

# La neurociencia de sistemas en el *boom* tecnológico: luces y sombras

Miguel Maravall, Luis Martínez Otero y Santiago Canals

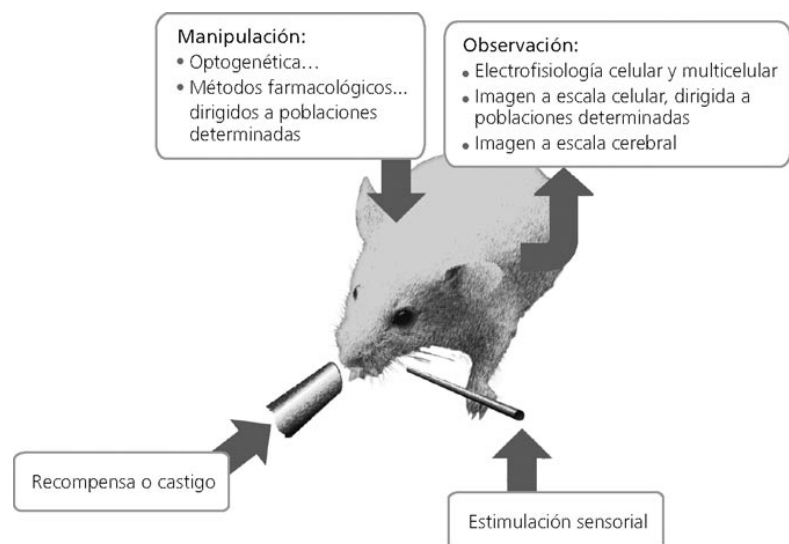
*El gran avance tecnológico de las últimas décadas nos ha permitido imaginar un futuro en el que el entendimiento funcional del cerebro podría alcanzar el estatus predictivo que tienen hoy ciencias como la física o la química, transformando nuestro conocimiento de nosotros mismos y permitiendo intervenciones rigurosas y dirigidas en las enfermedades y disfunciones cerebrales. Esta posibilidad ha aportado visibilidad a la neurociencia y atraído una inyección de fondos públicos sin precedentes. Sin embargo, los avances técnicos no han ido acompañados de un nuevo marco conceptual, y la afluencia masiva de datos que cabe esperar para el futuro próximo solo cobrará todo su valor si se acompaña de un inmenso progreso interpretativo. El presente artículo revisa estos aspectos de la neurociencia de sistemas actual.*

El fin último de la neurociencia es explicar la función del cerebro, es decir, el comportamiento de los animales. Dada la extrema complejidad estructural y funcional del cerebro, semejante tarea requiere estudiar la actividad neuronal relacionada con la generación del comportamiento a escalas espaciotemporales muy diversas. Incluso podría argumentarse que el nivel de organización que da acceso al entendimiento completo del cerebro es el ecosistema donde habita la población de individuos. Esta multidimensionalidad del sistema impone un nivel de observación también multidimensional y multimodal para su estudio: algo que recientemente parecía inalcanzable.

En los últimos años, varios desarrollos tecnológicos han producido una auténtica ruptura en esta situación al revolucionar el detalle y la extensión de la información que es posible adquirir tanto a nivel anatómico como funcional. Una metodología fundamental para estudiar niveles micro y mesoscópicos de organización es el registro de señales neurofisiológicas, como los potenciales de acción

de neuronas individuales o los potenciales de campo producidos por poblaciones neuronales. El desarrollo de matrices de

electrodos de alta densidad o diversos sistemas de imagen óptica cerebral permite registrar en paralelo un número cada



**Figura 1.** Análisis experimental de las relaciones entre circuitos neuronales y conducta. Nuevas herramientas para la observación y manipulación de la conectividad y actividad cerebral han dado lugar a protocolos experimentales que permiten monitorizar simultáneamente la actividad neuronal y la conducta del animal bajo condiciones controladas

vez mayor de neuronas, proporcionando información funcional con alta resolución temporal y espacial (fig. 1). Más allá de las escalas micro y mesoscópicas, los métodos de imagen no invasivos como la magnetoencefalografía (MEG), la tomografía por emisión de positrones (PET) y muy especialmente la imagen por resonancia magnética funcional (fMRI) han cambiado radicalmente nuestra capacidad de observación macroscópica. Estas técnicas, por ejemplo, nos pueden permitir entender la conectividad de largo recorrido y las interacciones entre estructuras cerebrales. Para ir más allá de la observación, y relacionar causalmente la actividad con aspectos del procesamiento sensorial y cognitivo o el comportamiento, se han desarrollado técnicas *optogenéticas* y *farmacogenéticas* que permiten manipular la actividad de poblaciones neuronales específicas e identificadas genéticamente, anatómica o funcionalmente.

El cerebro de los animales está formado por una cantidad innumerable de elementos que se conectan de forma masiva (fig. 2). El estudio local de las poblaciones neuronales, las propiedades de sus sinapsis y dendritas y los microcircuitos en los que se integran es de gran importancia. No obstante, el entendimiento de la conectividad a gran escala, que determina la integración y los flujos de información en el sistema, es también crítico. La razón es sencilla, la actividad en la multiplicidad de elementos del sistema interacciona de forma no lineal y sinérgica dando lugar a patrones de actividad emergentes que conforman estados funcionales. El comportamiento dinámico de un sistema de esta naturaleza no puede describirse mediante la simple suma de comportamientos de sus elementos constituyentes.

Parece obvio, en este contexto, que la combinación (multimodal) de niveles de observación es necesaria. Ejemplos del esfuerzo por aunar el análisis micro y macroscópico de las redes neuronales incluyen los estudios de microscopía seriada automatizada (tanto óptica como electrónica) que permiten reconstruir la constelación de entradas y salidas sinápticas de neuronas identificadas bien por sus propiedades funcionales, su origen genético o su pertenencia a un circuito determinado (Briggman y Denk, 2006); o la combinación de técnicas electrofisiológicas e imagen de calcio (por ejemplo, con sensores fluorescentes codificados genéticamente), que aportan alta resolución espaciotemporal, junto con técnicas

de imagen que aportan excelente cobertura espacial, como el fMRI (Logothetis, 2012; Schulz *et al.*, 2012; Álvarez-Salvado *et al.*, 2013). Por último, una potente herramienta de integración multidimensional en neurociencias son los modelos matemáticos. Si bien no proporcionan un marco teórico *per se*, ayudan a relacionar distintos niveles de complejidad, identificar elementos clave y estudiar la influencia de variables que no se pueden manipular experimentalmente (Martínez *et al.*, 2014).

Las técnicas de imagen no invasivas han revolucionado la neurobiología comportamental y cognitiva en tanto en cuanto nos han permitido «mirar dentro» del cerebro humano. Esta investigación afronta un momento apasionante en dos frentes que podríamos llamar: *integración* y *traslación*. Entre las grandes preguntas por contestar de la neurociencia se encuentra una que hemos esbozado anteriormente: ¿cómo genera una misma estructura anatómica semejante diversidad de estados funcionales? Estudios de neuroimagen en conjunción con técnicas analíticas están empezando a desvanecer parte del misterio proporcionando caminos para entender los flujos de información en el cerebro (Park y Friston, 2013). Más allá del interés básico de esta inves-

basadas en la modificación precisa de receptores activados por ligandos sintéticos (Urban y Roth, 2014) o por luz de distintas longitudes de onda (Boyden *et al.*, 2005). Estas técnicas surgen de la necesidad de controlar y monitorizar en tiempo real la actividad de neuronas individuales en el cerebro intacto. La primera de ellas, denominada *DREADD* (*designer receptors exclusively activated by designer drugs*) se utiliza para modular de manera no invasiva la actividad de receptores acoplados a proteínas G (GPCR) lo que permite aumentar o disminuir la actividad neuronal al interactuar con un ligando sintético. Cuando estos receptores se incluyen en vectores virales o se expresan en modelos transgénicos, permiten el control muy preciso, tanto espacial como temporalmente, de pequeños circuitos cerebrales e incluso tipos celulares, y estudiar su relevancia en distintos contextos comportamentales. Otra técnica que permite el control muy preciso de la actividad (en una escala de milisegundos) en tipos celulares individuales en un cerebro, por lo demás intacto, es la optogenética (Deisseroth, 2011).

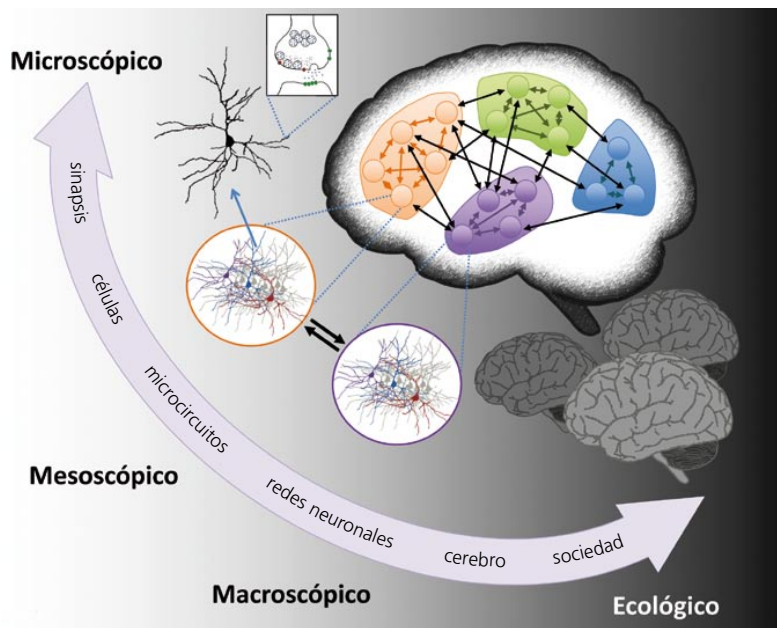
La optogenética se basa en la introducción selectiva de canales y enzimas activados por luz. En su versión más primitiva, se utilizaron canales ionotrópicos que se

**«Las técnicas de imagen no invasivas han revolucionado la neurobiología comportamental y cognitiva y nos han permitido 'mirar dentro' del cerebro humano.»**

tigación, estas técnicas permiten extraer aplicaciones que abarcan desde el diagnóstico y pronóstico de enfermedades neurológicas y psiquiátricas (Bullmore y Sporns, 2009) que dejan «huellas funcionales» reconocibles en la dinámica de las redes cerebrales, al diseño eficiente «neuroinspirado» de redes creadas por el hombre para telecomunicación, energéticas o transporte (Reis *et al.*, 2014).

En la escala microscópica, la última década ha visto el nacimiento de una serie de estrategias para el estudio del cerebro

activaban por ligandos enjaulados liberados en respuesta a la luz (Zemelman *et al.*, 2003). Sin embargo, esta técnica era muy farragosa ya que requería ensamblar múltiples componentes limitando su versatilidad y especificidad. El paso decisivo en la popularización de la optogenética fue la introducción de proteínas de microorganismos que se activan directamente con la luz permitiendo el flujo de iones a través de la membrana plasmática (Boyden *et al.*, 2005). Como en el caso de los DREADD, distintas proteínas permiten modular la actividad en dos



**Figura 2.** Las dimensiones del cerebro: de la sinapsis a la estructura social. La extrema complejidad del sistema nervioso impone la necesidad de su estudio a muy diversas escalas espaciales y temporales

direcciones, excitando o inhibiendo a la neurona de interés. El catálogo de tales «opsinas» no para de crecer, incluyendo ahora algunas que modifican la actividad bioquímica (concentraciones intracelulares de segundos mensajeros, etc.).

Con el advenimiento de la última generación de virus que expresan opsinas o DREADD dependiendo de Cre-recombinasa y la proliferación de líneas transgénicas de ratones que expresan de manera selectiva Cre-recombinasa en tipos celulares bien definidos genéticamente, se abre un mundo nuevo para la neurociencia de sistemas, en el que será posible controlar de manera mínimamente invasiva el comportamiento de un animal y establecer relaciones causales entre ese comportamiento y distintos componentes del circuito cerebral (tabla 1).

Cabe notar que las técnicas disponibles para controlar estas manipulaciones de la actividad son aún demasiado toscas para muchas aplicaciones: por ejemplo, pueden activarse ópticamente todas las neuronas de una determinada categoría definida genéticamente, pero la categoría puede incluir neuronas con un papel funcional relevante y otras que no tengan nada que ver con la función a examen; o puede ser que las neuronas de interés controlen el comportamiento a través de

un patrón de actividad que difiere entre neuronas, mientras que la manipulación impone la misma actividad para todas ellas. Estos problemas pueden llevar a resultados artefactuales. Sin duda, en los próximos años deberá mejorar la precisión con la que es posible dirigir la manipulación a un pequeño grupo de neuronas de interés, o incluso una única neurona. Más aún, en un futuro no muy lejano, con el diseño de nuevos vectores virales seguros para su utilización en humanos, estas técnicas podrían proporcionar una alternativa a los métodos actuales de estimulación cerebral que se utilizan en el tratamiento de enfermedades neuropsiquiátricas.

El enorme potencial de estas tecnologías ha reorientado buena parte de la investigación del campo de la neurociencia de sistemas. Una tendencia es el desarrollo de protocolos de comportamiento básicos que puedan ser controlados en condiciones cerradas de laboratorio, permitiendo así la aplicación sencilla de los métodos antes descritos: por ejemplo, tareas en las que se pide a un animal que distinga un estímulo de otros, o se establece una relación entre un determinado estímulo o ambiente y una experiencia aversiva. Estos protocolos están idealmente adaptados a la medición y manipulación de respuestas neuronales y pueden aportar

gran potencia experimental y analítica. Sin embargo, a menudo están lejos de reproducir el comportamiento natural del animal o las condiciones en que se produce. Numerosos ejemplos sugieren que esta aproximación reduccionista necesita la tutela de visiones más globales sobre el contexto ecológico en el que un patrón comportamental cobra sentido. Por ejemplo, algo tan básico como el reconocimiento de *conspecificos* (memoria social), piedra fundamental en el establecimiento de jerarquías, es muy sensible a entornos experimentales (socialmente) empobrecidos (Blanchard y Blanchard, 2003) e incluso algunos autores han encontrado que puede llegar a desaparecer tras 24 horas de aislamiento (Kogan *et al.*, 2000), práctica habitual en estudios electrofisiológicos crónicos. Si bien parece lógico pensar que los comportamientos sociales padezcan con especial gravedad la simplificación experimental, otros procesos cognitivos también son sensibles al enriquecimiento (desempobrecimiento) ambiental, como el aprendizaje y la memoria o la resistencia a patologías (Würbel, 2001).

Una alternativa a los diseños «controlados», hecha posible por recientes avances tecnológicos en genética y en seguimiento conductual, es la ofrecida por el análisis genético de conductas naturales. La idea conceptual es realizar un análisis comparativo con el fin de rastrear el componente genético de comportamientos propios de una especie, cepa o sexo (atracción por humanos en mosquitos [McBride *et al.*, 2014], construcción de madrigueras en ratones [Weber *et al.*, 2013], detección de feromonas y comportamiento social [We *et al.*, 2014]). Posteriormente se intentan utilizar los patrones de expresión de los genes de interés para buscar las bases neuronales de ese comportamiento. Este enfoque tiene la ventaja de examinar conductas naturales con relevancia etológica, si bien pierde control experimental y es arriesgado, ya que depende de la posibilidad de extraer analíticamente relaciones causales entre la expresión de unos cuantos genes y la actividad neuronal o la conducta. Sin embargo, a largo plazo es posible imaginar que descendientes de este enfoque holístico y etológico producirán los resultados más relevantes para nuestra comprensión causal del comportamiento.

Otro efecto de la actual revolución tecnológica ha sido la potenciación relativa de los roedores, y en particular el ratón,

**Tabla 1. Algunos avances posibilitados por el uso de farmacogenética y optogenética en el análisis funcional de la actividad neuronal**

	Referencia	Título	Descripción
Optogenética	Adamantidis A. <i>et al.</i> : <i>Nature</i> 2007; 450: 420-4	Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons	Inducción del despertar en animales mediante fotoactivación de neuronas productoras de hipocretina en el hipotálamo
	Busskamp V. <i>et al.</i> : <i>Science</i> 2010; 329: 413-7	Genetic reactivation of cone photoreceptors restores visual responses in <i>retinitis pigmentosa</i>	Restauración de la sensibilidad a la luz en un modelo experimental de ceguera por retinitis pigmentosa, mediante expresión de opsinas en fotorreceptores no sensibles a la luz y sustitución de la cascada natural de fototransducción
	Lammel S. <i>et al.</i> : <i>Nature</i> 2012; 491: 212-7	Input-specific control of reward and aversion in the ventral tegmental area	Disección de los circuitos neuronales de entrada a las neuronas dopaminérgicas que inducen sensaciones de recompensa y aversión
	O'Connor D.H. <i>et al.</i> : <i>Nat Neurosci</i> 2013; 16: 958-65	Neural coding during active somatosensation revealed using illusory touch	Inducción de una sensación de contacto virtual en el sentido táctil de los ratones mediante la estimulación de opsinas en la corteza somatosensorial: demostración del papel causal de diferentes aspectos de la actividad de poblaciones específicas en la capa 4 de la corteza
	Redondo R.L. <i>et al.</i> : <i>Nature</i> 2014; 513: 426-30	Bidirectional switch of the valence associated with a hippocampal contextual memory engram	Reactivación de una memoria espacial mediante la estimulación optogenética de neuronas que se activaron durante su codificación. La valencia de la memoria (aversiva vs. neutra) se reprograma emparejando la activación optogenética de la misma población neuronal con un nuevo contexto etológico
Farmacogenética	Garner <i>et al.</i> : <i>Science</i> 2012; 335:1513-6	Generation of a synthetic memory trace	Alteración de ritmos en el hipocampo promoviendo la generación de memorias sintéticas, <i>de novo</i>
	Kuhlman <i>et al.</i> : <i>Nature</i> 2013; 501: 543-6	A disinhibitory microcircuit initiates critical-period plasticity in the visual cortex	Alteración de la actividad inhibitoria, con el efecto de modificar ventanas para la plasticidad sensorial; el efecto podría utilizarse para tratar afecciones visuales
	Nunez-Parra <i>et al.</i> : <i>PNAS</i> 2013; 110: 14777-82	Disruption of centrifugal inhibition to olfactory bulb granule cells impairs olfactory discrimination	Disminución de actividad de distintos tipos de interneuronas corticales afectando a la discriminación sensorial
	Parnaudeau <i>et al.</i> : <i>Neuron</i> 2013; 77: 1151-62	Inhibition of mediodorsal thalamus disrupts thalamofrontal connectivity and cognition	Modificación de la actividad de neuronas talamocorticales como modelo potencial de daño cognitivo en esquizofrenia
	Silva <i>et al.</i> : <i>Nat Neurosci</i> 2013; 16: 1731-3	Independent hypothalamic circuits for social and predator fear	Alteración de los circuitos del hipotálamo, identificando categorías celulares implicadas en la generación de diferentes tipos de miedo

como modelos experimentales en la neurociencia de sistemas. Si bien los roedores (sobre todo la rata) ya eran un modelo popular, gran parte de los avances en el entendimiento funcional de los circuitos nerviosos han procedido de modelos alternativos. Estos han incluido tanto vertebrados con un parentesco más cercano con el humano (primates; carnívoros, por ejemplo gatos y hurones), como invertebrados cuyas características facilitaban el estudio de algún aspecto de la

actividad neuronal. El uso de primates, gatos y hurones favorecía la validación de la relevancia de los descubrimientos; el uso de otros animales podía aportar un aspecto comparativo.

El desarrollo de tareas de laboratorio controladas rigurosamente ha demostrado que, de hecho, los ratones son capaces de realizar comportamientos de discriminación que previamente se creían solo al alcance de primates o felinos. Como

consecuencia de ello, y de la potencia del ratón como modelo genético, el uso de este animal en estudios de sistemas se ha disparado hasta amenazar la pervivencia de otros modelos experimentales. Ello aportará conocimientos de las bases neuronales del comportamiento del ratón con un detalle inimaginable hasta hace poco, pero tiene el peligro de dificultar un análisis comparativo riguroso entre especies. Es probable que esta «burbuja» de experimentos en roedores seguramente

disminuya en el futuro próximo con la mayor disponibilidad de herramientas genéticas (por ejemplo el sistema CRISPR-Cas9) en otros organismos.

En conclusión, el desarrollo de nuevas herramientas tecnológicas ha producido un salto en nuestra capacidad de adquirir datos experimentales sin parangón en las últimas generaciones: el último ejemplo comparable es el que produjeron los avances de mediados del siglo XX en las técnicas de registro electrofisiológico, que permitieron revelar el funcionamiento de corrientes iónicas y descubrir los canales subyacentes, formular los principios de la comunicación sináptica, y comenzar a entender la organización funcional de los circuitos de neuronas centrales. Sin embargo, aquellos avances conceptuales aún están lejos de ser igualados por los producidos por la presente generación de nuevas tecnologías. En muchos casos, la nueva información – por ejemplo, sobre conectividad de circuitos – ha venido a duplicar o rellenar huecos en el conocimiento ya existente.

En otros casos hacen falta mayores controles experimentales: por ejemplo, en ocasiones, no se verifica si los efectos de estimular optogenéticamente un tipo neuronal en una región determinada se deben específicamente a estimulación somática de las neuronas presentes localmente, o a estimulación de axones de pasaje procedentes de neuronas de esa misma clase pero presentes en otra región. La diversidad y precisión de estas herramientas mejorará en los próximos años. El proyecto norteamericano BRAIN, impulsado desde la Casa Blanca y financiado por instituciones públicas y privadas, tiene como objetivo principal una mejora sin precedentes en la potencia y rigor de los recursos experimentales para observar y manipular la actividad neuronal, tanto en animales como, eventualmente, en humanos. Ello conducirá a una avalancha masiva de datos sobre la estructura y actividad del cerebro a múltiples escalas, que a su vez requerirá nuevas técnicas de análisis, también contempladas en dicho proyecto. La gran cuenta pendiente será entonces la de desarrollar nuevos marcos teóricos que permitan interpretar estos resultados.

Cabe destacar que las principales cuestiones conceptuales de la neurociencia de sistemas en las últimas dos o tres décadas responden a marcos sugeridos por generaciones anteriores: los efectos de diversos modos de plasticidad sináptica a largo plazo (LTP) como modelo para el aprendizaje (conceptualización entre los años cuarenta y setenta); la existencia en el hipocampo de neuronas que actúan como mapa espacial del entorno (conceptualización en 1971; premio Nobel en 2014); la distribución azarosa u ordenada en mapas de neuronas con distintas propiedades funcionales (conceptualización entre los años treinta y sesenta; Nobel en 1981); y por último, el que tal vez es aún el ejemplo más espectacular del trabajo analítico y cuantitativo en neurociencia, la teoría de Hodgkin-Huxley de las bases del potencial de acción y la naturaleza de las corrientes iónicas (1952; Nobel en 1963). Esta comparación con los avances del pasado nos recuerda que la actual neurociencia de sistemas está dando sus primeros pasos, pero también nos sugiere que una época de enormes logros inductivos y conceptuales puede estar próxima. Se trata, pues, de una edad de oro para los neurocientíficos de sistemas, y podemos tener esperanzas de que pronto lo sea para la neurociencia de sistemas también. #

.....  
**Miguel Maravall, Luis Martínez Otero y Santiago Canals**

UNIDAD DE NEUROBIOLOGÍA CELULAR Y DE SISTEMAS  
 INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS,  
 CSIC-UMH  
 SANT JOAN D'ALACANT, ALICANTE

### ► Bibliografía

- Brigman K.L., Denk W.: «Towards neural circuit reconstruction with volume electron microscopy techniques». *Curr Opin Neurobiol* 2006; 16 (5): 562-70.
- Logothetis N.K.: «Intracortical recordings and fMRI: an attempt to study operational modules and networks simultaneously». *Neuroimage* 2012; 62 (2): 962-9.
- Schulz K., Sydekum E., Krueppel R., Engelbrecht C.J., Schlegel F., Schröter A., Rudin M., Helmchen F.: «Simultaneous BOLD fMRI and fiber-optic calcium recording in rat neocortex». *Nat Methods* 2012; 9 (6): 597-602.
- Álvarez-Salvado E., Pallarés V., Moreno A., Canals S.: «Functional MRI of long-term potentiation: imaging network plasticity». *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2013; 369 (1633): 20130152.
- Martínez L.M., Molano-Mazón M., Wang X., Sommer F.T., Hirsch J.A.: «Statistical wiring of thalamic receptive fields optimizes spatial sampling of the retinal image». *Neuron* 2014; 81: 943-56.
- Park H.J., Friston K.: «Structural and functional brain networks: from connections to cognition». *Science* 2013; 342 (6158): 1238411.
- Bullmore E., Sporns O.: «Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems». *Nat Rev Neurosci* 2009; 10 (3): 186-98.
- Reis S., Hu Y., Babino A., Andrade J.S., Canals S., Sigman M., Makse H.A.: «Avoiding catastrophic failure in correlated networks of networks». *Nature Physics* 2014; 10: 762-7.
- Urban D.J., Roth B.L.: DREADDs (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs): Chemogenetic Tools with Therapeutic Utility. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2014; 55: 399-417.
- Boyden E.S., Zhang F., Bamberg E., Nagel G., Deisseroth K.: «Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity». *Nat Neurosci* 2015; 8: 1263-8.
- Zemelman B.V., Nesnas N., Lee G.A., Miesenböck G.: «Photochemical gating of heterologous ion channels: remote control over genetically designated populations of neurons». *Nat Neurosci* 2003; 14: 100-7.
- Blanchard R.J., Blanchard D.C.: «Bringing natural behaviors into the laboratory: a tribute to Paul MacLean». *Physiol Behav* 2003; 79 (3): 515-24.
- Kogan J.H., Frankland P.W., Silva A.J.: «Long-term memory underlying hippocampus-dependent social recognition in mice». *Hippocampus* 2000; 10 (1): 47-56.
- Würbel H.: «Ideal homes? Housing effects on rodent brain and behavior». *Trends Neurosci* 2001; 24 (4): 207-11.
- McBride C.S., Baier F., Omondi A.B., Spitzer S.A., Lutomiiah J., Sang R., Ignell R., Vosshall L.B.: «Evolution of mosquito preference for humans linked to an odorant receptor». *Nature* 2014; 515 (7526): 222-7.
- Weber J.N., Peterson B.K., Hoekstra H.E.: «Discrete genetic modules are responsible for complex burrow evolution in *Peromyscus* mice». *Nature* 2013; 493 (7432): 402-5.
- Wu Z., Autry A.E., Bergan J.F., Watabe-Uchida M., Dulac C.G.: «Galanin neurons in the medial preoptic area govern parental behavior». *Nature* 2014; 509 (7500): 325-30.