



**Universidad
de Valparaíso**
CHILE

UNIVERSIDAD VALPARAÍSO

FACULTAD DE CIENCIAS

MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS MENCIÓN NEUROCIENCIAS

Actividad oscilatoria de la corteza prefrontal medial y su relación con la conducta social en un modelo murino de esquizofrenia

Alex Cáceres Álvarez

PROYECTO DE TESIS

PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

MENCIÓN NEUROCIENCIAS.

DIRECTOR DE TESIS: Dr. IGNACIO NEGRÓN.

CODIRECTOR: Dr. MARCO FUENZALIDA.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	3
RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. Cognición social en esquizofrenia	6
1.2. Bases neuroanatómicas del deterioro sociocognitivo en esquizofrenia	6
1.3 Bases neurofisiológicas del deterioro sociocognitivo en la esquizofrenia.	8
1.4. Relación entre dinámica I-E y cognición en SZ: La oscilación gamma	10
1.5. Modelos animales de esquizofrenia.	12
2. RESUMEN Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.	14
3. HIPÓTESIS.	15
4. OBJETIVO GENERAL.	15
5. METODOLOGÍA.	16
5.1. Estrategia experimental.	16
5.2. Animales.	17
5.3. Construcción de microelectrodos	17
5.4. Cirugía estereotáxica.	18
5.5. Pruebas de comportamiento y procedimientos de registro.	18
5.5.1. Open Field.	18
5.5.2. Zero Maze.	19
5.5.3. Test de preferencia social	20
5.6. Registro neuronal in vivo de LFP.	21
5.7. Análisis de datos.	22
5.8. Histología.	23
6. RESULTADOS.	24
7. DISCUSIÓN.	39
8. CONCLUSIÓN.	42
9. ANEXOS.	44
8. REFERENCIAS.	45

ABREVIATURAS

CPFm: Corteza prefrontal medial

EZ: Esquizofrenia

EEG: electroencefalograma

GABA: Ácido γ -aminobutírico

GAD67: glutamato descarboxilasa de 67 kD

(E-I): Balance excitación-Inhibición

IN PV: Interneuronas parvalbúmina positivas

Ket: Ketamina (2-chlorophenyl-2-methylamino-cyclohexanone)

LFP: Potencial de campo local

NMDAr: receptor N-metil-D-Aspartato

PV: Parvalbúmina

PSD: Densidad de poder espectral

RESUMEN

El déficit en la conducta social asociado a la esquizofrenia (EZ) se ha vinculado a posibles alteraciones en la maduración neuronal de la corteza prefrontal medial (CPFm) durante la adolescencia. Se postula que la hipofunción de los receptores NMDAR en la CPFm durante este periodo contribuye a desequilibrar la función excitatoria/inhibitoria, afectando las oscilaciones gamma. Aunque se han observado anomalías en estas oscilaciones en individuos con EZ, aún no se ha establecido una conexión clara entre estas alteraciones y la conducta social. Esta investigación busca explorar la hipótesis de que el bloqueo crónico de los receptores NMDAR durante la adolescencia induce un deterioro en la conducta social en ratones adultos, asociado a cambios en los patrones de actividad oscilatoria en la CPFm.

OBJETIVO: Corroborar una relación entre los patrones de actividad oscilatoria gamma en la corteza prefrontal medial (CPFm) y la conducta social en la etapa post-adolescencia en un modelo de esquizofrenia (EZ) inducido mediante el bloqueo crónico de los receptores NMDA durante la adolescencia."

MÉTODOS: Se analizó la actividad oscilatoria post adolescencia, mediante registro de potencial de campo local (LFP) en la CPFm durante una prueba de preferencia y novedad social en un grupo control y un grupo murino de EZ generado a partir de la administración crónica con ketamina durante la adolescencia en ratones C57BL/6.

RESULTADOS: Nuestros resultados muestran que la administración del antagonista de NMDAR durante la etapa juvenil en ratones C57BL/6 afectó el comportamiento de enfoque de preferencia social post adolescencia, generando mayores tiempos de exploración social con un conoespecífico y paralelamente un mayor poder espectral en la actividad oscilatoria en frecuencia gamma en la corteza prefrontal comparado al grupo control.

CONCLUSIÓN: Aunque investigaciones anteriores han señalado déficits en la interacción social con el uso de antagonistas NMDAR, el incremento en el enfoque social observado en los ratones tratados con ketamina en nuestro estudio podría indicar un déficit en el reconocimiento social. Por otro lado, estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la disfunción de los receptores NMDA desempeña un papel en la alteración de las oscilaciones gamma en la esquizofrenia.

1.- Introducción

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la esquizofrenia (EZ) afecta a más de 21 millones de personas en todo el mundo (1). Este trastorno psiquiátrico grave está asociado con una discapacidad significativa que puede tener un impacto en el funcionamiento social, educativo y laboral (2). La esquizofrenia se caracteriza por un síndrome conductual y cognitivo complejo, y parece tener su origen en la interrupción del desarrollo cerebral, que involucra áreas como la corteza prefrontal, el hipocampo y el sistema límbico, y puede ser causada por factores genéticos y/o ambientales (3). El diagnóstico se realiza clínicamente sobre la base de la historia y por un examen del estado mental, sin pruebas de diagnóstico o biomarcadores disponibles, teniendo como características centrales los síntomas positivos o episodios psicóticos (delirios, alucinaciones), junto con síntomas negativos (abulia, alogia, asociabilidad, anhedonia, avolición) y deterioro cognitivo (4–6). Aunque no se consideran en el diagnóstico, los síntomas cognitivos que se manifiestan en la EZ, representan un desafío en el tratamiento debido a la poca claridad en el origen neurofisiológico. Si bien los medicamentos antipsicóticos brindan un alivio a los síntomas positivos (7), los síntomas cognitivos tienden a persistir y a causar una discapacidad social profunda, transformándose en indicadores de gravedad de la enfermedad (8). Debido a la dificultad que supone cuantificar los aspectos cognitivos en la EZ, se ha establecido una batería de pruebas para su evaluación, desarrollada por el Instituto Nacional de Salud Mental (NIMH) de EE. UU (9). Esta evaluación incluye siete dominios relacionados con la cognición: velocidad de procesamiento, atención-vigilancia, memoria de trabajo, aprendizaje verbal, aprendizaje visual, razonamiento - resolución de problemas, y cognición social. A partir de esto, se ha descrito extensamente que existe un deterioro cognitivo-funcional en pacientes con EZ (10–16). De manera importante las deficiencias sociales se han asociado a desempeños ocupacionales deficientes y a una menor calidad de vida (13–15,17). Debido a esta evidencia, se hace imperativo y necesario entender los mecanismos neurofisiológicos que subyacen en las manifestaciones de los deterioros sociales asociados a la EZ, para tratamientos más adecuados a los existentes.

1.1-Cognición social en EZ.

Los aspectos relacionados con la sociabilización de pacientes con EZ, han sido motivo de interés reciente en la neurociencia, debido a que es particularmente desafiante para estas personas comprender las señales sociales, el contexto social de estas y desarrollar relaciones interpersonales (17–20). La EZ se caracteriza por marcadas disfunciones de la comunicación que abarcan deficiencias potenciales en el procesamiento de información social-abstracta, especialmente en situaciones cotidianas donde están presentes múltiples modalidades en forma de habla y gesto (18,19). Este deterioro en la sociabilización se enmarca en procesos cognitivos que en su conjunto son denominados cognición social. Este tipo de cognición involucra procesos psicológicos que están involucrados en la percepción, codificación, almacenamiento, recuperación y regulación de información sobre otras personas y sobre nosotros mismos (21,22). Se ha descrito en personas con EZ un deterioro en el reconocimiento facial de emociones, procesamiento de emociones, percepción social y teoría de la mente, es decir, una disfunción de la capacidad de comprender el comportamiento de los demás y de hacer inferencias sobre el estado mental de los otros por medio de las claves sociales en contextos concretos (23–27). Asimismo, algunos estudios sugieren que diferentes aspectos de la cognición social son responsables de diferentes estados funcionales y ocupacionales, así como de diferentes síntomas psicopatológicos (12–14). Por estos motivos, el deterioro de la cognición social es uno de los indicadores más importantes del funcionamiento psicosocial de las personas con EZ (15). A pesar de que la evidencia describe que los dominios cognitivos no-sociales y sociales están estrechamente relacionados entre sí (12,17), la cognición social parece ser un aspecto muy diferenciado de la cognición en su conjunto, involucrando específicamente la CPFm como su sustrato neuroanatómico esencial (28). Por ende, este deterioro socio cognitivo no sería una mera consecuencia de la enfermedad, sino más bien una manifestación diferenciada de la cognición no-social y de los síntomas negativos (12).

1.2.-Bases neuroanatómicas del deterioro socio-cognitivo en la EZ.

Esta diferenciación de funciones cognitivas se basa en las conexiones neuroanatómicas de la CPFm, que se puede dividir en dos secciones: la CPF medial (CPFm) y la CPF lateral (CPF) (29). Aunque participan colectivamente en la conducta cognitiva compleja y la toma de decisiones, así como en la moderación de las conductas sociales dirigidas a objetivos, existe consenso en que la CPF) y CPFm poseen

diferencias generales en la función cerebral (29). Mientras que la CPFm apoya el proceso de control cognitivo en general, la CPFm juega un papel fundamental en habilidades cognitivas sociales como la autorreflexión y la percepción social (30,31). La participación de la CPFm en la cognición social ha llevado a considerar a ésta como una región clave en la comprensión de uno mismo y de los demás. Se especula que esta función socio cognitiva deriva de la alta relación de conectividad con la región cingulada anterior, además de la ínsula, la amígdala y núcleo accumbens, áreas límbicas y mesocorticales, relacionadas con el valor del resultado conductual en términos de recompensa o aversión (32–34). Debido a esta relación, se involucra a la CPFm con el aprendizaje social y la predicción de resultados probables de las acciones ejecutadas (35).

Estudios de neuroimagen en pacientes con lesión focal de la CPFm muestran un comportamiento social gravemente deteriorado. La mayoría de los síntomas resultan en conductas o lenguaje desorganizado, discurso confabulatorio, apatía, desafección, insensibilidad a las consecuencias futuras de las acciones e inflexibilidad cognitiva (36–38). El papel atribuido a la CPFm es el control *top-down* sobre el procesamiento de mentalización y las emociones (39) en situaciones sociales complejas y novedosas. Este deterioro de la conducta social en personas con lesión focal de la CPFm, posee características similares en mayor o menor grado con algunas enfermedades psiquiátricas, como el síndrome de espectro autista y la EZ (40), indicando el rol de la CPFm en la génesis de estos déficits socio-cognitivos. Específicamente, estudios de neuroimagen en pacientes con EZ que muestran un rendimiento deficiente en tareas socio-cognitivas (41–43), también muestran una menor conectividad entre la CPFm y las regiones extendidas, incluida la corteza cingulada anterior (44) y las regiones asociadas con el circuito mesolímbico-talamocortical (45,46). Es así que, en un estudio de resonancia magnética funcional, pacientes con EZ mostraron una activación reducida en la CPFm al procesar contenido social-abstracto gestual, cuando se les pidió identificar si correspondía a la descripción de una persona o un objeto (47).

El inicio de la EZ en la adolescencia es una de sus características centrales, manifestándose a través de disfunciones cognitivas que pueden ser observadas antes de la aparición de los síntomas psicóticos, que aparecen típicamente durante la adolescencia tardía o adultez temprana (48). Es sabido que la adolescencia es una etapa especialmente crítica para el normal desarrollo de la CPF, debido a la reorganización sináptica de redes neuronales que ocurren en este período y que pueden ser relevantes en la aparición de las disfunciones cerebrales de la EZ (49). Basado en esta evidencia, los deterioros socio-cognitivos de la EZ apuntan a un deterioro funcional de la CPFm gatillado durante la adolescencia como sustrato neuroanatómico (48,49).

1.3.- Bases neurofisiológicas del deterioro socio-cognitivo.

1.3.1. Vulnerabilidad sináptica de la CPFm durante la Adolescencia

La CPF es una estructura de desarrollo tardío cuyos circuitos continúan madurando a través de la adolescencia hasta la edad adulta temprana (48). Ha sido descrito como un período de alta vulnerabilidad en el desarrollo de trastornos neuropsiquiátricos, ya que ocurren cambios sustanciales en la reorganización funcional y neuroquímica de la CPF, que coinciden con cambios a nivel cognitivo, social y emocional (49). Uno de los cambios más importantes es el aumento de la poda sináptica de las neuronas piramidales excitatorias glutamatérgicas y el aumento de la actividad de las sinapsis inhibitorias GABAérgicas, definiendo en gran medida la actividad de la CPF regulada por neuromoduladores que incluyen, entre otros, catecolaminas, acetilcolina y serotonina (50-52). La interacción de estas señales sinápticas por parte de las neuronas piramidales e interneuronas (IN) se puede condensar en una relación de actividad excitadora e inhibidora, denominada balance excitación-inhibición (E-I) (50). Se postula que un desequilibrio en el balance E-I durante este período podría generar cambios en la maduración de los circuitos neuronales que median el procesamiento de la recompensa y la regulación de los estímulos socioafectivos y la modulación de estos circuitos por parte de los sistemas de control prefrontal en la EZ (50-54). Dentro de este equilibrio en la CPF, las neuronas GABAérgicas que expresan parvalbúmina (PV) tienen un papel importante en regular la actividad de poblaciones de las neuronas piramidales corticales excitatorias (54). Se ha observado una disminución en los niveles de ácido glutámico descarboxilasa (GAD 67), la enzima responsable de la síntesis de GABA en las interneuronas de la CPF, en estudios histológicos que analizaron tejido cerebral post-mortem de pacientes con EZ (57). Asimismo, los resultados de un reciente meta-análisis de estudios post-mortem (58) indican una menor densidad de interneuronas PV en la CPF de individuos con EZ. Estas alteraciones histológicas sugieren que las interneuronas PV GABAérgicas son particularmente susceptibles o afectadas en la patología de la enfermedad (55, 56, 57, 58).

1.3.2. Disfunción de los receptores NMDA en interneuronas PV

Una idea central en la fisiopatología y que podría explicar estas anomalías en la EZ es el posible desarrollo deficiente de los receptores ionotrópicos glutamatérgicos N-metil-D-aspartato (NMDAR) durante la adolescencia que afectaría especialmente a las interneuronas PV (49-53). Su mayor

vulnerabilidad en comparación con las neuronas piramidales puede deberse por las características biofísicas y proporción de las subunidades (GluN2A/ GluN2B) que componen a los NMDAR y que en conjunto afectarían las respuestas postsinápticas dependientes de NMDAR (60). La formación sináptica y de circuitos durante el desarrollo dependiente de la experiencia, que se basa en la plasticidad mediada por NMDAR, sugiere que los NMDAR que contienen GluN2B son el pilar en el mantenimiento de la plasticidad del período crítico (61). En la transición de adolescencia a adultez existe un cambio en la proporción de subunidades de NMDA GluN2B a GluN2A, este desarrollo ocurre más tarde en la CPF que en otras regiones del cerebro y marca la transición de la adolescencia al procesamiento neuronal adulto (60,76). Las neuronas piramidales de la capa II/ III exhiben una cantidad igual de subunidades GluN2A y GluN2B, mientras que las neuronas piramidales de la capa V expresan más subunidades GluN2B durante el desarrollo adolescente a adulto (76). Por el contrario, las interneuronas GABAérgicas PV exhiben un claro cambio de subunidad GluN2B a GluN2A durante este periodo (76). Esto respalda la idea de que la hipofunción glutamatergica está vinculada con la disfunción de las interneuronas GABAérgicas PV de la CPF, especialmente durante la adolescencia. Durante este periodo crítico de desarrollo, las interneuronas PV experimentan una transición significativa en la composición de subunidades de NMDA de GluN2B a GluN2A. La sensibilidad de las interneuronas GABAérgicas PV a las alteraciones en sus receptores de glutamato tipo NMDA durante la adolescencia sugiere que estas modificaciones en la composición de subunidades podrían desempeñar un papel importante en la función y disfunción de estas interneuronas, contribuyendo así a la hipofunción glutamatergica observada en la CPF durante este periodo de desarrollo (59). Otra evidencia proviene de la alteración de la actividad neuronal *in vivo* en modelos animales de EZ, sugiriendo que esta subunidad podría contribuir al inicio de la enfermedad (61). Los antagonistas NMDAR con afinidad a la subunidad 2A muestran un impacto más marcado en la actividad neuronal, a diferencia de los antagonistas dirigidos a las subunidades 2B, C o D, que tienen escaso o nulo efecto (61).

1.3.3. Relación entre la actividad de las interneuronas PV y el comportamiento social

Si bien la evidencia relaciona los deterioros sociales de la EZ con una hipoactividad de la CPFm, la base neurobiológica de estos déficits sigue siendo difícil de comprender. A partir de estudios electrofisiológicos *in vivo* en roedores, se ha descrito que las interneuronas PV de la CPFm elevan las tasas de descarga ante conductas de sociabilización (62–64). Específicamente se ha descrito una actividad preferencial de esta población cuando un ratón se acerca a un conoespecífico extraño, pero no presentan tal elevación cuando se acerca a un objeto inanimado (63,64). Esto supone la existencia de redes neuronales altamente especializadas que sostienen los procesos de comportamiento social. Esta conducta

de preferencia por la interacción con un conoespecífico es descrita como un fenómeno de recompensa social y es una característica fundamental en los comportamientos de sociabilización en roedores. A partir de esto, se ha estudiado el comportamiento social de estos animales y se ha demostrado que las conductas sociales pueden ser moduladas mediante la manipulación optogenética o quimiogenética de la CPFm (62, 63,65–67). Es así como la reactivación optogenética de estos conjuntos neuronales de la CPFm posterior a una interacción social previa con compañeros de jaula, amortiguan las conductas de *freezing* en contextos de miedo aprendido, fenómeno conocido como *social buffering* (66). Otros resultados establecen un rol de las eferencias de la CPFm hacia núcleos subcorticales en las conductas de evitación social o de resiliencia subyacente (62). En un estudio reciente se demostró en ratones que la inhibición específica de subconjuntos neuronales PV de la CPFm produjo un deterioro de la conducta de preferencia social y, adicionalmente, la activación optogenética de estas mismas poblaciones produjo un efecto prosocial (63). Esta evidencia apunta a que la CPFm funciona de manera diferencial en los cálculos de red para el control *top-down* del comportamiento social.

1.4.- Relación entre dinámica E-I y cognición social en EZ: La oscilación gamma.

1.4.1 Oscilación gamma y Equilibrio E/I

Las oscilaciones cerebrales son la manifestación mesoscópica de la actividad coordinada de poblaciones neuronales (68). Específicamente el término “oscilación cerebral” hace referencia a las fluctuaciones rítmicas de los potenciales extracelulares llamados potenciales de campo local (LFP del inglés *Local Field Potential*) registrados a través de electrodos intracerebrales, (69). La actividad oscilatoria facilita la sincronización de la descarga de potenciales de acción de grupos neuronales o áreas corticales, cercanas o distantes (68). Se han descrito diferentes tipos de actividad oscilatoria y se han clasificado por la frecuencia en delta (1-3 Hz), theta (4-7 Hz), alfa (8-12 Hz), beta (13-30 Hz) y gamma (31-80 Hz) en humanos (70), y en roedores se han descrito frecuencias para delta (1–4 Hz), theta (8–12 Hz), beta (12-30 Hz), y gamma (30–100 Hz) (71). Durante el funcionamiento normal del cerebro, la amplitud y organización de las oscilaciones neurales dependen en gran medida de la inhibición mediada por interneuronas GABAérgicas y de la actividad de las células piramidales que regulan la activación de conjuntos neuronales, lo que conduce a fluctuaciones rítmicas en la excitabilidad neuronal. Se ha teorizado que para que suceda este estado oscilatorio, la dinámica E/I debe equilibrarse adecuadamente en el tiempo para determinar las propiedades oscilatorias en estas redes (70). Una manifestación importante de las alteraciones en el

equilibrio E/I son los cambios en el patrón de actividad oscilatoria cerebral. La actividad oscilatoria aparece a diferentes niveles cerebrales, participando en procesos motores, perceptivos y cognitivos (72), lo que sugiere un posible vínculo entre los procesos fisiopatológicos que sustentan las oscilaciones neuronales y los déficits cognitivos observados en la EZ (73,74). La evidencia indica que las oscilaciones gamma desempeñan un papel clave en procesos cognitivos que involucran la sincronización precisa de redes neuronales a microescala (55). Mantener estas oscilaciones en la banda de frecuencia gamma requiere un equilibrio preciso de E/I, junto con una sincronización temporal precisa (70). La convergencia de evidencia respalda la hipótesis de que las interneuronas de cestas de PV desempeñan un papel central en la generación de oscilaciones gamma, gracias a su conexión intrínseca con la inhibición perisomática y sus características distintivas, como el disparo rápido sin fatiga y la resonancia a frecuencias gamma. Aunque otras interneuronas pueden influir en la generación de dichas oscilaciones, la función crucial de las interneuronas de cestas de PV radica en proporcionar inhibición rápida y sincronizada (75). Activadas por la excitación glutamatérgica de las células piramidales, estas interneuronas emergen como elementos esenciales en la regulación de la dinámica de las oscilaciones gamma en el circuito cortical (76).

Debido a estas características temporales de actividad neuronal es que se ha propuesto que la alteración del equilibrio E/I sea particularmente manifestado en la actividad gamma, existiendo una amplia evidencia que apunta a mecanismos neuronales de interacción entre interneuronas GABAérgicas y neuronas piramidales (50, 51,76).

1.4.2. Interneuronas PV y Oscilaciones Gamma en Esquizofrenia

Las líneas convergentes de evidencia de varios estudios sugieren que las interneuronas PV juegan un papel central en la sincronización de la actividad de la red neuronal, apuntando a que la disfunción de la actividad de los NMDAR de estas interneuronas estaría involucrada en la alteración de las oscilaciones gamma en pacientes esquizofrénicos (50, 54, 55, 59,76–80). Los hallazgos varían en cuanto a la direccionalidad del poder de gamma, sugiriendo que la actividad oscilatoria mediada por las interneuronas PV es diferente según la región del cerebro y los mecanismos de generación en la red neural. Es así que existe evidencia basada en EEG que asocia el aumento del poder de gamma a síntomas positivos de la EZ (77). De igual forma, otros estudios describen un menor poder de oscilación gamma de manera intrínseca (EEG registrado en *resting state*) en estos pacientes (81,82). Adicionalmente se ha descrito una asociación entre déficits cognitivos en la EZ y una alteración del poder de gamma prefrontal

(79, 83,84). De manera interesante, se ha descrito que el abordaje terapéutico en estos pacientes, mediante el entrenamiento cognitivo, normaliza el poder gamma basal en las áreas de registro prefrontales (85,86).

Se han observado hallazgos similares en modelos preclínicos de EZ, mediante la administración de antagonistas NMDAR, como la fenciclidina o ketamina (122). Se ha evidenciado un aumento del poder espectral de gamma durante la exploración libre ante la aplicación de una dosis aguda de ketamina y una disminución del poder de gamma ante la administración crónica de este antagonista NMDAR (87). Otros estudios en roedores, utilizando estos modelos farmacológicos, han demostrado déficits cognitivos asociados a memoria de trabajo, aprendizaje y toma de decisiones (88).

A pesar de que se ha podido establecer una relación entre los deterioros cognitivos no-sociales de la EZ con una alteración del poder gamma en la CPF, la relación entre cognición social y la alteración de oscilaciones prefrontales en EZ, no ha sido establecida. Sin embargo, estudios en ratones han establecido una relación entre actividad oscilatoria gamma y cognición social (63, 89,90). Es así que en un estudio donde se utilizó la estimulación optogenética a 40 Hz en poblaciones de interneuronas PV de la CPFm, se demostró que se generan comportamientos de preferencia social en ratones adultos que habían sido sometidos a aislamiento social durante el desarrollo, revirtiendo los déficits de preferencia social que se manifestaron previo a la estimulación (90). De igual forma se ha descrito que la manipulación quimiogénica de interneuronas PV produce déficits de socialización en ratones, asociado a una disminución del poder espectral de la actividad oscilatoria gamma (63).

Esta relación entre actividad gamma y conducta social apunta a que los déficits socio cognitivos de la EZ podrían manifestarse y relacionarse con una disminución del poder espectral de oscilación gamma en la CPFm.

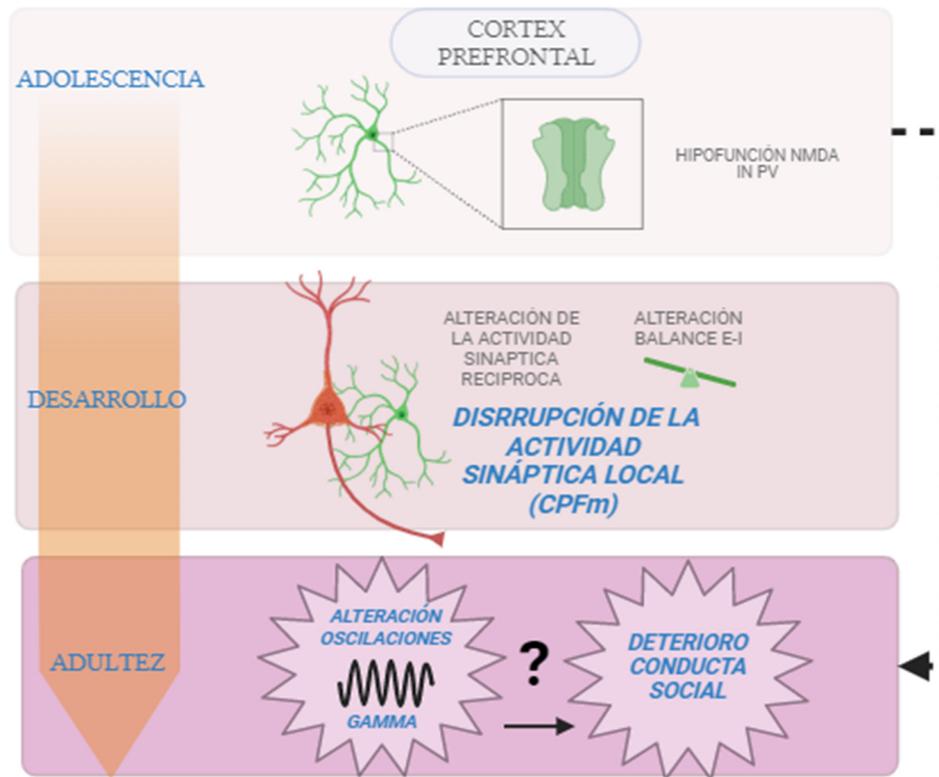
1.-5 Modelos animales de EZ

Por razones éticas, para conocer las bases neurofisiológicas de la EZ es necesario la utilización de modelos animales de EZ que puedan replicar las características observadas en los pacientes. Una de las principales ventajas de los modelos animales es que permiten examinar la actividad neuronal *in vivo* mediante arreglos de electrodos intracerebrales, correlacionando directamente esta actividad con el comportamiento. En la actualidad se han creado diferentes modelos murinos de EZ en base a los mecanismos subyacentes que están implicados en la génesis de la enfermedad, como son los factores

genéticos, factores de riesgo durante el desarrollo, o los factores implicados en la fisiopatología de la enfermedad (122). Específicamente, el hipofunción del receptor NMDA se ha considerado clave en la fisiopatología de EZ, en base a evidencia de que los antagonistas de este receptor, como la fenciclidina o la ketamina, inducen síntomas similares a la EZ cuando se administran a individuos sanos y exacerban los síntomas en pacientes con EZ (91,92). Por lo tanto, se han diseñado estudios en base a la administración crónica de antagonistas no competitivos del receptor NMDA a roedores juveniles con el propósito de proporcionar modelos animales adultos de EZ. La aplicación durante la juventud de antagonistas NMDAR, se fundamenta en el hecho de que los mecanismos fisiopatológicos de la EZ se originan durante este período, para luego manifestarse o exacerbar durante la adultez temprana (48-50). La exposición repetida de ketamina en roedores induce la disfunción de las interneuronas PV corticales con pérdida de expresión de PV y GAD67 (93), además facilita procesos de producción de superóxidos, responsables de la disfunción de las neuronas PV corticales (94). Estos efectos sobre el sistema de interneuronas PV son reversibles en adultos, pero irreversibles en cerebros en desarrollo (95).

Conductualmente, la administración crónica de ketamina en roedores, produce hiperlocomoción, deterioro del comportamiento social, y déficit en el aprendizaje y memoria de trabajo (88,93). Adicionalmente se ha informado de manera separada, que la administración crónica de ketamina produce una disminución del poder espectral γ en roedores durante pruebas conductuales (87). Esto sugiere que la hipofunción de NMDAR en las interneuronas puede ser responsable de los efectos neurofisiológicos y de comportamiento en estos animales. Sin embargo, se desconoce si el bloqueo de los NMDAR durante la adolescencia induce alteraciones en la cognición social y alteraciones oscilatorias en la CPFm en la adultez. Por lo tanto, proponemos que el modelo animal de EZ basado en la aplicación sistémica de ketamina durante la edad juvenil de ratones es coherente con la edad de instauración de la fisiopatología descrita en la literatura, lo que permite medir los efectos durante la edad adulta de los animales de forma traslacional a la edad en los humanos. Para eso planteamos la utilización de un modelo animal de EZ basado en la exposición farmacológica crónica en la adolescencia y estudiar el registro de actividad cerebral en la CPFm, durante la conducta social en la adultez.

Resumen gráfico del problema de investigación



2.- RESUMEN Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

- El deterioro en la conducta social en la EZ podría derivar de alteraciones en la maduración neuronal en la corteza prefrontal medial (CPFm) durante la adolescencia.
- La hipofunción de los receptores NMDAR en las interneuronas PV+ de la CPFm durante la adolescencia se postula como una posible causa de desequilibrio entre la actividad neuronal excitatoria e inhibitoria, lo que podría contribuir a la fisiopatología de la EZ.
- Estudios indican que las interneuronas PV+ están intrínsecamente relacionadas con la generación de oscilaciones gamma en la CPFm soportando conjuntamente conductas sociales.
- Se han observado anomalías en las oscilaciones gamma en individuos con EZ, lo que sugiere una disfunción en las redes neuronales de la CPFm que soportan la conducta social.
- Una asociación entre conducta social y la alteración de oscilaciones gamma prefrontales en un modelo de hipofunción NMDA de EZ, no ha sido establecida.

¿Existe una relación entre la alteración de la actividad oscilatoria de la CPFm y el deterioro en la conducta social en un modelo animal de EZ?

INNOVACIÓN E IMPACTO

Trabajos anteriores han relacionado la actividad cerebral gamma a procesos cognitivos no sociales, pero no se ha evaluado su manifestación intracortical en animales vivos asociado a conductas de cognición social en modelos farmacológicos de SZ. Por lo tanto, el impacto del trabajo que proponemos busca establecer una relación causal entre la actividad oscilatoria cerebral de la CPFm y la conducta socio-cognitiva, asociando específicamente los déficits sociales con una disminución de la actividad gamma en un modelo murino de EZ.

3.- HIPÓTESIS:

“El bloqueo crónico de los receptores NMDA durante la adolescencia induce un deterioro en la conducta social en ratones adultos, lo cual se asocia a cambios en los patrones de actividad oscilatoria en la CPFm”

4.- OBJETIVO GENERAL

Relacionar los patrones de actividad oscilatoria en la CPF con la conducta social en un modelo de EZ inducido por bloqueo crónico de NMDARs durante la adolescencia.

4.1.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la conducta social en la adultez en un modelo de EZ inducido por bloqueo crónico de NMDARs durante la adolescencia.

- Evaluar los patrones de actividad oscilatoria en la CPFm durante la adultez en un modelo de EZ inducido por bloqueo crónico de NMDARs durante la adolescencia.

- Establecer la relación entre los patrones de actividad oscilatoria en la CPFm con la conducta social en un modelo de EZ inducido por bloqueo crónico de NMDARs durante la adolescencia.

5.- METODOLOGÍA

5.1. Estrategia experimental

Este estudio buscó estudiar la conducta y la manifestación de oscilaciones gamma en la CPFm de un modelo animal de EZ (modelo farmacológico de ketamina) durante una prueba de preferencia social de cuatro fases. Esta prueba de preferencia social evaluó la preferencia del ratón de prueba, por interactuar con un estímulo social (S) versus un estímulo no social (NS). Este método S – NS estuvo diseñado con la intención de minimizar la variabilidad causada por interacciones impulsadas por la novedad, y para aislar de manera confiable el nivel de interés del animal hacia un estímulo social versus un estímulo no-social. Para explorar la manifestación neuronal de la CPFm en la interacción social, se realizaron registros electrofisiológicos de LFP en ratones machos adultos, implantando un arreglo de microelectrodos dirigidos a la CPFm. Esto permitió identificar patrones de actividad cerebral relacionados con la prueba conductual.

DISEÑO EXPERIMENTAL

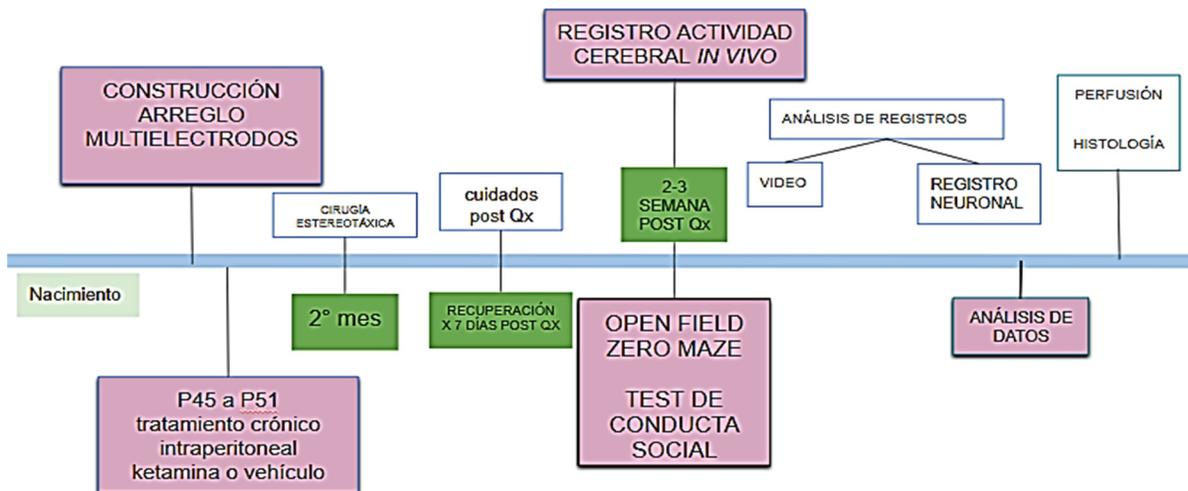


Diagrama que muestra la temporalidad de las distintas etapas del diseño experimental. Las etapas se detallan en la descripción de los métodos.

5.2. Animales

Se utilizaron dos grupos de entre 5 a 8 animales por grupo: grupo tratado con ketamina (n = 5) y otro grupo control (vehículo; solución salina; n = 8). Tanto en el grupo control como en el grupo experimental, se utilizaron ratones adultos macho C57BL/6 (2-3 meses de edad) durante la evaluación conductual. Previamente los animales se mantuvieron en grupos de 3-5 por jaula en un ciclo de luz-oscuridad 12/12 luego del destete (luces encendidas a las 8:00 a.m.) a temperatura ambiente de 22 ± 1 ° C, humedad relativa 55+-5%, con agua y alimento “*Ad libitum*”. La Ketamina fue administrada mediante inyecciones intraperitoneales (30 mg/kg) una vez al día durante siete días consecutivos (p45 a p51). A los animales control se les realizó el mismo procedimiento de inyecciones pero utilizando vehículo (NaCl 0.9%). Posteriormente a la última dosis de ketamina, los animales fueron sometidos a cirugía esterotóxica para la implantación de arreglo de multielectrodos para el registro de actividad neuronal, de igual manera que a los animales controles. **Los animales (n =15) utilizados en esta tesis para el análisis comportamental fueron expuestos a la administración de ketamina y a la implementación de electrodos según protocolos experimentales previamente realizados por otros experimentadores. Los procedimientos experimentales realizados en los animales antes señalados fueron evaluados en las actas de aprobación bioética N° BEA 112 (2017) para la administración de ketamina, y CBC 22 (2021), CBC 48 (2022) para la implantación de electrodos.** Se hicieron esfuerzos para minimizar el número de animales a utilizar.

5.3. Construcción de microelectrodos

Los arreglos de multielectrodos fueron construidos en el laboratorio para el registro electrofisiológico del potencial local de campo (LFP) en la CPF. Los arreglos estuvieron compuestos por cuatro tubos de acero inoxidable (calibre 30 gauges). Cada tubo contuvo dos electrodos de tungsteno de 50 μ m de diámetro (California Wires Co). Estos electrodos (impedancia: 0,1- 0.5 MOhm) se conectaron a una placa de interfaz de 8 canales con conector de tipo Omnetics. Previo a la implantación se estableció la longitud de los electrodos para alcanzar la CPFm (1,5-2 mm) de acuerdo con la estructura objetivo siguiendo coordenadas anatómicas previamente descritas (97). Como referencia y tierra, se instalaron 2 alambres de acero inoxidable (0,003, Satinl steel, A. M Systems) conectados a tornillos de 1,57 mm de longitud (MX-000120-01S; Miniature Stainless Steel Slotted Flat Head Machine Screws) para ser anclados al cráneo. La impedancia de cada electrodo fue verificada utilizando el amplificador de señal electrofisiológica (INTAN) registrando que todos presentaran una medida entre los 0.1-1 MOhm.

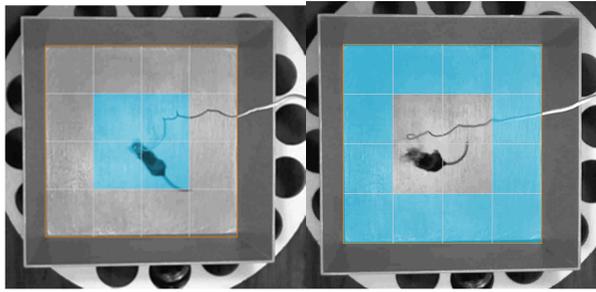
5.4. Cirugía estereotáxica

Se siguió el procedimiento de implantación de microelectrodos de la CPFm descrito anteriormente (96). En la etapa inicial, los animales fueron anestesiados con isoflurano al 3% en una caja de inducción de anestesia y luego se mantuvieron con 1-2% de isoflurano junto con un 60-80% de oxígeno a través de un vaporizador gaseoso durante todo el procedimiento. Durante la cirugía, se vigiló y mantuvo la temperatura central a 37°C mediante una almohadilla térmica. El procedimiento incluyó un corte en el pelaje para exponer el cuero cabelludo y realizar una incisión en la piel. Se realizó una craneotomía en el hemisferio derecho, dirigida a la CPF (coordenadas 2.22 mm AP, 0.25 mm ML desde el punto de referencia Bregma). Adicionalmente, se realizaron dos craneotomías en el hemisferio contralateral para la inserción de tornillos de tierra y referencia. Cada 30 min desde el inicio de la cirugía se administró al animal suero fisiológico vía subcutánea para evitar la deshidratación. La fijación del arreglo de multielectrodos al cráneo se llevó a cabo mediante acrílico dental. Posteriormente a la cirugía, los animales fueron alojados en jaulas individuales en un bioterio con temperatura y humedad controlada ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), teniendo acceso libre a comida y agua. Durante los 7 días posteriores a la cirugía, se realizó un seguimiento diario del peso y la salud general, administrando dosis subcutáneas de analgésico (Ketoprofeno, 5 mg/kg/día) y antibiótico (Enrofloxacin, 5 mg/kg/día). Concluido este periodo, se iniciaron los experimentos de comportamiento.

5.5. Pruebas de comportamiento y procedimientos de registro

5.5.1. Open Field

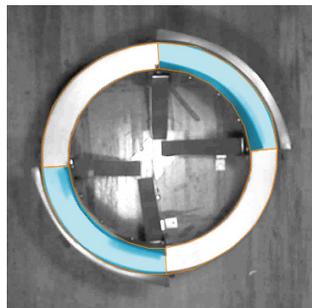
Se siguió el protocolo descrito en Seibenhener et al (98). Dos semanas después de la cirugía, a los animales se les realizó un Open Field Test. Se usó también para descartar animales que presenten patrones de locomoción anómalos derivados de la cirugía. Se utilizó una caja cuadrada abierta y vacía (45 ancho x 45 cm largo x 40 cm de altura). La prueba consistió en permitir al animal en evaluación, explorar libremente la caja vacía durante 5 minutos. Para evaluar comportamientos similares a la ansiedad, se cuantificó la cantidad de tiempo que pasa el animal en una de dos zonas de la caja (periferia y centro), utilizando como estímulo aversivo una luminancia > 300 lux. Adicionalmente se cuantificó la distancia recorrida.



Captura que muestra las zonas de análisis de trayectoria de movimiento durante el Open Field Test en el centro (izquierda) y en la periferia (derecha).

5.5.2. Zero Maze

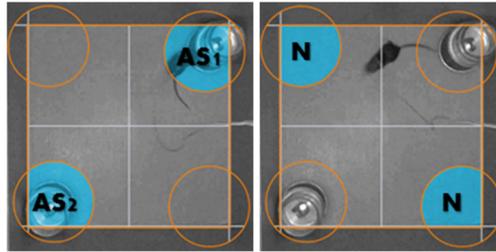
Se continuó el protocolo descrito en Heredia et al (99). De igual manera todos los animales fueron evaluados usando el laberinto zero maze. Este laberinto se compone de un anillo blanco de 6 cm de ancho con un diámetro exterior de 45 cm que contiene cuatro cuadrantes iguales de paredes alternas, dos cerradas y dos abiertas (sin paredes). Todo el anillo se posicionó a una altura de 40 cm. Cada animal se ubicó en la sección cerrada al comienzo de la sesión, que tuvo una duración total de 5 minutos. Se analizaron los siguientes parámetros: tiempo en la sección abierta, tiempo sección cerrada, distancia recorrida en el laberinto. Durante las pruebas, los niveles de iluminación fueron mantenidos > 200 lux en todos los cuadrantes del laberinto.



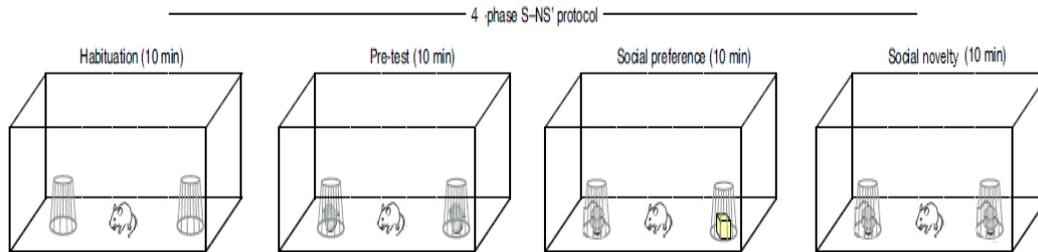
Captura del aparato de 0 maze, con la área cerrada definida y coloreada en anymaze.

5.5.3. Test de preferencia social

Una prueba de preferencia social de tres cámaras modificada realizó siguiendo el protocolo S-NS (social/no-social) de 4 etapas descrita previamente por **Rein et al** (100). En este estudio se utilizó una caja cuadrada abierta (45 ancho x 45 cm largo x 40 cm de altura) sin divisiones, que presentó 2 jaulas cilíndricas de 10 cm de diámetro x 10 cm de altura que se ubicaron en esquinas opuestas. Para evitar que el animal en evaluación trepe, se colocó un vaso de vidrio encima de las jaulas cilíndricas. El test constó de 4 etapas. El primer paso es la **habituación**, en la que el animal pudo moverse libremente por la caja durante 10 min, en presencia de las jaulas cilíndricas vacías. El segundo paso es el **pre-test** que consistió en colocar dos pelotas de plumavit limpias, de idéntico tamaño, una debajo de cada jaula. El animal en evaluación debió explorar por 10 minutos para que se familiarizara con la presencia de los objetos contenidos dentro de las jaulas. El tercer paso fue la prueba de **preferencia social (SP del inglés social preference)**, que consistió en colocar un ratón C57BL/6 adulto no familiarizado (extraño 1) en una de las jaulas cilíndricas a la vez que se colocó un objeto tipo lego verde (objeto novedoso) inanimado desconocido debajo de la otra jaula para que sirviera como estímulo no social. El animal debió explorar por otros 10 min. La cuarta etapa fue la prueba de **novedad social (SN del inglés social novelty)**, que consistió en colocar un nuevo ratón C57BL/6 adulto no familiarizado (extraño 2) en la segunda jaula previamente utilizada con el objeto novedoso. De esta forma en esta etapa, hubo un ratón en cada jaula opuesta. El animal debió explorar por otros 10 min. Entre cada etapa, se retiró al ratón en evaluación por un tiempo de 5 min antes del inicio de la siguiente etapa, a la vez que se incorporaron los objetos o el animal de sociabilización en las respectivas jaulas cilíndricas. La cantidad de tiempo que el ratón de prueba pasó en la caja se analizó a partir de 4 áreas de igual dimensión (2 áreas neutrales (N), un área social 1 (AS1) y un área social 2 (AS2), definido como “tiempo en área” que fue el tiempo transcurrido en las inmediaciones de las jaulas (3 cm) independientemente de la orientación del animal. Adicionalmente se contabilizó y midió el tiempo de otros comportamientos (episodios de inmovilidad en las áreas, tiempo inmóvil en las áreas). Se calculó el índice de interacción social como la diferencia en el tiempo pasado en las áreas social 1 y 2, dividido por la suma de los tiempos totales en estas áreas. Después de cada sesión, el aparato y las jaulas se limpiaron a fondo con etanol al 75% para evitar la permanencia de señales olfativas. La iluminación se minimizó para evitar efectos ansiogénicos que pudieron afectar el tiempo de interacción social. El brillo debe medirse en el centro de la caja para garantizar que la jaula esté iluminada uniformemente. Se mantuvo el brillo a <50 lux.



Capturas del test de preferencia social con las áreas delimitadas para el análisis en anymaze; áreas contiguas a las jaulas 1 y 2, denominadas áreas sociales (izquierda), y zonas neutras (derecha).



Esquema que ejemplifica la prueba de preferencia social-no social y los elementos y/o animales que son integrados en cada etapa.

5.6. Registro neuronal *in vivo* de LFP

Se realizó el procedimiento descrito en Negrón *et al* (96). Los ratones implantados una vez en el laberinto de cada prueba, se conectaron al sistema de registro de actividad cerebral. Esta actividad se registró durante todas las fases de comportamiento animal. Para ello, la placa de interfaz se conectó a través de un headstage de 8 canales (Intan Tech, CA) a una placa amplificadora (Intan Tech, CA). La actividad neuronal se digitalizó a 20 kHz, se filtró a 0,1-5 kHz y se controló a través del software de interfaz (Intan Tech, CA). Los datos se almacenaron en un disco duro para el posterior análisis.

5.7. Análisis de datos

5.7.1. Conducta y electrofisiología

El comportamiento animal se analizó con el software AnyMaze (Stoelting Co.) como se describió anteriormente, a partir de una cámara digital justo encima de la caja de experimentación. Estas imágenes de vídeo registraron y sincronizaron con los registros de actividad cerebral para el análisis. Se crearon mapas de calor derivados de la trayectoria del animal en los test de comportamiento. De igual forma se analizaron y contabilizaron a partir del análisis de video los tiempos y parámetros de comportamiento descritos previamente (ver pruebas de comportamiento).

Potencia espectral y acoplamiento de frecuencia cruzada (CFC) del LFP: Para examinar la potencia de la actividad oscilatoria en la CPF se redujo la frecuencia de muestreo de los registros electrofisiológicos a 1000 Hz, se aplicó un filtro de paso de banda de 0.1 a 100 Hz). La actividad cerebral en el tiempo y su potencia espectral se registraron utilizando la caja de herramientas Chronux (101) en el software Matlab, donde se calculó la densidad espectral de potencia (PSD) mediante análisis multitaper. El método para cuantificar las oscilaciones cerebrales implicó la aplicación de una descomposición tiempo-frecuencia, como la transformada rápida de Fourier, generando una secuencia de componentes de amplitud/fase que abarcaron frecuencias de 1 a 120 Hz. Se calcularon la potencia espectral para las bandas theta (6-12 Hz), gamma bajo (30-50 Hz) y gamma alto (50-120 Hz) a lo largo de todo el experimento social. Se analizaron los cambios en la PSD entre las 4 etapas del experimento social y adicionalmente el CFC mediante el acoplamiento de fase-amplitud con el objetivo de evaluar la modulación de la fase de los ritmos theta en relación con la amplitud de las oscilaciones de frecuencia gamma en la CPFm, durante el tiempo de exploración en las áreas sociales cercanas a las jaulas para cada grupo experimental utilizando el toolbox implementado por Tort et al (125). Para este propósito, se seleccionaron los rangos de frecuencia de interés y se analizaron mediante la comodulación entre estas dos señales a través del análisis del Índice de Modularidad (MI), una medida que considera el promedio de la amplitud de frecuencias altas en función de la fase de frecuencias bajas.

5.7.2. Estadística

El análisis de datos se realizó utilizando scripts personalizados escritos para Matlab 2015 (Natick, MA, EE. UU.). El análisis estadístico para la comparación de grupos se realizó con GraphPad Prism (San Diego, California, EE. UU.) con ANOVA de dos vías seguido de una prueba de comparaciones múltiples de Holm-Sidak. Para las comparaciones entre dos grupos, se utilizaron las pruebas t de Welch. Si los datos fallaron en una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, entonces se ejecutó un análisis no paramétrico en su lugar (Mann-Whitney). Los gráficos de barras representan la media \pm error estándar de la media (SEM), mientras que los diagramas de caja representan los percentiles 25 a 75 y la mediana con bigotes que representan los valores mínimo y máximo.

5.8. Histología

Para confirmar la posición de los electrodos, a los animales se les realizó un marcaje electrolítico y posteriormente se anestesiaron profundamente (isoflurano al 3%) y se perfundieron transcardíacamente con solución salina, seguido de la fijación con paraformaldehído al 4%. Se prepararon cortes de cerebro coronales (60 μ m) a partir de los cerebros fijados con un criostato (World Precision Instruments, Sarasota, EE. UU.). Para la visualización de las lesiones por electrodos, los cortes se tiñeron con tinción Nissl y las imágenes se adquirieron con microscopio de campo claro.

6.- RESULTADOS

6.1 Conducta

Los mapas de calor sugieren un mayor tiempo de ocupancia por los ratones tratados con ketamina (KET) durante la etapa de SP en el área social de la jaula que contiene al primer conoespecífico desconocido (Fig 1). Durante la etapa de SP, tanto el grupo control como el grupo KET, pasaron un mayor porcentaje de tiempo en el área adyacente a la jaula que contenía el extraño 1 comparado con la jaula con el objeto, sin embargo solo los animales del grupo KET evidenció diferencias significativas en el área de la jaula que contenía al conoespecífico desconocido que en el área con el objeto novedoso (Fig2); (porcentaje de tiempo inmóvil (extraño 1= $25,19 \pm 8,01$; objeto novedoso = $4,03 \pm 1,6$; $p = 0,0017$, 2way ANOVA), episodios de inmovilidad; (extraño 1= $48,8 \pm 8,8$; objeto novedoso = $11,8 \pm 4,4$; $p = 0,0001$, 2way ANOVA) y porcentaje tiempo de exploración dentro del área (extraño 1= $30,25 \pm 5,3$, objeto novedoso = $7,93 \pm 1,6$; $p = 0,0047$, 2way ANOVA). Por otro lado, el grupo tratado con vehículo no mostró preferencia significativa por el conoespecífico o el objeto (Fig 2); (porcentaje de tiempo de exploración dentro del área; extraño 1= $23,16 \pm 1,65$; objeto novedoso = $13,16 \pm 2,3$; $p = 0,37$, 2way ANOVA) ; porcentaje de tiempo inmóvil (extraño 1= $17,61 \pm 2,09$, objeto novedoso = $6,05 \pm 1,7$; $p = 0,07$, 2way ANOVA), episodios de inmovilidad (extraño 1= $34,5 \pm 2,7$; objeto novedoso = $19,3 \pm 4,2$; $p = 0,165$, 2way ANOVA) lo que sugiere que los animales KET pasaron una mayor proporción de tiempo investigando al extraño 1 en comparación con el grupo control. El análisis del índice de preferencia social mostró una tendencia a valores mayores en el grupo KET pero sin diferencias significativas del índice durante la etapa de preferencia social entre los grupos (Fig 2); (control= $0,54 \pm 0,11$; ket= $0,29 \pm 0,5$ ($p = 0,09$); t Test).

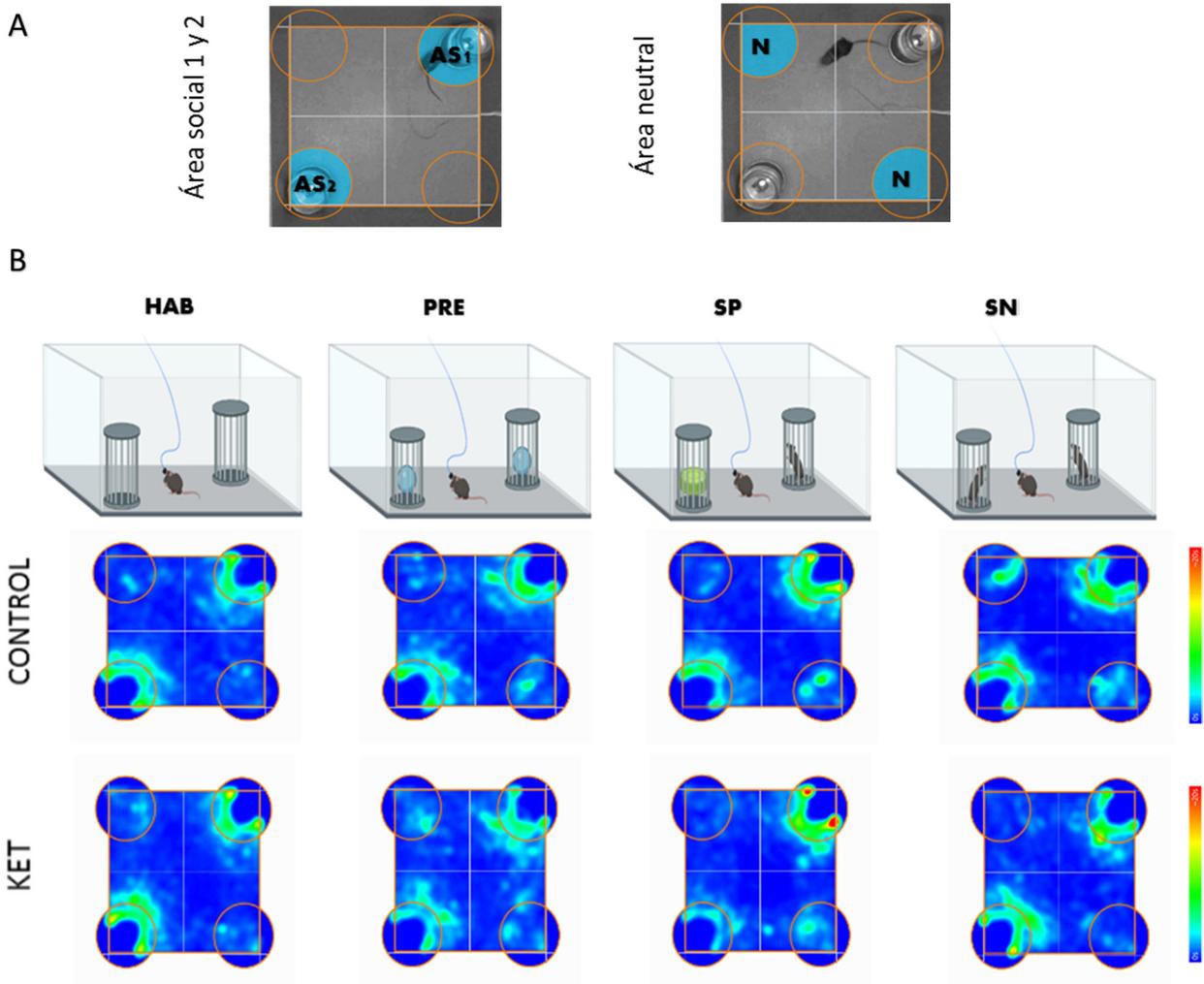


Figura 1. La prueba social genera mayores intensidades de ocupancia en las áreas sociales. (A) Izquierda: Captura fotográfica durante la prueba social que muestra la distribución de las áreas establecidas alrededor de la jaula 1 o área social 1 (AS1) y jaula 2 o área social 2 (AS2). Derecha: distribución de las áreas establecidas como neutrales o N. (B) Arriba: Representación esquemática del paradigma de sociabilización de 4 etapas. Abajo: mapas de calor de las ocupancias durante las 4 etapas de la prueba social para el grupo control (n=6) y KET (n=5).

En la prueba de novedad social, se introdujo un segundo ratón desconocido (Extraño 2) en el lugar de la jaula con el objeto novedoso. A diferencia de la etapa de preferencia social, en esta etapa los animales del grupo KET no demostraron preferencia por el ratón extraño sobre el ratón familiar en el análisis de porcentaje de tiempo inmóvil (Fig 2); (control; familiar= $17,42 \pm 3,8$; extraño 2 = $12,41 \pm 2,9$; $p = 0,99$; KET; familiar= $12,62 \pm 4,97$; extraño 2= $13,65 \pm 2,67$; $p > 0,99$, 2way ANOVA) , episodios de inmovilidad (control; familiar= $33 \pm 6,3$; extraño 2 = $24,6 \pm 5,8$; $p = 0,9$; KET; familiar= $20,4 \pm 6,1$; extraño 2= $37,6 \pm 9,2$; $p = 0,39$, 2way ANOVA) y porcentaje tiempo de exploración dentro del área (control; familiar= $17,45 \pm 2,8$; extraño 2 = $15,15 \pm 3,1$; $p = 0,9$, 2way ANOVA); KET; familiar= $17,06 \pm 3,05$; extraño 2= $15,72 \pm 2,47$; $p = 0,9$, 2way ANOVA). En comparación con la etapa de SP, hubo índices de preferencia notablemente más bajos para el nuevo estímulo en los grupos control y KET, sin diferencias significativas entre grupos (control= $0,097 \pm 0,12$; KET= $0,026 \pm 0,09$; ($p = 0,6$) t-Test, Fig 2).

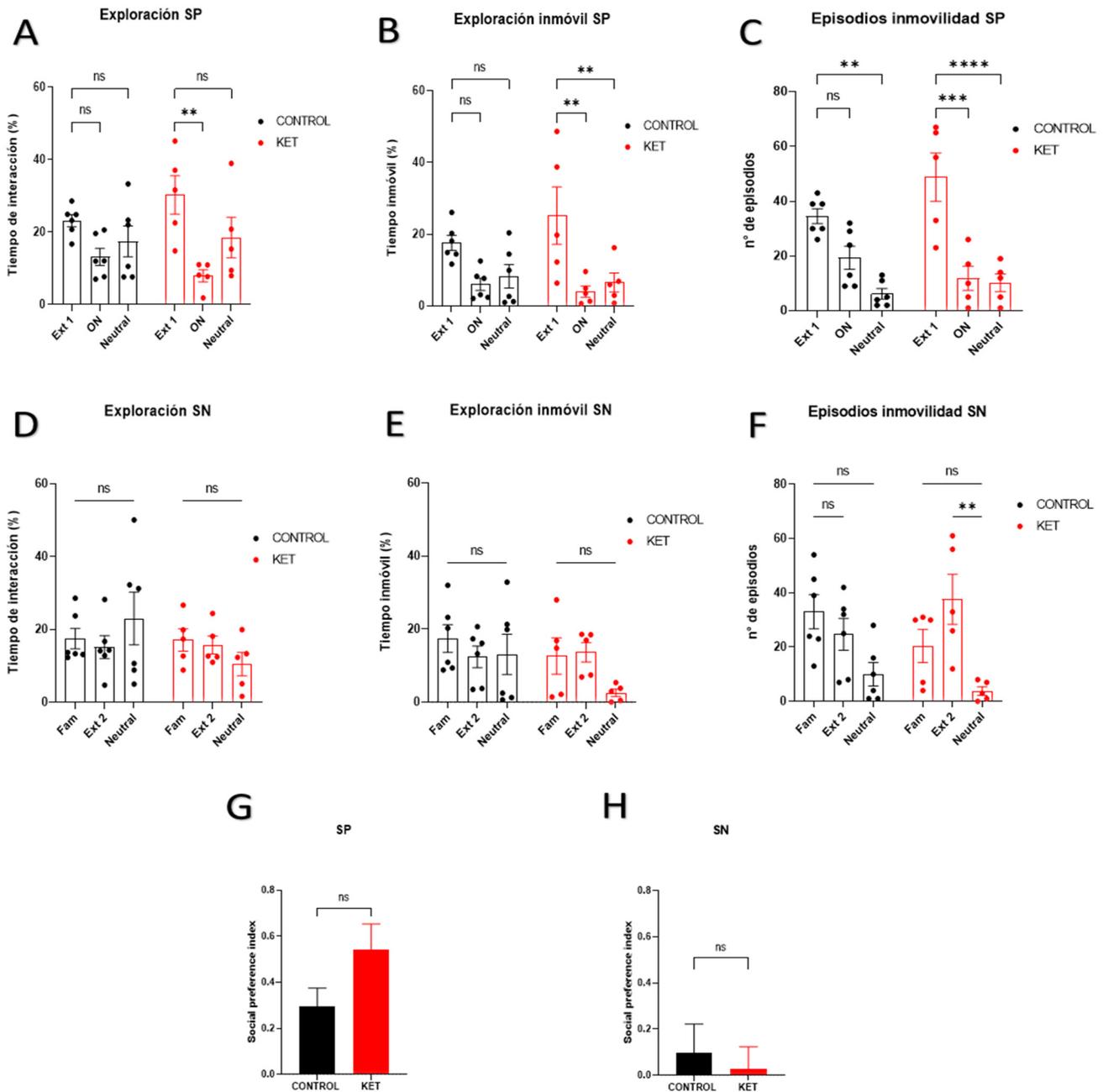


Figura 2. Los animales KET muestran conducta de exploración preferente por un conespecífico. (A): gráfico de barras (Control n=6, ket n=5) para la etapa de SP mostrando el tiempo dedicado a explorar al extraño 1, el objeto novedoso y Neutral, (B) el tiempo de inmovilidad dentro de estas áreas, (C) el número de episodios inmóvil. (E, F, G): lo mismo que en A, B y C pero en la etapa de SN en la cual se reemplaza el ON por el extraño 2. (D y H) índices de interacción social para las etapas de SP y SN. Las estrellas representan una diferencia significativa en un análisis 2 way ANOVA. En todas las figuras, los gráficos de barras representan promedios \pm SEM. Para todos los experimentos, el número de estrellas representa el nivel de significancia (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$). Índice de interacción social: t-test no pareada. Ext 1= extraño 1, Ext 2=extraño 2, ON= objeto novedoso, Fam=ratón familiar.

6.2. Actividad oscilatoria

Para explorar los correlatos neuronales de la CPFm de la interacción social en tiempo real, utilizamos registros electrofisiológicos crónicos en ratones machos adultos. Analizamos el LFP de la CPFm cuando los ratones realizaban dicha tarea de enfoque social. Primeramente el análisis de densidad de poder espectral (PSD del inglés power spectral density) de las diferentes bandas de frecuencia demostró una elevación aparente en la potencia gamma del LFP (Fig 3) durante todas las etapas de la prueba social. Utilizamos los registros LFP con impedancias de entre 100-500 K Ω , sin encontrar diferencias significativas entre grupos (Fig 3). Para poder evidenciar diferencias en el poder espectral, se analizó el poder espectral entre rangos de frecuencia theta (6 a 12 Hz), gamma bajo (30-45 Hz) y gamma alto (55-120 Hz) a partir de los registros de los LFP para cada etapa. Este análisis evidenció un aumento del poder theta en las etapas de habituación para el grupo KET (Fig 4) (control: $191,3 \pm 8,5$; KET: $234,6 \pm 11,79$; $p= 0,0057$) y SP (control: $188,6 \pm 6,4$; KET: $210,9 \pm 6,57$; $p= 0,0215$) en contraste a las etapas PRETEST (control: $145 \pm 14,1$; KET: $181,3 \pm 17,21$; $p>0,05$) y SN (control: $141 \pm 11,39$; KET: $173,7 \pm 13$; $p>0,05$). Como el poder y frecuencia de theta depende de la velocidad de desplazamiento de los animales (123) se realizó un análisis de la conducta locomotora (distancia total recorrida y velocidad) para todas las etapas, sin encontrar diferencias entre grupos (anexo).

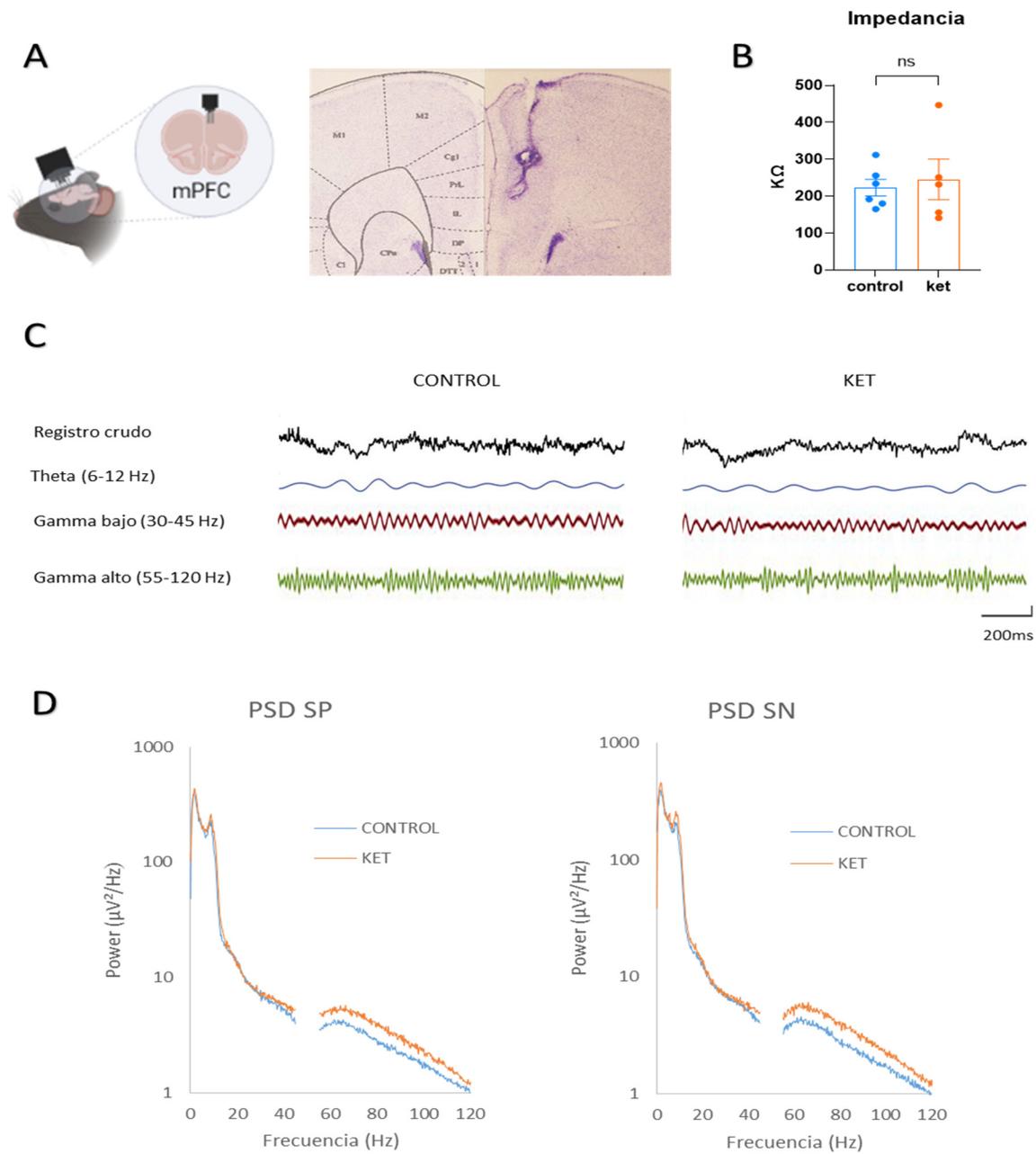


Fig.3. La implantación de multielectrodo permiten el registro de LFP en la CPFm: (A) Diagrama y microfotografía x100 que muestra la implantación del multielectrodo dirigido hacia la CPFm (B) Gráfico de barras de las medias de las impedancias de los electrodos utilizados para el análisis de LFP. (C) Ejemplo de trazos temporales de LFP registrados de la CPFm de ratones control (izquierda) y KET (derecha). Se muestra la señal cruda sin procesar (negro), LFP filtrada por banda theta (azul), gamma bajo (rojo) y gamma alto (verde). (C) Gráficos de las medias de densidad de poder espectral total a partir de los registros sin procesar de los grupos control (n=6) y KET (n=5) durante las etapas de SP y SN.

El análisis estadístico reveló además un aumento significativo en la potencia de gamma bajo (30 a 45 Hz) en los animales del grupo KET respecto a los control tanto en la habituación (Fig 5) (control: $5,6 \pm 0,11$; KET: $6,34 \pm 0,1$; $p < 0,0001$; t-Test) en el PRETEST (control: $5,5 \pm 0,1$; KET: $6,0 \pm 0,09$; $p = 0,0006$) en SP (control: $5,64 \pm 0,1$; ket: $6,21 \pm 0,08$; $p < 0,0001$), y en SN (control: $5,51 \pm 0,1$; KET: $5,99 \pm 0,08$; $p = 0,0005$). Del mismo modo, vimos un aumento en el poder espectral a frecuencias gamma altas (Fig 6) (55 a 120 Hz) en habituación (control: $2,38 \pm 0,05$; ket: $3,1 \pm 0,08$; $p < 0,0001$) PRETEST (control: $2,4 \pm 0,06$; ket: $3,15 \pm 0,08$; $p < 0,0001$), SP (control: $2,5 \pm 0,06$; ket: $3,31 \pm 0,08$; $p < 0,0001$), SN (control: $2,51 \pm 0,06$; ket: $3,39 \pm 0,09$; $p < 0,0001$). Por lo tanto, el grupo ket presentó un aumento del poder espectral gamma de la CPFm, particularmente en banda gamma alta durante todas las etapas de la prueba social. Juntos, estos resultados sugieren que el tratamiento con antagonistas NMDAR durante la adolescencia, estaría asociado a un aumento de poder espectral en los rangos de actividad oscilatoria gamma y theta de forma conjunta, pudiendo alterar mecanismos oscilatorios locales en la CPFm relacionados con el comportamiento de interacción social.

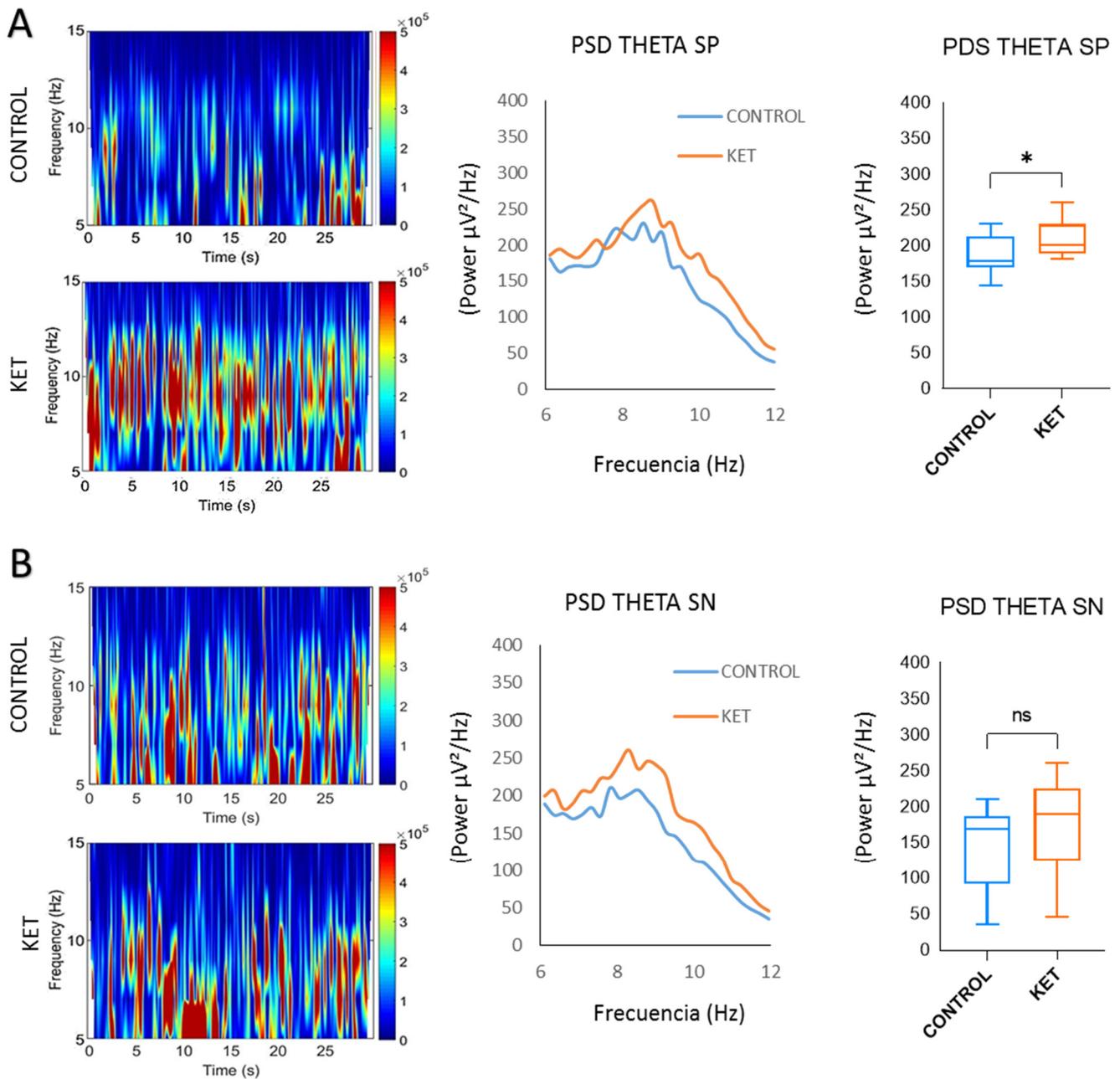


Fig. 4. Durante la etapa de preferencia social el grupo KET evidencia mayor PSD THETA: (A) izquierda: espectrogramas representativos en el rango theta (6 a 12 Hz) para el grupo control (n=6) y KET (n=5) durante la etapa de preferencia social. Los colores cercanos al rojo indican una mayor potencia. Centro: Gráfico de las medias de densidad de poder espectral para rango de frecuencia theta de los grupos control y KET durante la etapa de SP. Derecha: (B) Lo mismo que en A pero durante la etapa de novedad social.

Para investigar la interacción entre distintas oscilaciones durante la realización de la prueba social, exploramos el acoplamiento entre frecuencias a través de la estimación de acoplamiento de amplitud (PAC del inglés *phase amplitude coupling*). El PAC es un tipo de acoplamiento cruzado de frecuencias en el que la fase de actividad de baja frecuencia modula la amplitud de la actividad de alta frecuencia (124). De esta forma se utilizó este proceso para medir la dependencia local en la CPFm de la amplitud de la señal de frecuencia gamma (30 a 120 Hz) respecto a la fase de la señal de baja frecuencia theta (6 a 12 Hz), calculada como índice de modulación (MI) durante la conducta de exploración de los animales en las áreas sociales adyacentes a las jaulas previamente descritas (ver métodos). Asimismo, se realizó este análisis durante la exploración de los animales en las áreas neutrales para comparar la realización de una tarea distinta a la exploración social en las jaulas.

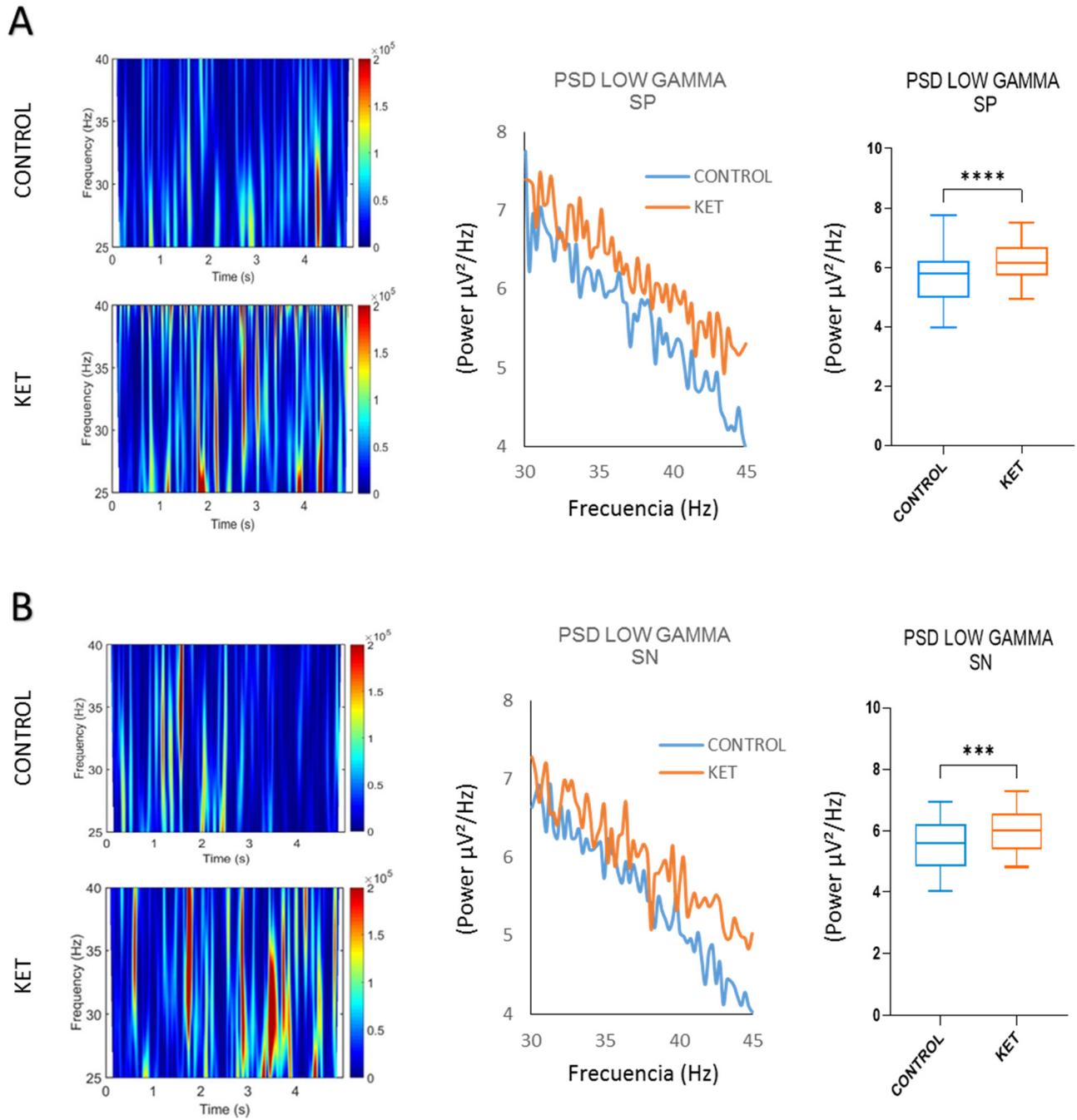


Fig.5. Los animales KET presentan un PSD gamma bajo elevado: (A) izquierda: espectrogramas representativos del rango gamma bajo (30 a 45 Hz) para el grupo control (n=6) y KET (n=5) durante la etapa de preferencia social. Centro: Gráfico de las medias de densidad de poder espectral para rango de frecuencia gamma bajo de los grupos control y ket durante la etapa de SP. Derecha: (B) Lo mismo que en A pero durante la etapa de novedad social.

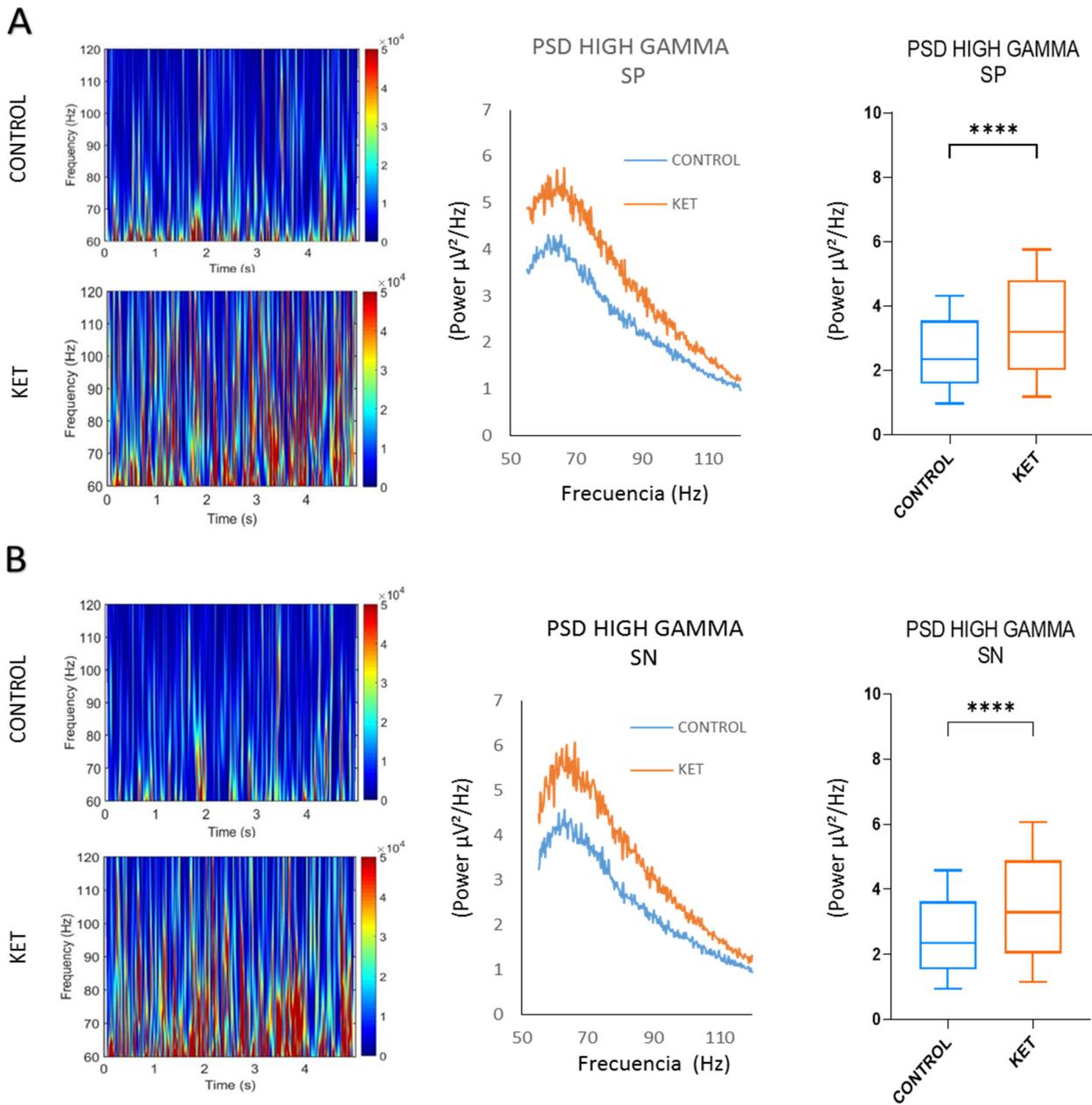


Fig.6. Los animales KET presentan un PSD gamma alto elevado: (A) izquierda: espectrogramas representativos del rango gamma alto (55 a 120 Hz) para el grupo control (n=6) y KET (n=5) durante la etapa de preferencia social. Los colores cercanos al rojo indican una mayor potencia. Centro: Gráfico de las medias de densidad de poder espectral para rango de frecuencia gamma alto de los grupos control y KET durante la etapa de SP. Derecha: gráfico de bigotes para el PSD durante la etapa de preferencia social. (B) Lo mismo que en A pero durante la etapa de novedad social.

El índice de modulación de gamma con fase theta fue mayor en el grupo KET a través de todas las etapas de la prueba social, aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística (TABLA 1). De igual forma no fue evidente una diferencia en los IM de PAC de theta-gamma en las áreas neutrales. No se observaron diferencias significativas en ninguno de los IM theta-gamma durante las etapas con presencia de conespecíficos (Fig 7-8). Además se realizó el cálculo para establecer la magnitud de la frecuencia gamma modulada durante las diferentes etapas de la prueba social, revelando que no hubo diferencias significativas por grupo o por etapa en la prueba social (TABLA 2). También analizamos si hubo cambios para la frecuencia theta en fase entre grupos en las diferentes etapas de la prueba social; los resultados no difirieron entre grupos, ni se relacionaron con el desempeño conductual en las áreas sociales o neutrales (TABLA 3).

		CONTROL			KET			
		media	SEM	%CV	Media	SEM	%CV	valor p
Habitación	AS1	0,00043	0,00017	95,5	0,00077	0,00042	122,4	0,830
	AS2	0,00052	0,00017	78,1	0,00085	0,00052	136,5	0,844
	N	0,00032	0,00022	166,9	0,00059	0,00034	127,7	0,913
Pretest	AS1	0,00038	0,00020	128,7	0,00083	0,00054	146,9	0,762
	AS2	0,00048	0,00019	99,5	0,00076	0,00054	156,6	0,924
	N	0,00030	0,00020	160,1	0,00060	0,00042	154,6	0,915
SP	AS1	0,00055	0,00027	120,8	0,00090	0,00048	120,7	0,875
	AS2	0,00050	0,00028	136,6	0,00091	0,00048	117,8	0,802
	N	0,00035	0,00024	166,6	0,00072	0,00038	117,7	0,842
SNP	AS1	0,00040	0,00012	77,0	0,00102	0,00047	103,4	0,478
	AS2	0,00042	0,00015	90,2	0,00103	0,00045	97,7	0,483
	N	0,00036	0,00019	132,5	0,00103	0,00052	112,2	0,412

Tabla 1. Medias, SEM y porcentajes de coeficiente de variación (CV) de los índices de modulación theta-gamma para todas las etapas de la prueba social. Se muestran los valores $p > 0,05$. Análisis de 2 way ANOVA. (AS1: área social 1; AS2: área social 2; N: área neutral)

		CONTROL		KET		
		media	SEM	Media	SEM	valor p
Habitación	AS1	108,7	2,8	95,4	8,5	0,492
	AS2	101,8	8,5	97,4	8,6	0,963
	N	98,5	7,4	89,2	5,7	0,747
Pretest	AS1	101,5	9,0	99,4	5,6	0,996
	AS2	97,7	7,3	99,6	4,0	0,997
	N	96,5	7,9	106,4	5,6	0,707
SP	AS1	106,2	8,5	87	6,8	0,207
	AS2	92,2	6,5	88,6	7,4	0,981
	N	91,3	8,2	100,8	4,2	0,747
SNP	AS1	105,5	5,4	87,2	12,3	0,250
	AS2	95,3	7,6	100,2	1,6	0,955
	N	93,7	7,7	100,2	5,4	0,901

Tabla 2. Medias, SEM de las frecuencias gamma moduladas para todas las etapas de la prueba social. Se muestran los valores $p > 0,05$. Análisis de 2 way ANOVA.

		CONTROL		KET		
		media	SEM	Media	SEM	valor p
Habitación	AS1	8,8	0,5	9,3	0,3	0,886
	AS2	9,1	0,6	9,5	0,6	0,916
	N	7,8	0,6	7,9	0,3	0,995
Pretest	AS1	8,8	0,3	8,4	0,6	0,900
	AS2	7,5	0,5	9,1	0,3	0,083
	N	8,4	0,6	7,1	0,5	0,189
SP	AS1	9,3	0,4	9,3	0,5	>0,999
	AS2	8,2	0,5	9,8	0,6	0,150
	N	7,4	0,6	8,2	0,8	0,712
SNP	AS1	8,1	0,7	8,3	1,0	0,992
	AS2	8,8	0,4	10,0	0,5	0,404
	N	7,0	0,4	9,7	0,5	0,012

Tabla 3. Medias, SEM de las frecuencias theta en fase para todas las etapas de la prueba social. Se muestran los valores $p > 0,05$. Análisis de 2 way ANOVA.

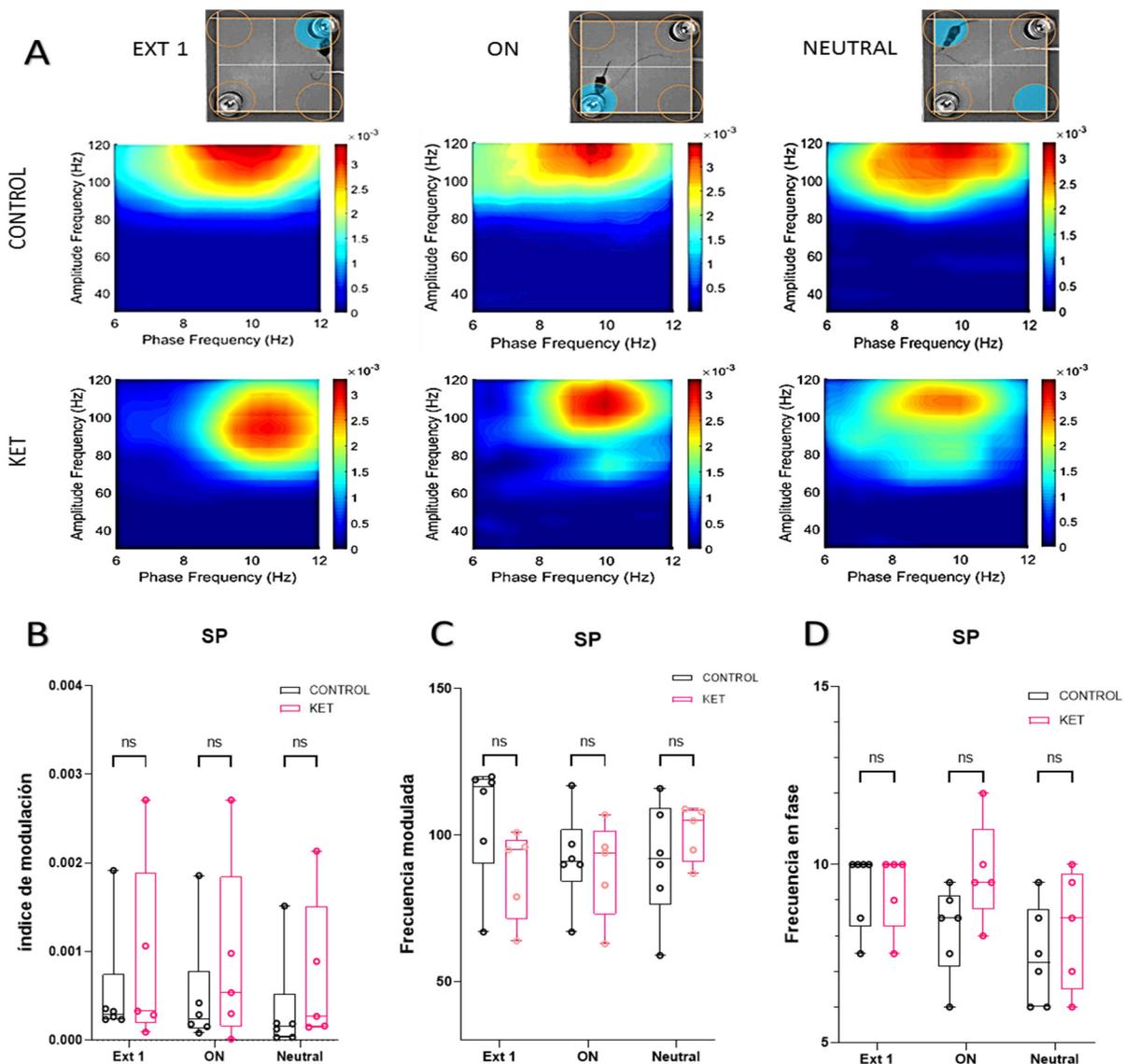


Figura. 7. La modulación theta-gamma no muestra diferencias en la exploración de áreas sociales o neutrales durante SP: (A) Comodulogramas representativos de frecuencia cruzada fase-amplitud local en la CPFm calculados durante la exploración a las áreas adyacentes a las jaulas y área neutral durante la etapa de preferencia social (SP) para el grupo control (n=6) (arriba) y KET (n=5) (abajo). La columna 1 representa la modulación con el ratón extraño 1 (AS1), la columna 2 con el objeto novedoso (AS2) y la 3ra columna con el área neutral. El eje X indica la banda de frecuencia que modula en fase y el eje Y indica la frecuencia modulada en amplitud. Para todos los casos de interacción la fase de actividad theta modula la potencia de actividad gamma alto. (B). Gráficos de las medias de los Índices de modulación en la CPFm durante la etapa de preferencia social en el momento de interacción en las AS1, AS2 y área neutral. (C) Análisis comparativos de las frecuencias moduladas por theta en las AS1, AS2 y zona neutral. (D) Gráficos de frecuencias de banda Theta en fase moduladora de la amplitud de oscilaciones gamma. En todos los gráficos, los diagramas de caja representan la mediana y los percentiles 25 a 75 con bigotes que representan valores mínimos y máximos. Para todos los experimentos, no hubo diferencia significativa entre los grupos ($p > 0.05$ análisis ANOVA de dos vías). EXT=extraño 1, ON=objeto novedoso.

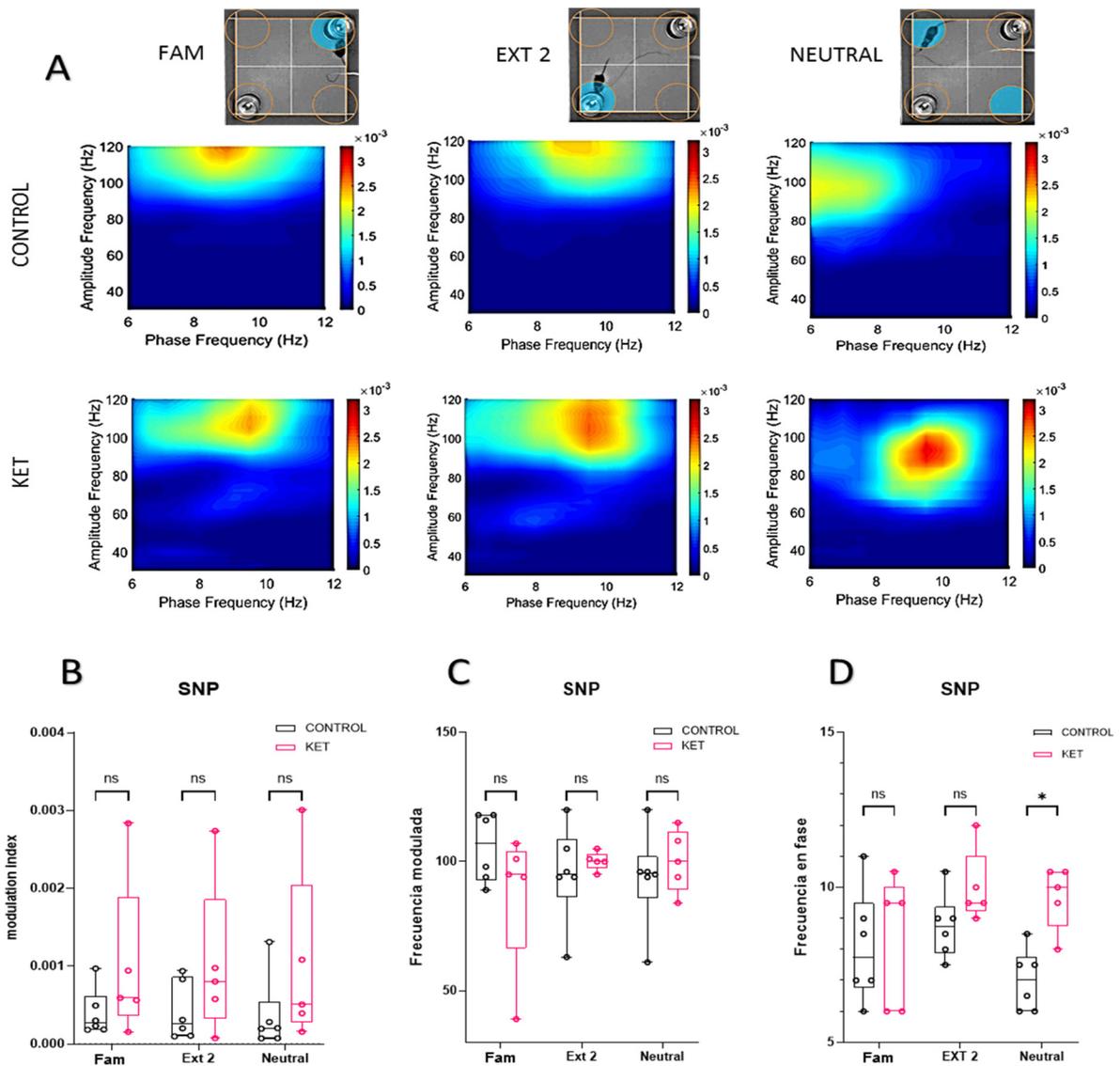


Figura.8. La modulación theta-gamma no muestra diferencias en la exploración de áreas sociales o neutras durante SN: (A) Comodulogramas representativos de frecuencia cruzada fase-amplitud local en la CPFm calculados durante la exploración a las áreas adyacentes a las jaulas y área neutral durante la etapa de novedad social (SN) para el grupo control ($n=6$) (arriba) y KET ($n=5$) (abajo). La columna 1 representa la modulación con el ratón familiar (AS1), la columna 2 con el extraño 2 (AS2) y la 3ra columna con el área neutral. El eje X indica la banda de frecuencia que modula en fase y el eje Y indica la frecuencia modulada en amplitud. Para todos los casos de interacción la fase de actividad theta modula la potencia de actividad gamma alto. (B). Gráficos de las medias de los Índices de modulación en la CPFm durante la etapa de preferencia social en el momento de interacción en las AS1, AS2 y área neutral. (C) Análisis comparativos de las frecuencias moduladas por theta en las AS1, AS2 y zona neutral. (D) Gráficos de frecuencias de banda Theta en fase moduladora de la amplitud de oscilaciones gamma. En todos los gráficos, los diagramas de caja representan la mediana y los percentiles 25 a 75 con bigotes que representan valores mínimos y máximos. Para todos los experimentos, no hubo diferencia significativa entre los grupos, a excepción de la frecuencia en fase en el área neutral ($p < 0.05$ análisis ANOVA de dos vías).

7.-DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran que la administración del antagonista de NMDAR durante la etapa juvenil en ratones C57BL/6 afectó el comportamiento de enfoque de preferencia social post adolescencia generando mayores tiempos de investigación con un conoespecífico y paralelamente un mayor poder espectral gamma en la CPF.

Nuestros resultados de comportamiento mostraron que la administración de ketamina durante p45 a p51 aumentó significativamente la cantidad de tiempo que los ratones exploraron estrechamente las jaulas que contenían al conoespecífico durante la etapa de preferencia social en comparación al grupo control (Figura 1). Este hallazgo va en contra de los informes de otros estudios en que la administración de antagonistas NMDAR induce déficits de interacción social después de la administración aguda (102,103) y repetida (104–106). Esta discrepancia puede deberse a varios factores; 1) el paradigma utilizado para evaluar la interacción, 2) al tiempo transcurrido entre la administración final y la prueba de interacción social, 3) la edad de administración. Por ejemplo, para el primer punto Becker et al (104), utilizo la exploración libre para evaluar la interacción social en ratas tratadas con ketamina y vehículo, cuantificando parámetros no agresivos (olfateo, seguir y acicalar a la pareja, juego social) y comportamiento agresivo (patear, boxear, luchar, acicalarse agresivamente, morder), no encontrando diferencias significativas entre grupos en los parámetros no-agresivos, pero si en los agresivos. Es interesante plantear que la naturaleza de la interacción y no la interacción en sí se vio afectada en las ratas tratadas con ketamina.

Un aspecto adicional a tener en cuenta radica en la ausencia de paradigmas de preferencia social basados en cuatro etapas secuenciales para discernir comportamientos de preferencia, a diferencia de nuestro enfoque (105–107). En un estudio reciente llevado a cabo por Peters et al. (105), que empleó la exploración libre en ratas tratadas crónicamente con PCP, se observaron disparidades en las conductas de aproximación. Su conclusión señaló que el comportamiento motivacional para el contacto social fue deficiente, aunque no condujo al aislamiento social. En cuanto a la administración farmacológica, un aspecto a considerar es que algunos estudios han investigado la interacción social minutos u horas después de la última dosis de antagonista NMDAR (106), lo que podría reflejar efectos farmacológicos agudos en lugar de las consecuencias conductuales a largo plazo. Los comportamientos observables después de un período de abstinencia al tratamiento repetido con antagonistas de NMDAR son potencialmente relevantes para entender la patología de la esquizofrenia (EZ), ya que los síntomas varían

según su manifestación aguda o crónica (109) y dependen de la evolución de la enfermedad desde su inicio en la adolescencia hasta la instauración en la adultez (110). Estudios que administran antagonistas NMDAR durante la etapa postnatal o adolescente en modelos murinos sugieren que la interacción social en la adolescencia es más sensible al antagonismo selectivo de NMDAR, indicando posibles relaciones con diferentes patrones de expresión de subunidades durante el desarrollo (111)."

Sin embargo existen estudios que, utilizando protocolos de administración de antagonistas NMDAR durante el desarrollo, reportan déficits parciales en la interacción social (104, 105, 108, 112,113) e inclusive el aumento de esta (107), lo que ha sido interpretada también como la manifestación de un déficit social. Es así que en un estudio reciente de Hamiet et al (114), la administración de penciclidina (PCP) en la etapa postnatal de ratas (P 7,9 y 11) y que fueron evaluadas posteriormente en la semana 10 post natal, el tratamiento no afectó la duración de la investigación directa ante la exposición con un conoespecífico tratado con vehículo. Es más, posteriormente en una segunda exposición al mismo conoespecífico, el grupo tratado mostró un aumento significativo en la duración de la investigación y mayor índice de reconocimiento social, lo que fue interpretado como un deterioro del reconocimiento social en los animales tratados con PCP. Resulta interesante entonces plantear que los resultados encontrados en nuestro estudio, de mayores tiempos de sociabilización podrían ser de hecho la manifestación de un déficit en el reconocimiento social. Es posible que un aumento aberrante en el enfoque social indica una falta de inhibición en procesos de interacción con desconocidos.

Por otra parte todas estas diferencia metodológicas generan diferencias en la interpretación de los déficit conductuales de sociabilización asociados a la administración de antagonistas NMDAR por lo que proponemos debe adoptarse una metodología común en estudios futuros.

Otro resultado interesante de nuestro estudio y contrario a la hipótesis planteada de que la administración crónica provocaría un menor tiempo de interacción social asociado a una disminución del poder espectral gamma, encontramos que hubo un aumento del poder espectral de las oscilaciones de frecuencia gamma en la CPFm en el grupo tratado con ketamina y mayores tiempos de interacción social. Aunque existe evidencia contraria en que la administración de antagonistas NMDAR en roedores produce una disminución del poder espectral gamma, algunos de estos resultados se encuentran en mediciones *in vitro* (115). Un revisión sistemática reciente (116), analizó los resultados de medición de oscilaciones gamma en roedores *in vivo* no anestesiados, en áreas cerebrales como el hipocampo y la CPFm, revelando un aumento en este rango de frecuencia ante una administración aguda de antagonista NMDAR en casi

la totalidad de los estudios analizados. Estudios en humanos han reportado resultados similares ante la administración aguda de ketamina (117,118). En personas con EZ los resultados en la direccionalidad del poder espectral gamma suele ser divergente; existen reportes tanto de un aumento (119,120) como de una disminución en su poder (121).

A pesar de esta de esta falta de consenso, existe la idea de que estas divergencias en gamma podrían deberse a mediciones en diferentes estadios evolutivos de la enfermedad (82) con evidencia que asocia el aumento del poder gamma a síntomas positivos de la EZ como la psicosis de primeros episodios (77) o un menor poder de oscilación gamma en *resting state* en estos pacientes con sintomatología crónica (81). Sin embargo esta idea aún no ha sido establecida debido a la divergencia de resultados (116). Resulta interesante plantear la posibilidad de medir los efectos de la administración de antagonistas NMDAR en la actividad oscilatoria durante diferentes etapas del desarrollo en futuros estudios. Particularmente la totalidad de nuestras mediciones se realizaron posterior a p70, y anterior a eso puede considerarse una sub-etapa de medición temporal de desarrollo distinta ante los efectos de administración crónica de antagonistas NMDAR (126).

Un punto importante a recalcar es que nuestros resultados de un mayor poder espectral theta – gamma y la mayor interacción, no pueden asociarse a un mayor nivel de actividad ansiogénica o hiperlocomotora en los animales tratados con ketamina, como si lo reportan estudios previos (93), no encontrando diferencias significativas conductuales durante las pruebas de preferencia social, open field y zero maze entre los grupos. (Anexo)

A pesar de estas divergencias, nuestros resultados de mayor interacción social y aumento de poder espectral gamma son coherentes con el hallazgo en otros estudios en que un aumento del poder espectral gamma en la CPFm se asocia a mayores tiempos de interacción social en roedores (64,90). Particularmente se ha demostrado que la estimulación optogenética de interneuronas PV a frecuencia gamma de 40 hz en la CPFm genera conductas de mayor interacción social y lo contrario ocurre con su inhibición quimiogénica (64). En un enfoque similar a este estudio, se ha descrito un rescate de conductas asociales provocadas por aislamiento social en la adolescencia de ratones, al estimular en frecuencia gamma interneuronas PV de la CPFm (90). Estos resultados pueden apoyarse en la idea de que las interneuronas PV están involucradas en la generación de oscilaciones de alta frecuencia y que una hipofunción de NMDAR en estas neuronas, podría conducir a un cambio en el equilibrio entre (E/I) en las redes corticales manifestando cambios en el patrón de actividad rítmica particularmente en gamma (76). Aunque nuestro estudio no explora los efectos de la ketamina en las interneuronas PV, un estudio previo

al nuestro, utilizando el mismo protocolo de administración de ketamina en ratas juveniles, demostró una disminución tanto en la densidad de interneuronas PV como en la presencia de GAD67, junto con alteraciones en la eficacia sináptica GABAérgica (93). Esta relación entre parámetros de equilibrio E/I alterados y la evidencia de la hipofunción de los NMDAR en su generación, respalda nuestros resultados y la idea de que las oscilaciones neuronales pueden manifestar mecanismos fisiopatológicos centrales en la EZ, asociados a alteración del comportamiento. Nuestro estudio también reveló que un mayor poder espectral gamma no se asocia a diferencias significativas en los índices de modulación theta- gamma en los análisis de CFC en el contexto de interacción social. Sin embargo, notamos una mayor variabilidad en los valores del grupo ketamina. Estudios han revelado que, dependiendo de la región específica registrada o de la tarea específica que se esté realizando, la combinación exacta de fase theta y amplitud gamma puede ser diferente.

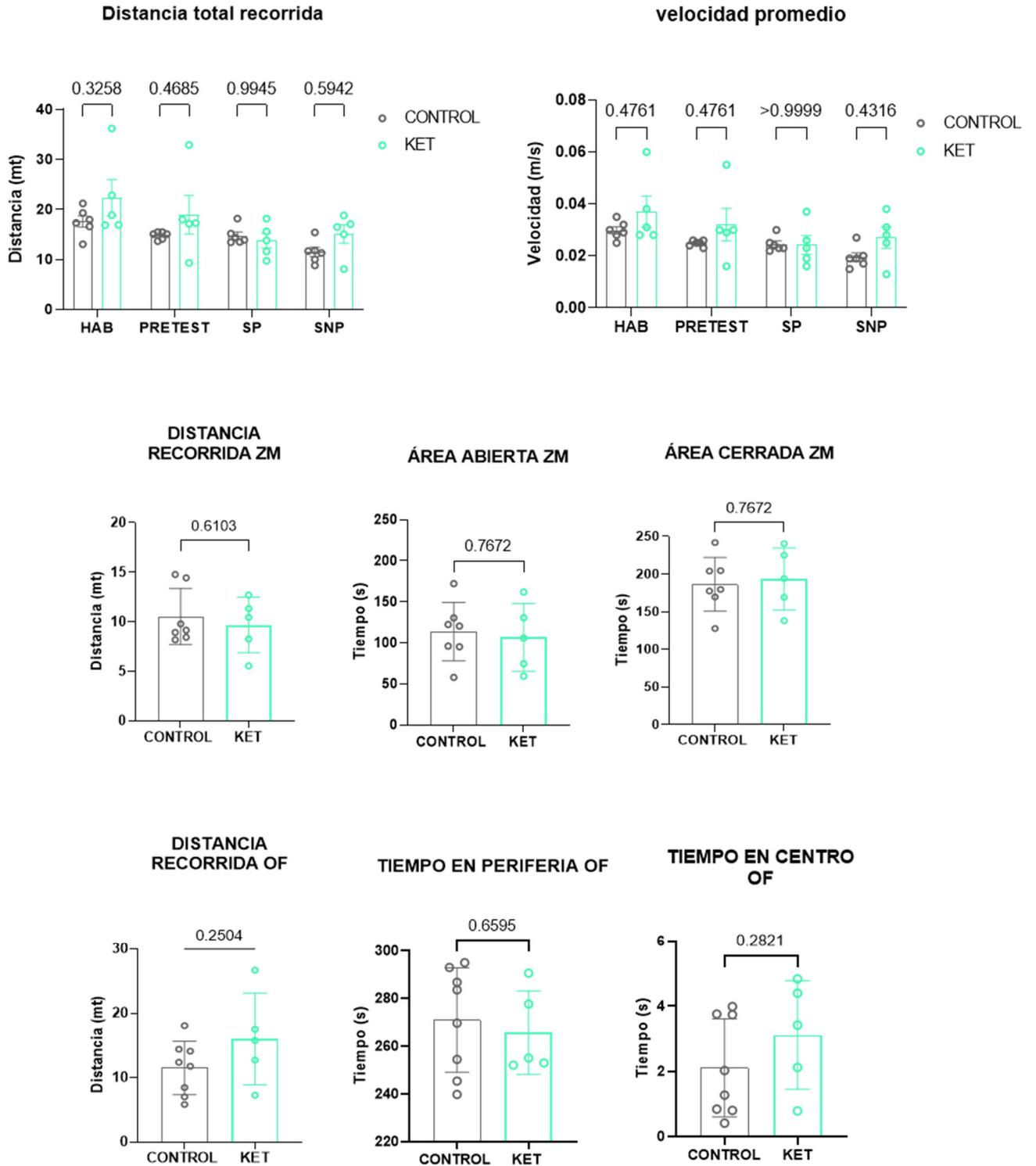
8.-CONCLUSIÓN

Nuestro estudio demuestra que la administración de un antagonista de NMDAR durante la etapa juvenil en ratones C57BL/6 tiene un impacto significativo en el comportamiento de enfoque de preferencia social después de la adolescencia. Este efecto se traduce en un aumento en el tiempo de interacción con conespecíficos y, de manera concomitante, en un mayor poder espectral gamma en la corteza prefrontal medial (CPFm). Estos resultados respaldan la idea de que la hipofunción de los receptores NMDA desempeña un papel crucial en la fisiopatología de la EZ, especialmente en las primeras etapas de la enfermedad. Además, nuestra investigación sugiere que la administración de antagonistas de NMDAR durante la adolescencia en un modelo murino de EZ puede tener efectos significativos en el comportamiento social y la actividad oscilatoria cerebral. A pesar que estudios previos han informado déficits de interacción social con uso de antagonistas NMDAR, es posible que un aumento en el enfoque social de los ratones tratados con ketamina de nuestro estudio sea un indicativo de déficit de reconocimiento social. Sin embargo, es fundamental reconocer ciertas limitaciones en la interpretación de los hallazgos. Las discrepancias en los resultados de comportamiento observadas en comparación con estudios anteriores podrían deberse a diversas variables metodológicas, como el paradigma de evaluación de la interacción social, el tiempo entre la prueba y la administración de antagonista NMDA, además de la edad de administración y que pueden ser factores importantes a considerar para explicar la divergencia en los resultados comparativos y de interpretación en cuanto a comportamiento social previamente

discutidos. Estas diferencias metodológicas subrayan la necesidad de establecer una metodología común en futuros estudios para garantizar la comparación y la generalización de los resultados.

Hasta la fecha, se ha observado que la modulación de la actividad gamma en la CPFm se asocia con cambios en la sociabilización en modelos murinos de EZ. Sin embargo, aún existe una falta de comprensión integral de cómo las interneuronas PV, que desempeñan un papel crítico en la generación de oscilaciones de alta frecuencia, están involucradas en la regulación de la actividad gamma y cómo esto se traduce en comportamientos sociales. La falta de consenso en los efectos de los antagonistas de NMDAR en las oscilaciones gamma y su relación con los síntomas de la esquizofrenia destaca la importancia de investigar estos efectos durante diferentes etapas del desarrollo y en diversas áreas cerebrales. Por lo tanto, es necesario llevar a cabo investigaciones más exhaustivas para dilucidar las vías específicas y los mecanismos que conectan la disfunción de los receptores NMDA, las interneuronas PV y las oscilaciones gamma con los déficits de interacción social en la EZ. En última instancia, investigaciones futuras podrían esclarecer los mecanismos detrás de los déficits sociales de la esquizofrenia, explorar estrategias farmacológicas específicas para restaurar la función de los receptores NMDA en interneuronas PV y normalizar la actividad oscilatoria gamma mejorando la calidad de vida de las personas que la padecen.

10.- ANEXOS



11.- REFERENCIAS

1. Esquizofrenia [Internet]. [citado 25 de abril de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/schizophrenia>
2. ¿Qué es la esquizofrenia? [Internet]. [citado 25 de abril de 2021]. Disponible en: <https://www.psychiatry.org/patients-families/schizophrenia/what-is-schizophrenia>
3. DeLisi LE, Szulc KU, Bertisch HC, Majcher M, Brown K. Understanding structural brain changes in schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci*. 2006;8(1):71-8. doi: 10.31887/DCNS.2006.8.1/ldelisi. PMID: 16640116; PMCID: PMC3181763.
4. American Psychiatric Association, editor. Guía de consulta de los criterios diagnósticos del DSM-5. Arlington, VA: American Psychiatric Publishing; 2014. 438 p.
5. Strauss GP, Bartolomeo LA, Harvey PD. Avolition as the core negative symptom in schizophrenia: relevance to pharmacological treatment development. *npj Schizophrenia*. 26 de febrero de 2021;7(1):1-6.
6. Green MF, Nuechterlein KH, Gold JM, Barch DM, Cohen J, Essock S, et al. Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: The NIMH-MATRICES conference to select cognitive domains and test criteria. *Biological Psychiatry*. septiembre de 2004;56(5):301-7.
7. Miyamoto S, Miyake N, Jarskog LF, Fleischhacker WW, Lieberman JA. Pharmacological treatment of schizophrenia: a critical review of the pharmacology and clinical effects of current and future therapeutic agents. *Mol Psychiatry*. diciembre de 2012;17(12):1206-27.
8. Barch DM, Bustillo J, Gaebel W, Gur R, Heckers S, Malaspina D, et al. Logic and justification for dimensional assessment of symptoms and related clinical phenomena in psychosis: Relevance to DSM-5. *Schizophrenia Research*. octubre de 2013;150(1):15-20.
9. Marder SR. The NIMH-MATRICES project for developing cognition-enhancing agents for schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci*. marzo de 2006;8(1):109-13.
10. Rodríguez-Jiménez R, Bagney A, Moreno-Ortega M, García-Navarro C, Aparicio AI, López-Antón R, et al. [Cognitive deficit in schizophrenia: MATRICES Consensus Cognitive Battery]. *Rev Neurol*. 1 de noviembre de 2012;55(9):549-55.
11. Keefe RSE, Fox KH, Harvey PD, Cucchiaro J, Siu C, Loebel A. Characteristics of the MATRICES Consensus Cognitive Battery in a 29-site antipsychotic schizophrenia clinical trial. *Schizophr Res*. febrero de 2011;125(2-3):161-8.
12. Sergi M, Rassovsky Y, Widmark C, Reist C, Erhart S, Braff D, et al. Social cognition in schizophrenia: Relationships with neurocognition and negative symptoms. *Schizophrenia Research*. febrero de 2007;90(1-3):316-24.
13. Fett A-KJ, Viechtbauer W, Dominguez M-G, Penn DL, van Os J, Krabbendam L. The relationship between neurocognition and social cognition with functional outcomes in schizophrenia: A meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 1 de enero de 2011;35(3):573-88.

14. Chen S, Liu Y, Liu D, Zhang G, Wu X. The difference of social cognitive and neurocognitive performance between patients with schizophrenia at different stages and influencing factors. *Schizophrenia Research: Cognition*. 1 de junio de 2021;24:100195.
15. Couture SM, Penn DL, Roberts DL. The Functional Significance of Social Cognition in Schizophrenia: A Review. *Schizophr Bull*. octubre de 2006;32(Suppl 1):S44-63.
16. Guo JY. Memory and cognition in schizophrenia. :10.
17. Javed A, Charles A. The Importance of Social Cognition in Improving Functional Outcomes in Schizophrenia. *Front Psychiatry [Internet]*. 2018 [citado 11 de julio de 2021];9. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsy.2018.00157/full>
18. Wible CG. Schizophrenia as a Disorder of Social Communication. *Schizophrenia Research and Treatment*. 20 de mayo de 2012;2012:e920485.
19. Green MF, Horan WP, Lee J. Social cognition in schizophrenia. *Nat Rev Neurosci*. octubre de 2015;16(10):620-31.
20. Dodell-Feder D, Tully LM, Hooker CI. Social impairment in schizophrenia: New approaches for treating a persistent problem. *Curr Opin Psychiatry*. mayo de 2015;28(3):236-42.
21. Social cognition. En: *Fundamentals of Cognitive Neuroscience [Internet]*. Elsevier; 2013 [citado 11 de julio de 2021]. p. 357-82. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124158054000138>
22. Atenas TL, Ciampi Diaz E, Venegas Bustos J, Uribe San Martín R, Cárcamo Rodríguez C, Atenas TL, et al. Cognición Social: Conceptos y Bases Neurales. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*. diciembre de 2019;57(4):365-76.
23. Silver H, Bilker WB. Social cognition in schizophrenia and healthy aging: Differences and similarities. *Schizophrenia Research*. 1 de diciembre de 2014;160(1):157-62.
24. Chen Y, Ekstrom T. Perception of faces in schizophrenia: Subjective (self-report) vs. objective (psychophysics) assessments. *J Psychiatr Res*. mayo de 2016;76:136-42.
25. Kitoko GMB, Maurage P, Ma Miezi SM, Gillain B, Kiswanga AP, Constant E. Inter-individual variability of social perception and social knowledge impairments among patients with schizophrenia. *Psychiatry Res*. agosto de 2020;290:112951.
26. Gao Z, Zhao W, Liu S, Liu Z, Yang C, Xu Y. Facial Emotion Recognition in Schizophrenia. *Front Psychiatry [Internet]*. 2021 [citado 11 de julio de 2021];12. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsy.2021.633717/full>
27. Vaskinn A, Andersson S, Østefjells T, Andreassen OA, Sundet K. Emotion perception, non-social cognition and symptoms as predictors of theory of mind in schizophrenia. *Compr Psychiatry*. agosto de 2018;85:1-7.
28. Bicks LK, Koike H, Akbarian S, Morishita H. Prefrontal Cortex and Social Cognition in Mouse and Man. *Front Psychol [Internet]*. 26 de noviembre de 2015 [citado 2 de mayo de 2021];6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4659895/>

29. Wood JN, Grafman J. Human prefrontal cortex: processing and representational perspectives. *Nat Rev Neurosci.* febrero de 2003;4(2):139-47.
30. Amodio y Frith - 2006 - Meeting of minds the medial frontal cortex and so.pdf.
31. Gao W-J, Wang H-X, A. M, Li Y-C. The Unique Properties of the Prefrontal Cortex and Mental Illness. En: Mantamadiotis T, editor. *When Things Go Wrong - Diseases and Disorders of the Human Brain* [Internet]. InTech; 2012 [citado 27 de junio de 2021]. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/when-things-go-wrong-diseases-and-disorders-of-the-human-brain/development-of-prefrontal-cortex-and-mental-illness>
32. Amodio DM, Frith CD. Meeting of minds: the medial frontal cortex and social cognition. *Nat Rev Neurosci.* abril de 2006;7(4):268-77.
33. Wittmann MK, Lockwood PL, Rushworth MFS. Neural Mechanisms of Social Cognition in Primates. *Annu Rev Neurosci.* 8 de julio de 2018;41(1):99-118.
34. Ko J. Neuroanatomical Substrates of Rodent Social Behavior: The Medial Prefrontal Cortex and Its Projection Patterns. *Front Neural Circuits.* 13 de junio de 2017;11:41.
35. Shenhav A, Botvinick MM, Cohen JD. The Expected Value of Control: An Integrative Theory of Anterior Cingulate Cortex Function. *Neuron.* julio de 2013;79(2):217-40.
36. Fuster JM. The prefrontal cortex in the neurology clinic. *Handb Clin Neurol.* 2019;163:3-15.
37. Bird CM, Castelli F, Malik O, Frith U, Husain M. The impact of extensive medial frontal lobe damage on 'Theory of Mind' and cognition. *Brain.* 1 de abril de 2004;127(4):914-28.
38. Bahia VS, Takada LT, Caixeta L, Lucato LT, Porto CS, Nitri R. Prefrontal damage in childhood and changes in the development of personality: a case report. *Dement Neuropsychol.* 2013;7(1):132-5.
39. Frith U, Frith CD. Development and neurophysiology of mentalizing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 29 de marzo de 2003;358(1431):459-73.
40. Xu P, Chen A, Li Y, Xing X, Lu H. Medial prefrontal cortex in neurological diseases. *Physiological Genomics.* 1 de septiembre de 2019;51(9):432-42.
41. Mohnke S, Erk S, Schnell K, Romanczuk-Seiferth N, Schmierer P, Romund L, et al. Theory of mind network activity is altered in subjects with familial liability for schizophrenia. *Soc Cogn Affect Neurosci.* febrero de 2016;11(2):299-307.
42. Jáni M, Kašpárek T. Emotion recognition and theory of mind in schizophrenia: A meta-analysis of neuroimaging studies. *World J Biol Psychiatry.* 2018;19(sup3):S86-96.
43. Brunet-Gouet E, Decety J. Social brain dysfunctions in schizophrenia: A review of neuroimaging studies. *Psychiatry Research: Neuroimaging.* diciembre de 2006;148(2-3):75-92.
44. Penner J, Ford KA, Taylor R, Schaefer B, Théberge J, Neufeld RWJ, et al. Medial Prefrontal and Anterior Insular Connectivity in Early Schizophrenia and Major Depressive Disorder: A Resting Functional MRI Evaluation of Large-Scale Brain Network Models. *Front Hum Neurosci* [Internet]. 2016 [citado 27 de junio de 2021];10. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnhum.2016.00132/full>

45. Zhang M, Palaniyappan L, Deng M, Zhang W, Pan Y, Fan Z, et al. Abnormal Thalamocortical Circuit in Adolescents With Early-Onset Schizophrenia. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. abril de 2021;60(4):479-89.
46. Chen P, Ye E, Jin X, Zhu Y, Wang L. Association between Thalamocortical Functional Connectivity Abnormalities and Cognitive Deficits in Schizophrenia. *Sci Rep*. 27 de febrero de 2019;9(1):2952.
47. He Y, Steines M, Sammer G, Nagels A, Kircher T, Straube B. Modality-specific dysfunctional neural processing of social-abstract and non-social-concrete information in schizophrenia. *Neuroimage Clin*. 2021;29:102568.
48. Uhlhaas PJ. The Adolescent Brain: Implications for the Understanding, Pathophysiology, and Treatment of Schizophrenia. *Schizophr Bull*. mayo de 2011;37(3):480-3.
49. Selemon LD, Zecevic N. Schizophrenia: a tale of two critical periods for prefrontal cortical development. *Transl Psychiatry*. agosto de 2015;5(8):e623-e623.
50. Kehrer C. Altered excitatory-inhibitory balance in the NMDA-hypofunction model of schizophrenia. *Front Mol Neurosci* [Internet]. 2008 [citado 14 de julio de 2021];1. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/neuro.02.006.2008/abstract>
51. Benes FM. The GABA system in schizophrenia: cells, molecules and microcircuitry. *Schizophr Res*. septiembre de 2015;167(1-3):1-3.
52. Grace AA. Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: A hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience*. enero de 1991;41(1):1-24.
53. Hoftman GD, Lewis DA. Postnatal Developmental Trajectories of Neural Circuits in the Primate Prefrontal Cortex: Identifying Sensitive Periods for Vulnerability to Schizophrenia. *Schizophr Bull*. mayo de 2011;37(3):493-503.
54. Lewis DA, Hashimoto T, Volk DW. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*. abril de 2005;6(4):312-24.
55. Lewis DA, Curley AA, Glausier JR, Volk DW. Cortical parvalbumin interneurons and cognitive dysfunction in schizophrenia. *Trends in Neurosciences*. enero de 2012;35(1):57-67.
56. Smucny J, Carter CS, Maddock RJ. Medial Prefrontal Cortex Glutamate Is Reduced in Schizophrenia and Moderated by Measurement Quality: A Meta-analysis of Proton Magnetic Resonance Spectroscopy Studies. *Biol Psychiatry*. 12 de junio de 2021;S0006-3223(21)01393-7.
57. Guidotti A, Auta J, Davis JM, Di-Giorgi-Gerevini V, Dwivedi Y, Grayson DR, et al. Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem brain study. *Arch Gen Psychiatry*. noviembre de 2000;57(11):1061-9.
58. Kaar SJ, Angelescu I, Marques TR, Howes OD. Pre-frontal parvalbumin interneurons in schizophrenia: a meta-analysis of post-mortem studies. *J Neural Transm*. 1 de diciembre de 2019;126(12):1637-51.
59. Uno Y, Coyle JT. Glutamate hypothesis in schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*. mayo de 2019;73(5):204-15.

60. Wyllie DJA, Livesey MR, Hardingham GE. Influence of GluN2 subunit identity on NMDA receptor function. *Neuropharmacology*. noviembre de 2013;74:4-17.
61. Kocsis B. Differential role of NR2A and NR2B subunits in N-methyl-D-aspartate receptor antagonist-induced aberrant cortical gamma oscillations. *Biol Psychiatry*. 1 de junio de 2012;71(11):987-95.
62. Franklin TB, Silva BA, Perova Z, Marrone L, Masferrer ME, Zhan Y, et al. Prefrontal cortical control of a brainstem social behavior circuit. *Nat Neurosci*. febrero de 2017;20(2):260-70.
63. Liu L, Xu H, Wang J, Li J, Tian Y, Zheng J, et al. Cell type–differential modulation of prefrontal cortical GABAergic interneurons on low gamma rhythm and social interaction. *Science Advances*. 1 de julio de 2020;6(30):eaay4073.
64. Lee E, Rhim I, Lee JW, Ghim J-W, Lee S, Kim E, et al. Enhanced Neuronal Activity in the Medial Prefrontal Cortex during Social Approach Behavior. *J Neurosci*. 29 de junio de 2016;36(26):6926-36.
65. Challis C, Beck SG, Berton O. Optogenetic modulation of descending prefrontocortical inputs to the dorsal raphe bidirectionally bias socioaffective choices after social defeat. *Front Behav Neurosci [Internet]*. 2014 [citado 28 de junio de 2021];8. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnbeh.2014.00043/full>
66. Gutzeit VA, Ahuna K, Santos TL, Cunningham AM, Rooney MS, Denny CA, et al. Optogenetic reactivation of prefrontal social memory trace mimics social buffering of fear. *bioRxiv*. 30 de agosto de 2019;752386.
67. Sun Q, Li X, Li A, Zhang J, Ding Z, Gong H, et al. Ventral Hippocampal-Prefrontal Interaction Affects Social Behavior via Parvalbumin Positive Neurons in the Medial Prefrontal Cortex. *iScience*. marzo de 2020;23(3):100894.
68. Uhlhaas P, Pipa G, Lima B, Melloni L, Neuenschwander S, Nikolić D, et al. Neural synchrony in cortical networks: history, concept and current status. *Front Integr Neurosci [Internet]*. 2009 [citado 30 de junio de 2021];3. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/neuro.07.017.2009/full>
69. Buzsáki G, Anastassiou CA, Koch C. The origin of extracellular fields and currents — EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nat Rev Neurosci*. junio de 2012;13(6):407-20.
70. Mathalon DH, Sohal VS. Neural Oscillations and Synchrony in Brain Dysfunction and Neuropsychiatric Disorders: It's About Time. *JAMA Psychiatry*. agosto de 2015;72(8):840-4.
71. Kim B, Kocsis B, Hwang E, Kim Y, Strecker RE, McCarley RW, et al. Differential modulation of global and local neural oscillations in REM sleep by homeostatic sleep regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 28 de febrero de 2017;114(9):E1727-36.
72. Buzsáki G, Draguhn A. Neuronal Oscillations in Cortical Networks. *Science*. 25 de junio de 2004;304(5679):1926-9.
73. Hunt MJ, Kopell NJ, Traub RD, Whittington MA. Aberrant Network Activity in Schizophrenia. *Trends in Neurosciences*. junio de 2017;40(6):371-82.
74. Uhlhaas PJ, Singer W. Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. *Nat Rev Neurosci*. febrero de 2010;11(2):100-13.

75. Buzsáki G, Wang X-J. Mechanisms of Gamma Oscillations. *Annu Rev Neurosci*. 21 de julio de 2012;35(1):203-25.
76. Gao W-J, Yang S-S, Mack NR, Chamberlin LA. Aberrant maturation and connectivity of prefrontal cortex in schizophrenia—contribution of NMDA receptor development and hypofunction. *Mol Psychiatry*. 23 de junio de 2021;1-13.
77. Flynn G, Alexander D, Harris A, Whitford T, Wong W, Galletly C, et al. Increased absolute magnitude of gamma synchrony in first-episode psychosis. *Schizophrenia Research*. 1 de octubre de 2008;105(1):262-71.
78. Sun Y, Farzan F, Barr MS, Kirihara K, Fitzgerald PB, Light GA, et al. Gamma oscillations in schizophrenia: Mechanisms and clinical significance. *Brain Research*. 21 de septiembre de 2011;1413:98-114.
79. Senkowski D, Gallinat J. Dysfunctional Prefrontal Gamma-Band Oscillations Reflect Working Memory and Other Cognitive Deficits in Schizophrenia. *Biological Psychiatry*. junio de 2015;77(12):1010-9.
80. Rürup L, Mathes B, Schmiedt-Fehr C, Wienke AS, Özerdem A, Brand A, et al. Altered gamma and theta oscillations during multistable perception in schizophrenia. *Int J Psychophysiol*. septiembre de 2020;155:127-39.
81. Rutter L, Carver FW, Holroyd T, Nadar SR, Mitchell-Francis J, Apud J, et al. Magnetoencephalographic gamma power reduction in patients with schizophrenia during resting condition. *Hum Brain Mapp*. octubre de 2009;30(10):3254-64.
82. Grent-’t-Jong T, Gross J, Goense J, Wibral M, Gajwani R, Gumley AI, et al. Resting-state gamma-band power alterations in schizophrenia reveal E/I-balance abnormalities across illness-stages. *eLife*. 7:e37799.
83. Tanaka-Koshiyama K, Koshiyama D, Miyakoshi M, Joshi YB, Molina JL, Sprock J, et al. Abnormal Spontaneous Gamma Power Is Associated With Verbal Learning and Memory Dysfunction in Schizophrenia. *Front Psychiatry [Internet]*. 2020 [citado 4 de julio de 2021];11. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsy.2020.00832/full>
84. Zaytseva Y, Garakh Z, Novototsky-Vlasov V, Gurovich IYa, Shmukler A, Papaefstathiou A, et al. EEG coherence in a mental arithmetic task performance in first episode schizophrenia and schizoaffective disorder. *Clinical Neurophysiology*. 1 de noviembre de 2018;129(11):2315-24.
85. Singh F, Shu I-W, Hsu S-H, Link P, Pineda JA, Granholm E. Modulation of frontal gamma oscillations improves working memory in schizophrenia. *NeuroImage: Clinical*. 1 de enero de 2020;27:102339.
86. Popova P, Rockstroh B, Miller GA, Wienbruch C, Carolus AM, Popov T. The impact of cognitive training on spontaneous gamma oscillations in schizophrenia. *Psychophysiology*. agosto de 2018;55(8):e13083.
87. Ahnaou A, Huysmans H, Biermans R, Manyakov NV, Drinkenburg WHIM. Ketamine: differential neurophysiological dynamics in functional networks in the rat brain. *Transl Psychiatry*. septiembre de 2017;7(9):e1237.

88. Neill JC, Barnes S, Cook S, Grayson B, Idris NF, McLean SL, et al. Animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia: Focus on NMDA receptor antagonism. *Pharmacology & Therapeutics*. diciembre de 2010;128(3):419-32.
89. Aguilar DD, Radzik LK, Schiffino FL, Folorunso OO, Zielinski MR, Coyle JT, et al. Altered neural oscillations and behavior in a genetic mouse model of NMDA receptor hypofunction. *Sci Rep*. 27 de abril de 2021;11(1):9031.
90. Bicks LK, Yamamuro K, Flanigan ME, Kim JM, Kato D, Lucas EK, et al. Prefrontal parvalbumin interneurons require juvenile social experience to establish adult social behavior. *Nat Commun*. 21 de febrero de 2020;11(1):1003.
91. Lahti AC, Weiler MA, Tamara M, Parwani A, Tamminga CA. Effects of Ketamine in Normal and Schizophrenic Volunteers. *Neuropsychopharmacol*. octubre de 2001;25(4):455-67.
92. Beck K, Hindley G, Borgan F, Ginestet C, McCutcheon R, Brugger S, et al. Association of Ketamine With Psychiatric Symptoms and Implications for Its Therapeutic Use and for Understanding Schizophrenia: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 1 de mayo de 2020;3(5):e204693.
93. Pérez MÁ, Morales C, Santander O, García F, Gómez I, Peñaloza-Sancho V, et al. Ketamine-Treatment During Late Adolescence Impairs Inhibitory Synaptic Transmission in the Prefrontal Cortex and Working Memory in Adult Rats. *Front Cell Neurosci*. 20 de agosto de 2019;13:372.
94. Behrens MM, Ali SS, Dao DN, Lucero J, Shekhtman G, Quick KL, et al. Ketamine-Induced Loss of Phenotype of Fast-Spiking Interneurons Is Mediated by NADPH-Oxidase. *Science*. 7 de diciembre de 2007;318(5856):1645-7.
95. Behrens MM, Sejnowski TJ. Does schizophrenia arise from oxidative dysregulation of parvalbumin-interneurons in the developing cortex? *Neuropharmacology*. septiembre de 2009;57(3):193-200.
96. Negrón-Oyarzo I, Espinosa N, Aguilar-Rivera M, Fuenzalida M, Aboitiz F, Fuentealba P. Coordinated prefrontal–hippocampal activity and navigation strategy-related prefrontal firing during spatial memory formation. *PNAS*. 3 de julio de 2018;115(27):7123-8.
97. Paxinos and Franklin's the Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates - 5th Edition [Internet]. [citado 16 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.com/books/paxinos-and-franklins-the-mouse-brain-in-stereotaxic-coordinates/paxinos/978-0-12-816157-9>
98. Kraeuter A-K, Guest PC, Sarnyai Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Methods Mol Biol*. 2019;1916:99-103.
99. Heredia L, Torrente M, Colomina MT, Domingo JL. Assessing anxiety in C57BL/6J mice: A pharmacological characterization of the zero maze test. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. septiembre de 2013;68(2):275-83.
100. Rein B, Ma K, Yan Z. A standardized social preference protocol for measuring social deficits in mouse models of autism. *Nat Protoc*. octubre de 2020;15(10):3464-77.
101. Mitra PP, Pesaran B. Analysis of dynamic brain imaging data. *Biophys J*. febrero de 1999;76(2):691-708.

102. Nikiforuk A, Hołuj M, Kos T, Popik P. The effects of a 5-HT_{2A} receptor antagonist in a ketamine based rat model of cognitive dysfunction and the negative symptoms of schizophrenia. *Neuropharmacology*. junio de 2016;105:351-60.
103. Rung JP, Carlsson A, Rydén Markinhuhta K, Carlsson ML. (+)-MK-801 induced social withdrawal in rats; a model for negative symptoms of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. junio de 2005;29(5):827-32.
104. Becker A, Peters B, Schroeder H, Mann T, Huether G, Grecksch G. Ketamine-induced changes in rat behaviour: A possible animal model of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. junio de 2003;27(4):687-700.
105. Peters SM, Tuffnell JA, Pinter IJ, van der Harst JE, Spruijt BM. Short- and long-term behavioral analysis of social interaction, ultrasonic vocalizations and social motivation in a chronic phencyclidine model. *Behavioural Brain Research*. mayo de 2017;325:34-43.
106. Zoupa E, Gravanis A, Pitsikas N. The novel dehydroepiandrosterone (DHEA) derivative BNN27 counteracts behavioural deficits induced by the NMDA receptor antagonist ketamine in rats. *Neuropharmacology*. junio de 2019;151:74-83.
107. Jenkins TA, Harte MK, McKibben CE, Elliott JJ, Reynolds GP. Disturbances in social interaction occur along with pathophysiological deficits following sub-chronic phencyclidine administration in the rat. *Behavioural Brain Research*. 12 de diciembre de 2008;194(2):230-5.
108. Egerton A, Reid L, McGregor S, Cochran SM, Morris BJ, Pratt JA. Subchronic and chronic PCP treatment produces temporally distinct deficits in attentional set shifting and prepulse inhibition in rats. *Psychopharmacology*. mayo de 2008;198(1):37-49.
109. George M, Maheshwari S, Chandran S, Manohar JS, Sathyanarayana Rao TS. Understanding the schizophrenia prodrome. *Indian J Psychiatry*. 2017;59(4):505-9.
110. Castelnovo A, Ferrarelli F, D'Agostino A. Schizophrenia: from neurophysiological abnormalities to clinical symptoms. *Front Psychol* [Internet]. 20 de abril de 2015 [citado 19 de abril de 2021];6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4403289/>
111. Green TL, Burket JA, Deutsch SI. Age-dependent effects on social interaction of NMDA GluN2A receptor subtype-selective antagonism. *Brain Research Bulletin*. julio de 2016;125:159-67.
112. White IM, Minamoto T, Odell JR, Mayhorn J, White W. Brief Exposure to Methamphetamine (METH) and Phencyclidine (PCP) during Late Development Leads to Long-Term Learning Deficits in Rats. *Brain Res*. 17 de abril de 2009;1266:72-86.
113. Sams-Dodd F. (+) MK-801 and phencyclidine induced neurotoxicity do not cause enduring behaviours resembling the positive and negative symptoms of schizophrenia in the rat. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. noviembre de 2004;95(5):241-6.
114. Hamieh AM, Babin D, Sablé E, Hernier AM, Castagné V. Neonatal phencyclidine and social isolation in the rat: effects of clozapine on locomotor activity, social recognition, prepulse inhibition, and executive functions deficits. *Psychopharmacology*. febrero de 2021;238(2):517-28.

115. McNally J, McCarley R, Brown R. Chronic Ketamine Reduces the Peak Frequency of Gamma Oscillations in Mouse Prefrontal Cortex Ex vivo. *Frontiers in Psychiatry* [Internet]. 2013 [citado 18 de enero de 2023];4. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsy.2013.00106>
116. Bianciardi B, Uhlhaas PJ. Do NMDA-R antagonists re-create patterns of spontaneous gamma-band activity in schizophrenia? A systematic review and perspective. *Neurosci Biobehav Rev.* mayo de 2021;124:308-23.
117. Zacharias N, Musso F, Müller F, Lammers F, Saleh A, London M, et al. Ketamine effects on default mode network activity and vigilance: A randomized, placebo-controlled crossover simultaneous fMRI/EEG study. *Hum Brain Mapp.* enero de 2020;41(1):107-19.
118. Nugent AC, Ballard ED, Gould TD, Park LT, Moaddel R, Brutsche NE, et al. Ketamine has distinct electrophysiological and behavioral effects in depressed and healthy subjects. *Mol Psychiatry.* julio de 2019;24(7):1040-52.
119. Baradits M, Kakuszi B, Bálint S, Fullajtár M, Mód L, Bitter I, et al. Alterations in resting-state gamma activity in patients with schizophrenia: a high-density EEG study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* junio de 2019;269(4):429-37.
120. Tanaka-Koshiyama K, Koshiyama D, Miyakoshi M, Joshi YB, Molina JL, Sprock J, et al. Abnormal Spontaneous Gamma Power Is Associated With Verbal Learning and Memory Dysfunction in Schizophrenia. *Front Psychiatry* [Internet]. 2020 [citado 4 de julio de 2021];11. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsy.2020.00832/full>
121. Popov T, Popova P. Same clock, different time read-out: Spontaneous brain oscillations and their relationship to deficient coding of cognitive content. *NeuroImage.* octubre de 2015;119:316-24.
122. Jabi MP, Behrens MM, Sejnowski TJ. Abnormal gamma oscillations in NMDAR hypofunction models of schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 1 de mayo de 2016;79(9):716-26.
123. Bender F, Gorbati M, Cadavieco MC, Denisova N, Gao X, Holman C, et al. Theta oscillations regulate the speed of locomotion via a hippocampus to lateral septum pathway. *Nat Commun.* 12 de octubre de 2015;6(1):8521.
124. Canolty RT, Knight RT. The functional role of cross-frequency coupling. *Trends Cogn Sci.* 2010 Nov;14(11):506-15. doi: 10.1016/j.tics.2010.09.001. PMID: 20932795; PMCID: PMC3359652.
125. Tort AB, Komorowski R, Eichenbaum H, Kopell N. Measuring phase-amplitude coupling between neuronal oscillations of different frequencies. *J Neurophysiol.* 2010 Aug;104(2):1195-210.
126. Sulagna Dutta, Pallav Sengupta, Men and mice: Relating their ages, *Life Sciences*, Volume 152, 2016, Pages 244-248.

