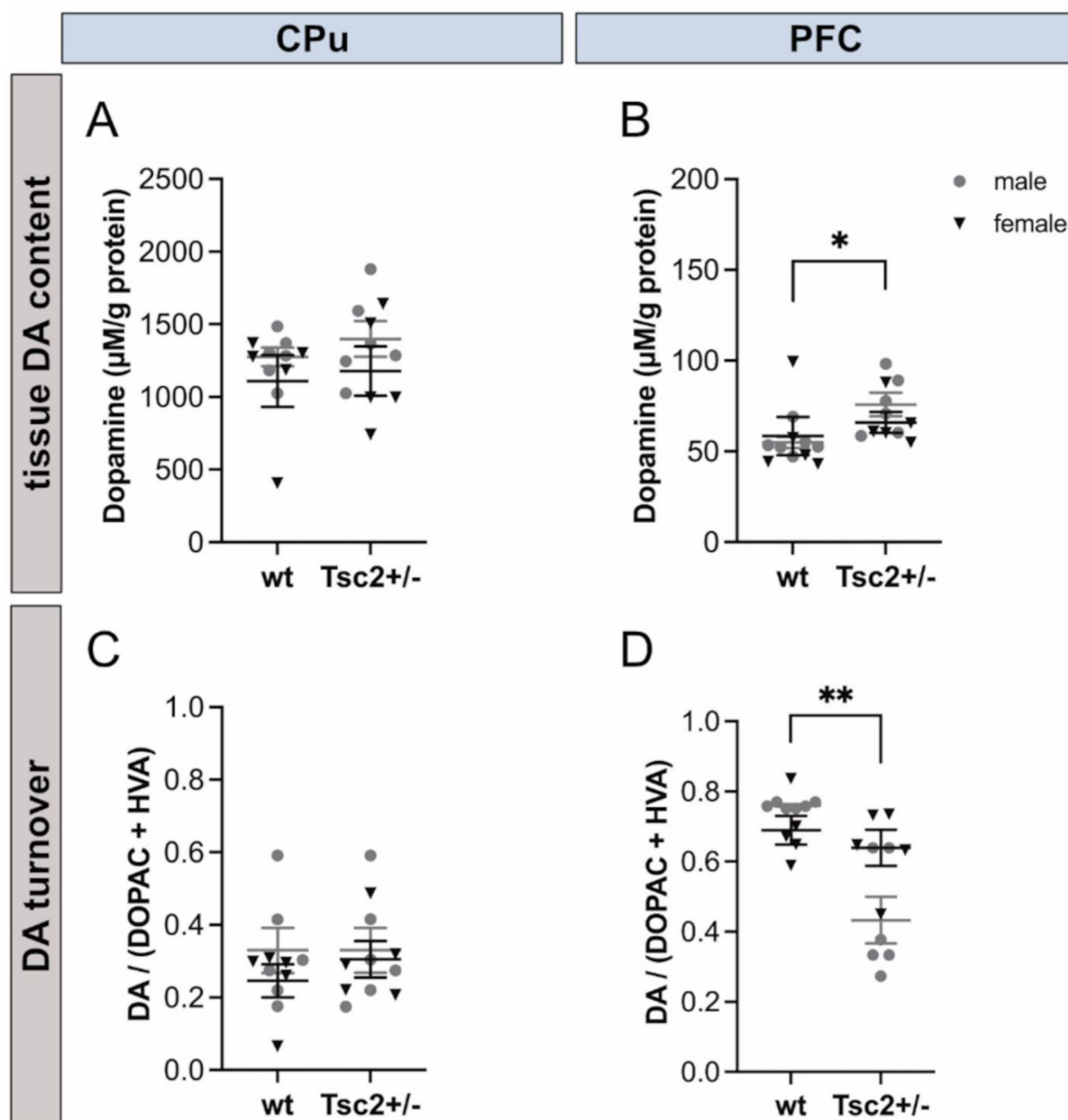


Fig. 4 Las ratas Eker muestran un metabolismo alterado de la dopamina en la CPF. A, B Análisis por HPLC de los niveles de dopamina (DA) tanto en el cuerpo estriado (CPu) como en la CPF. A Los niveles de DA en la CPu no se alteraron significativamente en las ratas Tsc2+/- en comparación con las de tipo wt ($p=0,484$). B El tejido de la CPF de la rata Tsc2+/- mostró niveles significativamente aumentados de DA ($p=0,049$). C, D Recambio de DA basado en el análisis por HPLC de los metabolitos de dopamina DOPAC y HVA tanto en la CPu como en la CPF. C El recambio de DA en la CPU no se alteró significativamente en las ratas Tsc2+/- en comparación con las de tipo wt ($p=0,61$). D En el tejido de la CPF se observó una interacción significativa entre el sexo y el genotipo, ya que las ratas macho Tsc2+/- mostraron un recambio de DA significativamente aumentado en comparación con los animales de tipo wt y las hembras Tsc2+/- ($p=0,01$). No se detectaron valores atípicos en el conjunto de datos al aplicar una prueba de Grubbs de dos colas ($\alpha = 0,05$)

acicalamiento ($rs(19)=0,514$, $p=0,02$)), lo que sugiere además una conexión entre el metabolismo de la dopamina específico del PFC y el desarrollo de estereotipias de orden inferior en el modelo de rata Eker.

Discusión

La conducta repetitiva restringida es una de las características patológicas fundamentales del TEA y se presenta con una alta heterogeneidad de síntomas fenotípicos. Se espera que los modelos animales de TEA ofrezcan validez de constructo, por ejemplo, en forma de

Mutaciones genéticas asociadas y recapitulación de manifestaciones clave características. En este estudio, mediante una serie de pruebas conductuales que abarcan un espectro de comportamiento estereotipado, buscamos caracterizar el comportamiento repetitivo de orden inferior y superior de la rata Eker haploinsuficiente en Tsc2+/- . Cabe destacar que demostramos que las ratas Eker Tsc2+/- presentan un fenotipo moderado de comportamiento similar al TEA en el dominio del comportamiento repetitivo, que implica un aumento de las estereotipias motoras de orden inferior, pero no de la conducta repetitiva de orden superior, acompañado de un aumento específico de la corteza prefrontal (CPF) en los niveles de DA.

Si bien la cepa de ratas Eker se ha postulado como modelo para el TEA y el comportamiento similar al TEA [29, 31, 35, 36], hasta donde sabemos, este es el primer estudio que evalúa el patrón de comportamiento repetitivo en ratas Eker Tsc2+/- . Dado que la cepa Eker Tsc2+/- ofrece una alta validez de constructo y se indicó que presenta déficits sociales, planteamos la hipótesis de que las ratas Eker también desarrollan estereotipias repetitivas que suelen exacerbarse bajo estrés. Los déficits reportados incluyen una reducción en el reconocimiento de objetos nuevos y la exploración ambiental en el paradigma de campo abierto, así como una disminución de la exploración social en forma de exploración no anogenital [35] y anogenital [37]. Curiosamente, Petrusek et al. (2021) [37] informaron además alteraciones en la vocalización ultrasónica en crías Tsc2+/- , lo que sugiere fases de comunicación social deteriorada que son consistentes con las características del TEA en humanos. Un estudio sobre la plasticidad hipocampal reveló una disminución significativa de la capacidad de modificación sináptica, en forma de menores niveles de LTP y LTD [33]. Si bien este hallazgo implica un impacto en la función cognitiva, se observó que los animales Tsc2+/- mostraban capacidades de aprendizaje intactas en un paradigma de laberinto acuático de Morris [35], lo que sugiere que los cambios moleculares y funcionales son sutiles y no tienen un impacto conductual significativo [32]. Otros modelos de roedores con TSC se han evaluado con mayor profundidad en relación con el comportamiento similar al TEA.

Los ratones Tsc1+/- mostraron déficits en la interacción social y un aprendizaje hipocampal deteriorado, revelado a través de la tarea del laberinto acuático de Morris y una prueba de condicionamiento del miedo [65]. En un modelo de ratón con genotipo heterocigoto Tsc2+/- específico de células de Purkinje , se detectaron un comportamiento de excavación repetitivo (prueba de enterrar canicas) y una disminución de la exploración social, pero no alteraciones en el aprendizaje ni la memoria [66]. Curiosamente, las manifestaciones de los síntomas del TEA, en general, parecen depender en gran medida de la cepa, ya que varios modelos de roedores heterocigotos con TSC presentan combinaciones específicas de déficits sociales, deterioro cognitivo y comportamiento repetitivo. Sin embargo, si bien la interacción social y el aprendizaje son dominios comúnmente evaluados en los modelos de roedores con TSC, los análisis de comportamiento repetitivo se reportan con menos frecuencia.

Los estudios sobre roedores relacionados con el TEA se han centrado en la fijación patrones de acción como el acicalamiento obsesivo, la excavación y la destrucción de nidos para cuantificar el orden inferior

Comportamiento repetitivo [38, 40, 59, 67]. En este estudio, se observó que las ratas Eker Tsc2+/- presentaban estereotipias de orden inferior, en forma de un mayor descuartizamiento del nido y acicalamiento. Por el contrario, no se reveló excavación excesiva en la prueba de enterramiento de canicas ni se produjo de forma espontánea. En cambio, las ratas Eker dedicaron significativamente menos tiempo a excavar que las ratas wt. Este hallazgo contradictorio se ajusta a los perfiles conductuales altamente heterogéneos tanto de pacientes humanos como de modelos de TEA en roedores [57]. Algunos no manifiestan ningún comportamiento repetitivo [68], mientras que otros muestran anomalías solo en pruebas conductuales específicas. Los ratones deficientes en Shank3, como modelo establecido de TEA, manifiestan un comportamiento repetitivo en forma de un mayor descuartizamiento y descuartizamiento del nido, pero muestran una disminución de la excavación y el enterramiento de canicas [69-71]. Se pueden encontrar patrones similares en las líneas mutantes de Shank2 [57, 72]. Los factores genéticos ejercen una gran influencia en el comportamiento innato de excavación, por lo tanto, las variaciones de tensión en las respuestas. Aunque la excavación excesiva se utiliza comúnmente como medida de estereotipias repetitivas, también puede interpretarse como un indicador de impulso exploratorio, dependiendo del contexto motivacional [60]. Por lo tanto, la reducción de la excavación, especialmente en el contexto de habituación de este estudio, podría corresponder a una disminución de la conducta exploratoria, lo cual se ha reportado previamente en ratas Eker Tsc2+/- [35].

Se sabe que el estrés agudo influye en la alteración de los patrones de comportamiento repetitivo, como el aumento del acicalamiento [53, 73-75]. Por lo tanto, se evaluó el comportamiento repetitivo en condiciones estresantes mediante una prueba LSC de reciente creación y el FST. La aplicación de estrés agudo leve exacerbó el acicalamiento repetitivo en Tsc2+/- . En las ratas Eker, el aumento del estrés eliminó la actividad motora y promovió el comportamiento de congelación en ambos genotipos. Además, informamos de la ausencia de anomalías repetitivas de orden superior en ratas Eker Tsc2+/- . Las conductas repetitivas de orden superior suelen modelarse mediante paradigmas de aprendizaje inverso, como el laberinto acuático en T o la prueba del laberinto acuático de Morris [35, 47]. Los animales son entrenados para preferir las opciones correctas con recompensa a las incorrectas sin recompensa, tras lo cual se invierte la relación entre la elección y la recompensa. El número de ensayos necesarios para cambiar a la nueva asociación correcta-recompensa pretende reflejar la flexibilidad cognitiva y la insistencia en la uniformidad [11]. En conjunto, se observó que las ratas Eker presentaban cambios leves en la conducta estereotipada, pero parecían carecer de un dominio de conducta repetitiva de orden superior. Varios modelos de roedores con TEA (ratones C58 y BTBR T+tf/J) no presentan inflexibilidad cognitiva aparente, ya que muestran respuestas inalteradas en paradigmas clásicos de aprendizaje inverso. Sin embargo, solo al utilizar un método probabilístico de aprendizaje inverso con una tasa de recompensa del 80 % en lugar del 100 %, comúnmente utilizado para modelar la inflexibilidad cognitiva en pacientes con TEA, se observaron diferencias significativas [76-78].

Es importante destacar que encontramos que las alteraciones en la conducta repetitiva de orden inferior en la rata Eker se presentan junto con patrones de comportamiento social y cognitivo previamente reportados. En este estudio, los animales Tsc2+/- mostraron deficiencias leves en la prueba de reconocimiento social, lo que confirma los déficits en el dominio social de las manifestaciones del TEA [35, 37].

Curiosamente, las ratas Tsc2+/- mantuvieron un tiempo de interacción similar en todos los ensayos, mientras que las ratas wt, como era de esperar, disminuyeron el tiempo de interacción durante los primeros cuatro ensayos con la misma pareja y lo aumentaron al introducir una nueva. Los cambios en la prueba de reconocimiento social pueden surgir por diversas razones, como deficiencias del sistema olfativo o déficits de locomoción [79–81].

Además, la disminución de la interacción social podría atribuirse a alteraciones generalizadas del impulso exploratorio que deben abordarse específicamente. Se deben excluir los posibles efectos cruzados para aumentar la robustez de

Hallazgos de déficit social en ratas Eker Tsc2+/- . Se cree que la prueba de reconocimiento social refleja tanto el interés social como la memoria de reconocimiento a corto plazo en estudios con roedores [79].

Por lo tanto, nuestros resultados pueden interpretarse como un interés social y una discriminación de objetivos deteriorados en ratas Eker, así como una memoria de reconocimiento a corto plazo alterada, lo que sugiere un impacto en la función cognitiva. Aquí, mostramos que el modelo Eker no presenta cambios significativos en el aprendizaje y la memoria espacial, como se evaluó en la prueba WTM. Nuestros resultados concuerdan con informes previos que muestran un aprendizaje y una memoria espacial típicos en animales Tsc2+/- en el laberinto acuático de Morris, el laberinto radial y la prueba de aversión condicionada al sabor [35, 82]. Por el contrario, los animales Tsc2+/- muestran sorprendentemente un mayor rendimiento en comparación con los animales de tipo wt tras la modificación a una tarea de coincidencia retardada con el lugar destinada a modelar la memoria de tipo episódico añadiendo un intervalo de 2 h entre ensayos [82]. Sin embargo, la mejora en el rendimiento en una tarea de memoria episódica también puede interpretarse como una desventaja cognitiva; es decir, las ratas Eker podrían tener un mejor rendimiento en la búsqueda de nuevas ubicaciones de plataformas debido a la falta de formación de memoria de ubicaciones de plataformas anteriores [82]. La totalidad de las malformaciones cerebrales, aberraciones celulares y alteraciones de la neuroplasticidad observadas sugieren la presencia de déficits cognitivos en la rata Eker Tsc2+/- [21]. Sin embargo, las evaluaciones conductuales realizadas hasta el momento no han demostrado alteraciones significativas de aprendizaje [82] y se ha informado que inducen fenotipos similares al TEA [92]. Como se discutió anteriormente, aplicar una mayor dificultad a la tarea en forma de una prueba de aprendizaje de inversión probabilística podría ser más suficiente para revelar un comportamiento repetitivo de orden superior y una inflexibilidad cognitiva.

Dada la creciente comprensión de las discrepancias sexuales en la manifestación de los síntomas del TEA [83, 84], es importante considerar los efectos del sexo en los modelos de TEA. Por lo tanto, se evaluaron alteraciones repetitivas del comportamiento en ratas Eker Tsc2+/- machos y hembras. Si bien se sabe poco sobre las diferencias específicas de sexo en los modelos de TEA, los datos disponibles siguen siendo inconsistentes con la varianza entre animales.

cepas y tareas específicas [85, 86]. Por ejemplo, se encontró que el modelo BTBR ASD presentaba acicalamiento repetitivo y enterramiento de canicas en ratones machos pero no hembras [87], mientras que el acicalamiento repetitivo en ratones Nlgn4 ASD aparece exclusivamente en animales hembras [88]. Aquí, informamos un efecto significativo del sexo antes de la aplicación de estrés en la prueba LSC, con un aumento del comportamiento de excavación en las hembras en comparación con los animales machos. Además, se encontró que las hembras Tsc2+/- mostraban un mayor comportamiento de acicalamiento en comparación con los animales wt y los machos. En un modelo de ratón Tsc2+/-, los animales hembra exhibieron déficits en la respuesta de habituación y posteriores disminuciones en la ansiedad [89], lo que sugiere que las diferencias observadas en el comportamiento repetitivo durante la prueba LSC pueden surgir de una respuesta de habituación deteriorada al nuevo entorno en ratas hembra Tsc2+/- . Además, los machos Tsc2+/- presentaron un mejor desempeño en la fase de adquisición del WTM. En consonancia con nuestro hallazgo, se ha reportado que los machos Tsc2+/- muestran un mayor desempeño en una tarea de memoria episódica [82], lo que sugiere una formación alterada de la memoria en la rata Eker. Curiosamente, este fenotipo no parece presentarse en ratas Eker hembras, lo que sugiere diferencias sexuales en la cognición; sin embargo, se necesita una confirmación y extensión a otros dominios cognitivos antes de extraer conclusiones significativas. Los efectos sexuales aquí reportados deben interpretarse con cautela, ya que el número de animales machos y hembras es demasiado pequeño para extraer conclusiones significativas. En general, los efectos sexuales discutidos se consideran de poca relevancia con respecto a la principal preocupación de los efectos del genotipo en el modelo de TEA de Eker.

Aunque el modelo de Eker Tsc2+/- presenta deterioro social y comportamiento repetitivo, la expresión de síntomas permanece leve. Se ha propuesto que las desviaciones de la patología humana en el modelo de rata Tsc2+/- se originan en su base genética. La delección homocigótica es letal embrionariamente tanto en ratones como en ratas, por lo que se utilizan modelos heterocigotos de TSC [90, 91]. Sin embargo, los modelos animales heterocigotos no siempre reflejan con precisión la neuropatía típica. En el caso de la TSC, el desarrollo de convulsiones espontáneas como manifestación distintiva no puede recapitularse en modelos animales hasta el momento [21]. Por lo tanto, a menudo se aplican "paradigmas de segundo golpe" para modelar enfermedades del neurodesarrollo con etiología genética-ambiental compleja, ya que se cree que recapitulan el desarrollo de la enfermedad humana con mayor precisión [86] y se ha informado que inducen fenotipos similares al TEA [92]. La inducción química de "segundo golpe" se ha utilizado para generar convulsiones epilépticas en el modelo de rata Tsc2+/- y se ha descubierto que aumenta el comportamiento asociado al TEA en animales mutantes [35, 37]. Por lo tanto, la introducción de un paradigma de "segundo golpe" puede exacerbar la alteración conductual en el modelo de rata Eker, también con respecto a su perfil de comportamiento repetitivo. Finalmente, las pruebas farmacológicas de inhibidores de mTOR o antagonistas del receptor de dopamina y su efecto sobre los fenotipos repetitivos, así como el análisis de la longevidad de las estereotipias, especialmente considerando

La aparición temprana de síntomas en el TEA se puede aplicar en el modelo de Eker para desafiar su precisión traslacional y respaldar la validez predictiva.

Varias redes cerebrales y vías de señalización dependientes de la dopamina se han vinculado a la formación de conductas repetitivas [56, 57]. Aquí, informamos alteraciones en la corteza prefrontal (CPF), pero no en los niveles de DA estriatales de animales Tsc2+/-, ambos componentes de la vía CSTC que regula la actividad motora [57–59, 93]. Se ha demostrado que la CPF media patrones de conducta repetitivos [94, 95], se cree que está involucrada en el aprendizaje de refuerzo dirigido a objetivos [78, 96] y muestra una función alterada en varios modelos animales de genes de riesgo vinculados al TEA y pacientes con TEA [57]. Las proyecciones de la CPF hacia la pars compacta de la sustancia negra regulan la mayor parte de la liberación de DA en el cuerpo estriado. La sobreactivación estriatal está implicada además en el desarrollo de conductas repetitivas [64]. El modelo de ratón con TEA Scn1a+/-, por ejemplo, exhibe hiperactividad y autoacalamiento excesivo al aumentar la excitación en la CPF [97]. Los aumentos observados en los niveles de DA en la CPF que se correlacionan con un aumento en el comportamiento repetitivo de orden inferior refuerzan nuestra hipótesis de que las vías dopaminérgicas están involucradas en la patología repetitiva encontrada en ratas Eker Tsc2+/- . Curiosamente, las tasas de DA/(DOPAC/HVA) mostraron diferencias entre sexos en animales Tsc2+/-, lo que sugiere que el aumento de DA dependiente de la CPF causa cambios compensatorios a través de la elevación del recambio de DA en ratas macho Tsc2+/- . Si bien las alteraciones observadas en el recambio de DA-CPF pueden explicar parcialmente las diferencias sexuales en el comportamiento repetitivo, es necesario un análisis mecanicista extendido del receptor de DA y la función enzimática para construir esta hipótesis y conectar los fenotipos repetitivos con la disfunción del sistema dopaminérgico de la CPF. Considerando que no encontramos cambios en los niveles homeostáticos de DA en la CPU, en consonancia con la ausencia de anhedonia, es posible que ambas regiones contribuyan de forma diferente a formas específicas de comportamiento repetitivo, y que el cuerpo estriado participe en el mantenimiento y la modificación flexible de los patrones de elección, lo que influye en el aprendizaje inverso y la flexibilidad conductual [98]. Reconocemos que otras regiones cerebrales se han visto implicadas en la formación de comportamiento repetitivo, como el hipocampo, la amígdala y el área tegmental ventral [57], lo cual podría abordarse en el futuro para caracterizar alteraciones específicas de la DA en la rata Eker. Además, el uso de animales para el análisis de HPLC que se han sometido a una evaluación conductual para reducir el número de animales y cumplir con los estándares éticos plantea la posibilidad de interferencia. Para minimizar esto, se utilizó una dosis baja única de anfetamina, establecida para no generar estereotipias conductuales en animales wt, para pruebas de comportamiento, y se tomaron muestras de tejido después de un día de descanso, evitando alteraciones agudas de DA, así como efectos a largo plazo que se manifiestan después de 1 a 3 semanas [99] o después de un tratamiento repetido [100]. Por último, alteraciones

Se sabe además que la señalización dopaminérgica en la corteza prefrontal (CPF) produce cambios en el comportamiento social y el reconocimiento social en modelos animales asociados con TEA [101, 102]. Este estudio carece de evidencia experimental que vincule causalmente las alteraciones en el nivel de DA con alteraciones conductuales; sin embargo, demostramos que los cambios en los niveles de DA dependientes de la CPF ocurren simultáneamente con alteraciones similares a las del TEA en el dominio del comportamiento social y repetitivo en Tsc2+/- Eker ratas.

Conclusión

Por primera vez, caracterizamos el perfil de comportamiento repetitivo del modelo de rata Eker Tsc2+/- . En resumen, informamos la presencia de comportamientos repetitivos de bajo orden que se presentaron junto con una menor interacción social en ratas Eker Tsc2+/- . Cabe destacar que demostramos que la homeostasis de DA está alterada en la corteza prefrontal (CPF) de ratas Tsc2+/-, lo que sugiere una contribución a la manifestación de comportamientos repetitivos y sociales similares a los del TEA. Proponemos que nuestros hallazgos aporten valor traslacional al uso del modelo de rata Eker Tsc2+/- en la investigación preclínica del TEA.

Abreviaturas	
TEA	trastorno del espectro autista
UPC	Estriado (putamen caudado)
CSTC	Cortico-estriatal-tálamo-cortical
Y	Dopamina
DOPAC	ácido 3,4-dihidroxifenilacético
FST	Prueba de natación forzada
QUÉ	Ácido homovanílico
LSC	Prueba de confinamiento de luz y sonido
LIMITADO	depresión a largo plazo
LTP	Potenciación a largo plazo
mTORC1	Complejo 1 de la diana de rapamicina en mamíferos
PFC	Corteza prefrontal
TSC	complejo de esclerosis tuberosa
peso	Tipo salvaje
WTM	Laberinto de agua en forma de T

Expresiones de gratitud
Reconocemos la valiosa asistencia técnica brindada por Kristin Wogan.

Contribuciones del autor
Experimentos de comportamiento de MZ. BH, programación en Audacity/Matlab, análisis HPLC. TP, IV, reproducción, genotipado y materiales proporcionados. NB, TP, RW, conceptualización y diseño del estudio. NB, datos y análisis estadístico. AR, NB, borrador del manuscrito. NB, AR, diseño de figuras. NB, obtención de financiación. Todos los autores contribuyeron a las revisiones del borrador del manuscrito.

Fondos
Financiación de acceso abierto facilitada y organizada por el Proyecto DEAL. El trabajo presentado en este estudio fue financiado por la Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, Fundación Alemana de Investigación) con los números de proyecto 518530049, 521379614 (SFB/TRR 393) y 454245598 (GRK2773/1).

Disponibilidad de datos
Todos los datos se proporcionan dentro del manuscrito.

Declaraciones

Aprobación ética y consentimiento para participar
Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las directrices de la Unión Europea sobre el cuidado y el uso de animales de laboratorio (Directiva UE 2010/63/UE).

y fueron aprobados por los comités de ética locales (Landesdirektion Sachsen, No. 10/2018, Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales No. 66/2016).

Intereses en competencia
Los autores declaran no tener intereses en conflicto.

Recibido: 11 de febrero de 2025 / Aceptado: 21 de junio de 2025
Published online: 03 July 2025

Referencias

1. Asociación Americana de Psiquiatría. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales: DSM-5. 5.ª ed. Arlington: Asociación Americana de Psiquiatría; 2013.

2. Christensen DL, Bilder DA, Zahorodny W, Pettygrove S, Durkin MS, Fitzgerald RT, et al. Prevalencia y características del trastorno del espectro autista en niños de 4 años de la Red de Monitoreo del Autismo y las Discapacidades del Desarrollo. *J Dev Behav Pediatr.* 2016;37(1):1–8.

3. Zeidan J, Fombonne E, Scorch J, Ibrahim A, Durkin MS, Saxena S, et al. Prevalencia global del autismo: actualización de una revisión sistemática. *Autism Res.* 2022;15(5):778–90.

4. McCracken JT, Anagnostou E, Arango C, Dawson G, Farchione T, Mantua V, et al. Desarrollo de fármacos para el trastorno del espectro autista (TEA): avances, desafíos y futuras direcciones. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2021;48:3–31.

5. Gogate A, Kaur K, Khalil R, Bashtawi M, Morris MA, Goodspeed K, et al. El panorama genético del trastorno del espectro autista en una cohorte ancestralmente diversa. *Npj Genom Med.* 2024;9(1):1–22.

6. Willsey HR, Willsey AJ, Wang B, State MW. Genómica, neurociencia convergente y avances en la comprensión del trastorno del espectro autista. *Nat Rev Neurosci.* 2022;23(6):323–41.

[Artículo gratuito de PMC] [PubMed] 7. Satterstrom FK, Kosmicki JA, Wang J, Breen MS, De Rubeis S, An JY, et al. El estudio de secuenciación del exoma a gran escala implica cambios funcionales y de desarrollo en la neurobiología del autismo. *Celula.* 2020;180(3):568–e58423.

8. Gaugler T, Klei L, Sanders SJ, Bodea CA, Goldberg AP, Lee AB, et al. El mayor riesgo genético de autismo reside en la variación común. *Nat Genet.* 2014;46(8):881–5.

9. Geschwind DH. Genética de los trastornos del espectro autista. *Trends Cogn Sci.* 2011;15(9):409–16.

10. Kazdoba TM, Leach PT, Crawley JN. Fenotipos conductuales de modelos genéticos murinos de autismo. *Genes Brain Behav.* 2016;15(1):7–26.

11. Möhrle D, Fernández M, Peñagarikano O, Frick A, Allman B, Schmid S. Lo que podemos aprender de un modelo genético de roedores sobre el autismo. *Neurosci Biobehavioral Reviews.* 2020;109:29–53.

12. Kas MJ, Glennon JC, Buitelaar J, Ey E, Biemans B, Crawley J, et al. Evaluación de los dominios conductuales y cognitivos de los trastornos del espectro autista en roedores: estado actual y perspectivas futuras. *Psicofarmacología.* 2014;231(6):1125–46.

13. Whitehouse CM, Lewis MH. Conducta repetitiva en el neurodesarrollo Trastornos: hallazgos clínicos y transcripcionales. *Behav Anal.* 2015;38(2):163–78.

14. Sundberg M, Sahin M. Desarrollo cerebeloso y trastorno del espectro autista en el complejo de esclerosis tuberosa. *J Child Neurol.* 2015;30(14):1954–62.

15. Niu M, Han Y, Dy ABC, Du J, Jin H, Qin J, et al. Síntomas de autismo en el síndrome de X frágil. *J Niño Neurol.* 2017;32(10):903–9.

16. Jamain S, Radyushkin K, Hammerschmidt K, Granon S, Boretius S, Varoqueaux F, et al. Reducción de la interacción social y la comunicación ultrasónica en un modelo murino de autismo monogénico hereditario. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(5):1710–5.

17. Betancur C, Buxbaum JD. Haploinsuficiencia SHANK3: una causa monogénica altamente penetrante, común pero subdiagnosticada, de trastornos del espectro autista. *Mol Autismo.* 2013;4:17.

18. Radyushkin K, Hammerschmidt K, Boretius S, Varoqueaux F, El-Kordi A, Ronnenberg A, et al. Ratones deficientes en neuroligina-3: modelo de una forma monogénica hereditaria de autismo con déficit olfativo. *Genes Brain Behav.* 2009;8(4):416–25.

19. Specchio N, Pietrafusa N, Trivisano M, Moavero R, De Palma L, Ferretti A, et al. Autismo y epilepsia en pacientes con complejo de esclerosis tuberosa. *Front Neurol.* 2020;11:639.

20. Crino PB, Nathanson KL, Henske EP. El complejo de esclerosis tuberosa. *N Engl J Med.* 2006;355(13):1345–56. <https://doi.org/10.1056/NEJMra055323>

21. Kútna V, O’Leary VB, Newman E, Hoschl C, Ovespian SV. Revisando el cerebro Complejo de esclerosis tuberosa en ratas y humanos: características moleculares y celulares compartidas

La patología conduce a fenotipos neurofisiológicos y conductuales distintos. *Neuroterapéutica.* 2021;18(2):845–58.

22. Jeste SS, Varcin KJ, Hellemann GS, Gulsrud AC, Bhatt R, Kasari C, et al. Perfiles de síntomas del trastorno del espectro autista en el complejo de esclerosis tuberosa. *Neurología.* 2016;87(8):766–72.

23. Gadad BS, Hewitson L, Young KA, German DC. Neuropatología y modelos animales de autismo: factores genéticos y ambientales. *Autism Res Treat.* 2013;2013:731935.

24. Palavra F, Robalo C, Reis F. Avances y desafíos recientes del uso de inhibidores de mTOR en el tratamiento de pacientes con esclerosis tuberosa. *Oxidative Med Cell Longev.* 2017;2017(1):9820181.

25. Switon K, Kotulska K, Janusz-Kaminska A, Zmorzynska J, Jaworski J. Neurobiología molecular de mTOR. *Neurociencia.* 2017;341:112–53.

26. Lipton JO, Sahin M. La neurología de mTOR. *Neuron.* 2014;84(2):275–91.

27. Eker R, Mossige J. Un gen dominante para adenomas renales en la rata. *Nature.* 1961;189(4767):858–9.

28. Yeung RS, Xiao GH, Jin F, Lee WC, Testa JR, Knudson AG. La predisposición al carcinoma renal en la rata Eker está determinada por la mutación germinal del gen de la esclerosis tuberosa 2 (TSC2). *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91(24):11413–6.

29. Granak S, Tuckova K, Kutna V, Vojtechova I, Bajkova L, Petrasek T, et al. Efectos del desarrollo de la hiperactividad constitutiva de mTORC1 y el enriquecimiento ambiental sobre la plasticidad sináptica estructural y el comportamiento en un modelo de rata con trastorno del espectro autista. *Eur J Neurosci.* 2023;57(1):17–31.

30. Chi OZ, Wu CC, Liu X, Rah KH, Jacinto E, Weiss HR. Restauración de la normalidad Consumo cerebral de oxígeno con rapamicina en un modelo de rata de autismo-esclerosis tuberosa. *Neuromolecular Med.* 2015;17(3):305–13.

31. Chi OZ, Liu X, Fortus H, Werlen G, Jacinto E, Weiss HR. Inhibición de p70 La quinasa ribosomal S6 (S6K1) reduce el flujo sanguíneo cortical en un modelo de rata con autismo y esclerosis tuberosa. *Neuromolecular Med.* 2024;26(1):10.

32. Kútna V, Utti L, Waltereit R, Kristofiková Z, Kaping D, Petrásek T, et al. El modelo de esclerosis tuberosa (tsc2^{-/-}) en ratas Eker revela una extensa pérdida neuronal con invasión microglial y remodelación vascular relacionada con la neoplasia cerebral. *Neuroterapéutica.* 2020;17(1):329–39.

33. Von Der Brelie C, Waltereit R, Zhang L, Beck H, Kirschstein T. Plasticidad sináptica alterada en un modelo de rata con esclerosis tuberosa. *Eur J Neurosci.* 2006;23(3):686–92.

34. Takahashi DK, Dinday MT, Barbaro NM, Baraban SC. Células corticales anormales y astrocitos en el modelo de rata Eker del complejo de esclerosis tuberosa. *Epilepsia.* 2004;45(12):1525–30.

35. Waltereit R, Japs B, Schneider M, de Vries PJ, Bartsch D. Epilepsy y Tsc2 La haploinsuficiencia conduce a conductas sociales deficitarias similares al autismo en ratas. *Behav Genet.* 2011;41(3):364–72.

36. Schneider M, de Vries PJ, Schönik K, Rößner V, Waltereit R. Un inhibidor de mTOR revierte las conductas sociales deficitarias de tipo autista en ratas adultas con haploinsuficiencia de Tsc2 y estado epiléptico del desarrollo. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2017;267(5):455–63.

37. Petrasek T, Vojtechova I, Klovra O, Tuckova K, Vejmla C, Rak J, et al. El inhibidor de mTOR mejora las conductas autistas relacionadas con la haploinsuficiencia de Tsc2, pero no tras el estado epiléptico del desarrollo. *J Neurodev Disord.* 2021;13:14.

38. Angoa-Pérez M, Kane MJ, Briggs DI, Francescutti DM, Kuhn DM. Enterramiento de canicas y trituración de nidos como pruebas de comportamientos repetitivos y compulsivos en ratones. *J Vis Exp.* 2013;(82):50978.

39. Kozlova AA, Rubets E, Varelzoglou MR, Jarzebska N, Ragavan VN, Chen Y, et al. La inactivación del regulador crítico de la óxido nítrico sintasa, DDAH1, en ratones afecta la sensibilidad a las anfetaminas y el metabolismo de la dopamina. *J Neural Transm (Viena).* 2023;130(9):1097–112.

40. Thomas A, Burant A, Bui N, Graham D, Yuva-Paylor LA, Paylor R. Marble Enterrar refleja un comportamiento repetitivo y perseverante más que la ansiedad inducida por la novedad. *Psicofarmacología.* 2009;204(2):361–73.

41. Campeau S. Aparatos y métodos generales para la exposición de ratas a estrés audiogénico. *Bio Protoc.* 2016;6(21):e1994.

42. Valsamis B, Schmid S. Habitación e inhibición prepulso del sobresalto acústico en roedores. *J Vis Exp.* 2011;55:3446.

43. Bouwknecht JA, Spiga F, Staub DR, Hale MW, Shekhar A, Lowry CA. Efectos diferenciales de la exposición a luz tenue o intensa en campo abierto sobre las conductas relacionadas con la ansiedad; relación con la expresión de c-Fos en neuronas serotoninérgicas y no serotoninérgicas del núcleo del rafe dorsal. *Brain Res Bull.* 2007;72(1):32–43.

44. Commons KG, Cholanians AB, Babb JA, Ehlinger DG. La prueba de natación forzada en roedores mide la estrategia de afrontamiento del estrés, no el comportamiento similar a la depresión. *ACS Chem Neurosci*. 2017;8(5):955–60.

45. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Desesperación conductual en ratas: un nuevo modelo sensible a los tratamientos antidepressivos. *Eur J Pharmacol*. 1978;47(4):379–91.

46. Slattery DA, Cryan JF. Uso de la prueba de natación forzada en ratas para evaluar la actividad similar a la antidepressiva en roedores. *Nat Protoc*. 2012;7(6):1009–14.

47. Guariglia SR, Chadman KK. Laberinto acuático en T: un ensayo útil para la determinación de comportamientos repetitivos en ratones. *J Neurosci Methods*. 2013;220(1):24–9.

48. Meyerrolbersleben L, Winter C, Bernhardt N. Disociación del deseo y la Agrado en la prueba de preferencia por la sacarosa en ratas con sobreexpresión del transportador de dopamina. *Behav Brain Res*. 2020;378:112244.

49. Hadar R, Edemann-Callesen H, Reinel C, Wieske F, Voget M, Popova E, et al. Las ratas que sobreexpresan el transportador de dopamina presentan anomalías conductuales y neurobiológicas relevantes para los trastornos repetitivos. *Sci Rep*. 2016;6(1):39145.

50. Winslow JT, Camacho F. Modulación colinérgica de un decremento en la actividad social Investigación tras contactos repetidos entre ratones. *Psicofarmacología*. 1995;121(2):164–72.

51. Kelly PH, Seviour PW, Iversen SD. Respuestas a la anfetamina y la apomorfina en ratas tras lesiones por 6-OHDA en el núcleo accumbens septi y el cuerpo estriado. *Brain Res*. 1975;94(3):507–22.

52. Blanca MJ, Alarcón R, Arnau J, Bono R, Bendayan R. Datos no normales: ¿ANOVA sigue siendo una opción válida? *Psicotema*. 2017;29(4):552–7.

53. Sun J, Yuan Y, Wu X, Liu A, Wang J, Yang S, et al. Las neuronas excitatorias SST en el núcleo paralemniscal medial controlan el autoacicalamiento repetitivo y codifican la recompensa. *Neuron*. 2022;110(20):3356–73.e8.

54. Muehlmann AM, Lewis MH. Conductas repetitivas anormales: fenómenos compartidos Nomenclología y fisiopatología. *J Intellect Disabil Res*. 2012;56(5):427–40.

55. Moy SS, Riddick NV, Nikolova VD, Teng BL, Agster KL, Nonneman RJ, et al. Perfil de comportamiento repetitivo e hipersensibilidad a la anfetamina en el modelo murino de autismo C58/J. *Behav Brain Res*. 2014;259:200–14.

56. Kim H, Lim CS, Kaang BK. Mecanismos neuronales y circuitos subyacentes Comportamientos repetitivos en modelos murinos de trastorno del espectro autista. *Behav Brain Funct*. 2016;12(1):3.

57. Gandhi T, Lee CC. Mecanismos neuronales subyacentes a las conductas repetitivas en modelos de roedores con trastornos del espectro autista. *Front Cell Neurosci*. 2021;14:592710.

58. Parr-Brownlie LC, Hyland BI. La bradicinesia inducida por el bloqueo del receptor D2 de dopamina se asocia con una reducción de la actividad de la corteza motora en la rata. *J Neurosci*. 2005;25(24):5700–9.

59. Kalueff AV, Stewart AM, Song C, Berridge KC, Graybiel AM, Fentress JC. Neurobiología del autoacicalamiento en roedores y su valor para la neurociencia traslacional. *Nat Rev Neurosci*. 2016;17(1):45–59.

60. de Brouwer G, Fick A, Harvey BH, Wolmarans DW. Una investigación crítica sobre El enterramiento de canicas como paradigma de cribado preclínico relevante para la ansiedad y el trastorno obsesivo-compulsivo: un mapa del futuro. *Cogn Affect Behav Neurosci*. 2019;19(1):1–39.

61. Taylor GT, Lerch S, Chourbaji S. Enterrar canicas como conducta compulsiva en ratones machos y hembras. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2017;77(3):254–60.

62. Vaccarino F, Franklin KBJ. La autoestimulación y el movimiento circular revelan funcionalidad Diferencias entre la sustancia negra medial y lateral. *Behav Brain Res*. 1982;5(3):281–95.

63. Abbott AE, Linke AC, Nair A, Jahedi A, Alba LA, Keown CL, et al. Las conductas repetitivas en el autismo están relacionadas con el desequilibrio del control corticoestriatal. Conectividad: un estudio de resonancia magnética de conectividad funcional. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 2018;13(1):32–42.

64. Kim IH, Rossi MA, Aryal DK, Racz B, Kim N, Uezu A, et al. La poda de la columna impulsa la locomoción sensible a los antipsicóticos a través del control del circuito de dopamina estriatal. *Nat Neurosci*. 2015;18(6):883–91.

65. Goorden SMI, van Woerden GM, van der Weerd L, Cheadle JP, Elgersma Y. Déficits cognitivos en ratones Tsc1+/- en ausencia de lesiones cerebrales y convulsiones. *Ann Neurol*. 2007;62(6):648–55.

66. Reith RM, McKenna J, Wu H, Hashmi SS, Cho SH, Dash PK, et al. Pérdida de Tsc2 En las células de Purkinje, la actividad se asocia con un comportamiento similar al autismo en un modelo murino de esclerosis tuberosa. *Neurobiol Dis*. 2013;51:93–103.

67. Pearson B, Pobbe R, Defensor E, Oasay L, Bolívar V, Blanchard D, et al. Motor y estereotipias cognitivas en el modelo murino de autismo BTBR T+tf/J. *Genes Brain Behav*. 2011;10(2):228–35.

68. Shin W, Kweon H, Kang R, Kim D, Kim K, Kang M, et al. Haploinsuf- Scn2a La deficiencia de riboflavina en ratones suprime la excitabilidad neuronal del hipocampo,

impulso sináptico, potenciación a largo plazo y aprendizaje y memoria espacial. *Frente Mol Neurosci*. 2019;12:145.

69. Bauer HF, Delling JP, Bockmann J, Boeckers TM, Schön M. Desarrollo de Fenotipos conductuales específicos de sexo y genotipo en un modelo murino Shank3 para trastornos del neurodesarrollo. *Front Behav Neurosci*. 2023;16:1051175.

70. Yoo T, Cho H, Lee J, Park H, Yoo YE, Yang E et al. Deleción neuronal de GABA En ratones, los exones 14-16 del gen Shank3 suprimen la entrada sináptica excitatoria estriatal e inducen anomalías sociales y locomotoras. *Front Cell Neurosci*. 9 de octubre de 2018;12:341.

71. Peça J, Feliciano C, Ting JT, Wang W, Wells MF, Venkatraman TN, et al. Ratones con mutación Shank3 presentan comportamientos autistas y disfunción estriatal. *Nature*. 2011;472(7344):437–42.

72. Jung S, Park M. Shank: Proteínas de andamiaje postsináptico en el trastorno del espectro autista: modelos murinos y sus disfunciones en comportamientos, sinapsis y moléculas. *Pharmacol Res*. 2022;182:106340.

73. García-Villamizar D, Rojahn J. La psicopatología comórbida y el estrés median la relación entre los rasgos autistas y las conductas repetitivas en adultos con autismo. *J Intellect Disabil Res*. 2015;59(2):116–24.

74. Katz RJ, Roth KA. Acicalamiento inducido por estrés en ratas: un mecanismo mediado por endorfinas. *síndrome. Neurosci Lett*. 1979;13(2):209–12.

75. Homberg JR, Van Den Akker M, Raasa HS, Wardeh G, Binnekade R, Schoffel-Meer ANM, et al. El aumento de la motivación para autoadministrarse cocaína se predice mediante la conducta de acicalamiento y se relaciona con la liberación de dopamina en la corteza prefrontal medial y la amígdala de ratas. *Eur J Neurosci*. 2002;15(9):1542–50.

76. Amodio DA, Jones JH, Sweeney JA, Ragazzino ME. Diferencias en ratones BTBR T+tf/J y C57BL/6J en el aprendizaje de inversión probabilística y conductas estereotipadas. *Behav Brain Res*. 2012;227(1):64–72.

77. Whitehouse CM, Curry-Pochy LS, Shafer R, Rudy J, Lewis MH. Aprendizaje de reversión Ingesta en ratones C58: modelado de comportamiento repetitivo de orden superior. *Behav Brain Res*. 2017;332:372–8.

78. Solomon M, Smith AC, Frank MJ, Ly S, Carter CS. Aprendizaje probabilístico por refuerzo en adultos con trastornos del espectro autista. *Autism Res*. 2011;4(2):109–20.

79. Min JY, Park S, Cho J, Huh Y. La corteza insular anterior procesa el reconocimiento social. memoria de nición. *Sci Rep*. 2023;13(1):10853.

80. Choleris E, Clipperton-Allen AE, Phan A, Valsecchi P, Kavaliers M. Participación estrogénica en el aprendizaje social, el reconocimiento social y la evitación de patógenos. *Front Neuroendocr*. 2012;33(2):140–59.

81. Kim SH, An K, Namkung H, Saito A, Rannals MD, Moore JR, et al. Anterior Reconocimiento de novedad social asociado a la insula: roles fundamentales de una cascada local de ácido retinoico y la señalización de oxitocina. *AJP*. 2023;180(4):305–17.

82. Wallerit R, Welzl H, Dichgans J, Lipp HP, Schmidt WJ, Weller M. Memoria episódica mejorada y epilepsia kindling en un modelo de rata con esclerosis tuberosa. *J Neurochem*. 2006;96(2):407–13.

83. Werling DM, Geschwind DH. Diferencias de sexo en los trastornos del espectro autista. *Curr Opin Neurol*. 2013;26(2):146–53.

84. Leow KQ, Tonta MA, Lu J, Coleman HA, Parkinson HC. Hacia la comprensión de las diferencias de género en los trastornos del espectro autista. *Brain Res*. 2024;1833:148877.

85. Jeon SJ, Gonzales EL, Mabunga DFN, Valencia ST, Kim DG, Kim Y, et al. Características conductuales específicas del sexo de modelos de roedores del trastorno del espectro autista. *Exp Neurobiol*. 2018;27(5):321–43.

86. Murta V, Seiffe A, Depino AM. Diferencias sexuales en modelos murinos de trastornos del espectro autista: su potencial para revelar el impacto de la diferenciación sexual cerebral en el sesgo de género. *Sexes*. 2023;4(3):358–91.

87. Bove M, Sikora V, Santoro M, Agosti LP, Palmieri M, Dimonte S, et al. Diferencias sexuales en el modelo murino idiopático BTBR de trastornos del espectro autista: alteraciones hipocampales conductuales y redox. *Neurofarmacología*. 2024;260:110134.

88. El-Kordi A, Winkler D, Hammerschmidt K, Kästner A, Krueger D, Ronnenberg A, et al. Desarrollo de una escala de gravedad del autismo en ratones utilizando mutantes nulos de Ngn4 como modelo válido para el constructo de autismo monogénico hereditario. *Behav Brain Res*. 2013;251:41–9.

89. Saré RM, Lemons A, Figueroa C, Song A, Levine M, Beebe Smith C. Efectos selectivos de sexo sobre el comportamiento en un modelo de ratón del complejo de esclerosis tuberosa. *eNeuro*. 2020;7(2):ENEURO.0379-19.2020.

90. Onda H, Lueck A, Marks PW, Warren HB, Kwiatkowski DJ. Ratones Tsc2+/- Desarrollan tumores en múltiples sitios que expresan gelsolina y están influenciados por el trasfondo genético. *J Clin Invest*. 1999;104(6):687–95.

91. Rennebeck G, Kleymenova EV, Anderson R, Yeung RS, Artzt K, Walker CL. La pérdida de la función del gen supresor de tumores de la esclerosis tuberosa 2 da como resultado

Letalidad embrionaria caracterizada por la interrupción del crecimiento y desarrollo neuroepitelial. *Proc Natl Acad Sci US A*. 1998;95(26):15629–34.

92. Zheng W, Wang M, Cui Y, Xu Q, Chen Y, Xian P, et al. Establecimiento de un modelo de ratón de dos impactos del trastorno del espectro autista inducido por factores ambientales. *Heliyon*. 2024;10(9):e30617.

93. Li W, Pozzo-Miller L. Disfunción de la vía corticoestriatal en los trastornos del espectro autista. *J Neurosci Res*. 2020;98(11):2130–47.

94. Morency MA, Stewart RJ, Beninger RJ. Efectos de las microinyecciones unilaterales de sulpirida en la corteza prefrontal medial sobre el comportamiento circular en ratas. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1985;9(5):735–8.

95. Kelly E, Meng F, Fujita H, Morgado F, Kazemi Y, Rice LC, et al. Regulación de conductas relevantes para el autismo mediante circuitos corticales cerebelosos-prefrontales. *Nat Neurosci*. 2020;23(9):1102–10.

96. Doll BB, Jacobs WJ, Sanfey AG, Frank MJ. Control instruccional del refuerzo-Aprendizaje cognitivo: una investigación conductual y neurocomputacional. *Brain Res*. 2009;1299:74–94.

97. Han S, Tai C, Jones CJ, Scheuer T, Catterall WA. La potenciación de la neurotransmisión inhibitoria por receptores GABAA con subunidades $\alpha 2,3$ mejora los déficits conductuales en un modelo murino de autismo. *Neuron*. 2014;81(6):1282–9.

98. O'Neill M, Brown VJ. El efecto del agotamiento de dopamina estriatal y la Antagonista de la adenosina A2A KW-6002 sobre el aprendizaje inverso en ratas. *Neurobiol Learn Mem*. 2007;88(1):75–81.

99. Vanderschuren LJ, Schmidt ED, De Vries TJ, Van Moorsel CA, Tilders FJ, Schof-felmeer AN. Una sola exposición a la anfetamina es suficiente para inducir sensibilización conductual, neuroendocrina y neuroquímica a largo plazo en ratas. *J Neurosci*. 1999;19(21):9579–86.

100. Taracha E, Czarna M, Turzyńska D, Maciejak P. Inducido por anfetamina Alteraciones prolongadas de los niveles tisulares de dopamina y serotonina en el cerebro de rata. *Pharmacol Rep*. 2023;75(3):596–608.

101. Blum K, Bowirrat A, Sunder K, Thanos PK, Hanna C, Gold MS, et al. Desregulación de la dopamina en la recompensa y el trastorno del espectro autista. *Brain Sci*. 2024;14(7):733.

102. Sato M, Nakai N, Fujima S, Choe KY, Takumi T. Circuitos sociales y su disfunción en el trastorno del espectro autista. *Mol Psychiatry*. 2023;28(8):3194–206.

Nota del editor
Springer Nature se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales en mapas publicados y afiliaciones institucionales.