

La optogenética revoluciona la neurociencia

Roger Redondo

Las estrategias para el uso de la optogenética se encuentran en una fase de crecimiento exponencial, algo que refleja la revolución que supone su empleo para el acceso y la manipulación, con alta precisión, de circuitos y de la actividad de grupos de neuronas definidos por su genética, anatomía y función.

En los últimos 30 años, la tecnología para grabar o escuchar la actividad del cerebro ha mejorado gradualmente mediante avances en la miniaturización de la electrofisiología, el desarrollo de la imaginería de resonancia magnética (MRI) o incluso la detección de señales de calcio en grupos muy grandes de neuronas. Sin embargo, la capacidad para manipular la actividad neuronal artificialmente y así entender su papel en circuitos y comportamiento estaba limitado a drogas o a la estimulación eléctrica, herramientas muy limitadas a la hora de distinguir unas neuronas

de otras. En los últimos cinco años, la neurociencia está viviendo una revolución gracias a la posibilidad de manipular, con alta precisión, la actividad de grupos de neuronas definidos por su genética, anatomía y función. La herramienta que permite tal control es la optogenética.

► La optogenética: una herramienta para el estudio del cerebro

La optogenética se basa en el uso de opsinas microbianas que pueden ser activadas por la luz con alta precisión temporal (Tye

y Deisseroth, 2012) (fig. 1). Estas máquinas celulares tienen la propiedad de cambiar de configuración ante la frecuencia electromagnética adecuada y abrir poros en las membranas neuronales, alterando así el nivel de polarización de las neuronas. El arsenal de opsinas a disposición de los neurocientíficos aumenta cada año con herramientas más precisas, más sensibles o capaces de modular otros sistemas de señalización bioquímica además de la polarización de la membrana. Estas opsinas son la parte óptica de la optogenética, y no serían de mucha utilidad si no fuera por la capacidad de controlar su expresión dentro de unas células y no otras. Este



Figura 1. Tanto para activar como para inhibir, la optogenética resuelve el problema de falta de especificidad de la estimulación eléctrica. Solo las neuronas que expresan la opsin son activadas por el láser

Fuente: Adaptada de Deisseroth, 2011 con permiso de Nature Publishing Group.

control genético es posible gracias a los grandes avances en biología molecular e ingeniería genética. Gracias a estos conocimientos, las opsinas pueden ser expresadas en diversos tipos de elementos reguladores. Por ejemplo, el uso de promotores específicos para un tipo celular permite expresar las opsinas en unas neuronas y no en otras. También el uso de elementos de expresión genética condicionales permite restringir la expresión de estas opsinas a un período determinado. Las estrategias para el uso de la optogenética están en fase de crecimiento exponencial (Deisseroth, 2011), un reflejo de la revolución que supone su uso para acceso y la manipulación de circuitos y neuronas.

Como ejemplo de precisión en la activación de circuitos neuronales valga el reciente estudio en el que el consumo de agua se controla a base de activar un *set* de neuronas u otro (Oka *et al.*, 2015). O ya hace unos años, la ansiedad también se pudo controlar a base de activar ciertos circuitos hasta entonces inaccesibles para la neurociencia (Tye *et al.*, 2011).

A medida que los bioingenieros desarrollan nuevas opsinas, también la biología molecular desarrolla nuevas maneras de controlar la expresión de estas. La combinación de estos avances permite a electrofisiólogos y psicólogos interrogar circuitos y células de maneras muy novedosas.

► La optogenética como terapia: reprogramación de circuitos neuronales

Históricamente, las manipulaciones del cerebro se han basado en el uso de drogas o, de manera más drástica, lesiones físicas. Estos campos siguen avanzando con mejores drogas de efectos más específicos. Sin embargo, la neurociencia está vivien-

do una revolución tecnológica gracias a la optogenética y al control de circuitos neuronales que permite, por primera vez, *recablear* circuitos, controlando así el tráfico de información entre distintas áreas del cerebro (fig. 2).

Sin duda, tal revolución tecnológica se cimienta en conocimientos ya clásicos de plasticidad neuronal, como la potenciación a largo plazo (LTP en inglés). Esta plasticidad neuronal se ha identificado

como la base celular para el aprendizaje y recientemente, también gracias a la optogenética, la inducción explícita de LTP permitió formar y alterar la expresión de un recuerdo del miedo (Nabavi *et al.*, 2014). Es así como el objetivo de la reprogramación neuronal es usar esta capacidad de inducir plasticidad artificialmente, mediante optogenética, para cambiar las conexiones entre nodos de un determinado circuito.

Para profundizar en el concepto de *reprogramación de circuitos neuronales*, podemos centrarnos en la disciplina del aprendizaje y memoria, y en los trabajos de varios laboratorios, entre ellos el de Susumu Tonegawa del Massachusetts Institute of Technology. Ya hace unos

años que la genética permitió demostrar que la activación de grupos de neuronas en el hipocampo que toman parte en la formación de una memoria, provoca comportamientos que sugieren que el animal está recordando esos eventos (Garner *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2012). La tecnología empleada en este estudio combina el uso de ratones transgénicos con el uso de virus para conseguir que la expresión de la opsina esté limitada a neuronas activas durante un evento. Más

«El principal centro de aprendizaje emocional en el cerebro es la amígdala, un grupo de núcleos profundos en el lóbulo temporal que cuando son dañados producen la pérdida del componente emocional de las memorias.»

tarde, activando esas neuronas, se consigue producir el comportamiento asociado con tal evento. Estos experimentos se distinguen de estudios previos en los que se inactivan neuronas precisamente porque estos resultados muestran la suficiencia de estos circuitos para activar un recuerdo. Necesidad y suficiencia son propiedades ortogonales, es decir, que una no implica la otra. Hasta hace poco, estudiar la suficiencia de grupos de neuronas estaba limitado a usar electrodos para estimular regiones enteras del cerebro. Ahora con la optogenética, grupos especiales de neuronas dentro de una misma región pueden ser aislados y estudiados independientemente. En otras palabras, dentro de una misma estructura cerebral, las nuevas tecnologías permi-

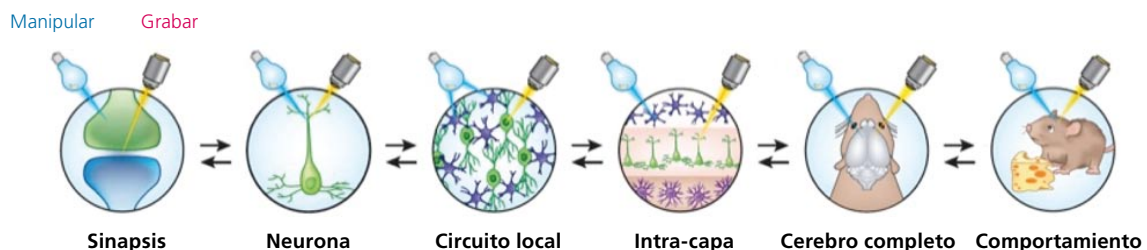


Figura 2. La optogenética puede usarse en multitud de aplicaciones en varios niveles de función cerebral

Fuente: Adaptada de Hausser, 2014 con permiso de Nature Publishing Group.

ten manipular a conveniencia un subgrupo de neuronas, algo imposible hasta hace unos años. A este acceso privilegiado hay que añadir el concepto clásico en neurociencia que propone que los circuitos que se activan simultáneamente se conectan mutuamente. Es así cómo se abre la posibilidad de que, bajo el control optogenético, la actividad de un circuito de interés se pueda asociar artificialmente con otro que está siendo también activado en algún punto del cerebro.

A modo de ejemplo de reprogramación de circuitos neuronales, vale la pena explicar cómo la información sobre el lugar (posicional) donde ocurre un evento se puede reconectar con una emoción u otra, quedando ambos fenómenos asociados (fig. 3). Los recuerdos asociados a emociones no solo unen las redes neuronales que codifican el *dónde*, el *qué* y el *cuándo* del evento, sino que también vinculan estos componentes neutros de una experiencia con los circuitos cerebrales responsables de producir esas emociones. Mientras que el hipocampo parece capaz de codificar el contexto en el que un evento tiene lugar, otras estructuras se especializan en el control de las emociones. El principal centro de aprendizaje emocional en el cerebro es la amígdala, un grupo de núcleos profundos en el lóbulo temporal que cuando son dañados

producen la pérdida del componente emocional de las memorias (Zola-Morgan *et al.*, 1991; Anderson y Phelps, 2001). Las neuronas en la amígdala responden tanto a estímulos de valor positivo como negativos (Paton *et al.*, 2006) y la inactivación de la amígdala previene la asociación entre el estímulo y la emoción tanto de manera anterógrada (Miserendino *et al.*, 1990) como retrógrada (Han *et al.*, 2009). Correlación y necesidad son algunas de las condiciones necesarias para identificar un circuito que dota de emoción a los recuerdos (Martin y Morris, 2002). El reto final de la suficiencia, es decir, que el circuito al ser activado sea capaz de producir el efecto por sí solo, también ha sido abordado recientemente, primero a nivel sináptico con el emparejamiento de la plasticidad sináptica con activación de la amígdala (Nabavi *et al.*, 2014), y luego a nivel de circuito mediante una reprogramación neuronal que ha permitido la vinculación de una misma memoria contextual codificada por el hipocampo con emociones negativas o positivas expresadas en la amígdala (Redondo *et al.*, 2014).

Nabavi y su equipo se basaron en conocimientos previos que indicaban que el condicionamiento del miedo induce LTP en la amígdala (Rogan *et al.*, 1997) y fueron capaces de emparejar choques

eléctricos con la coactivación optogenética de las sinapsis de neuronas del tálamo auditivo o de neuronas de la corteza auditiva con neuronas de la amígdala. Esto dio lugar a la asociación de la actividad de las neuronas auditivas con miedo y tal memoria artificial podía ser borrada y recreada con la inducción de LTD y LTP, respectivamente (Nabavi *et al.*, 2014).

Para reprogramar el circuito, en el estudio de Redondo *et al.*, los autores se basaron en la tecnología de Liu *et al.* (2012) y primero demostraron que las neuronas del hipocampo activadas durante la formación de una memoria de miedo en un lugar 'A' son capaces de producir un comportamiento aversivo cuando son activadas optogenéticamente. Luego, esas neuronas fueron activadas mientras que los ratones experimentaron una emoción positiva en otro lugar 'B'. Después de este tratamiento o *inducción*, la información asociada con esas neuronas cambió, y la posterior activación de las neuronas manipuladas en el hipocampo pasó a producir una respuesta apetitiva en vez de aversiva. Esta reconfiguración del circuito se confirmó viendo qué neuronas del hipocampo activan qué neuronas de la amígdala, el nodo encargado de la emoción. Las neuronas del hipocampo capaces de activar ciertas neuronas en la amígdala, después de la *inducción* activan

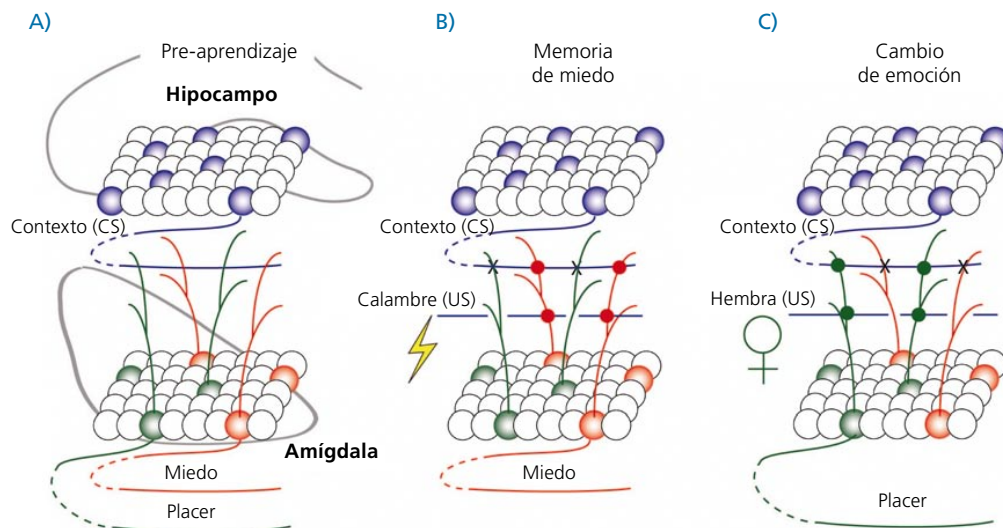


Figura 3. Reprogramación neuronal del circuito que asigna emoción a una representación contextual

A) Antes de la experiencia, el circuito que conecta el hipocampo con la amígdala (neuronas violetas) tiene la flexibilidad para conectarse con neuronas en la amígdala capaces de producir miedo (neuronas naranjas) o placer (neuronas verdes).

B) La actividad conjunta del circuito del hipocampo y de las neuronas del miedo de la amígdala produce una asociación (memoria).

C) Después de la reprogramación neuronal, el circuito es reprogramado de manera que la actividad de las neuronas del hipocampo activa neuronas del placer en la amígdala.

Fuente: Redondo *et al.*, 2014

un grupo de neuronas distinto. Así, el circuito entre hipocampo y amígdala puede ser redirigido, cambiado artificialmente gracias a su control optogenético. Cuando el experimento se realizó partiendo de una asociación apetitiva, el resultado fue simétricamente inverso: las neuronas del hipocampo originalmente vinculadas a una memoria apetitiva y que fueron reactivados optogenéticamente durante el aprendizaje de miedo, produjeron una respuesta aversiva (Redondo *et al.*, 2014).

No todos los nodos en el circuito tienen la misma flexibilidad asociativa y tienen sus conexiones reprogramables. En este estudio las neuronas de la amígdala activadas durante la formación de la memoria también se sometieron a control optogenético, intentándose los mismos protocolos de reprogramación. Sin embargo, en este centro, las neuronas activas durante la formación de una memoria de miedo siguieron produciendo una respuesta aversiva incluso después del intento de reprogramación (*inducción*) que sí funciona con el hipocampo. Tampoco se pudo cambiar el significado de la actividad de las neuronas de la amígdala encargadas de producir una respuesta apetitiva. Es decir, la flexibilidad en los circuitos neuronales que permiten su reprogramación está limitada a ciertos nodos o circuitos (fig. 3).

El uso de la plasticidad como medio para tratar psicopatologías (Tye, 2014) es sin duda fascinante y una de las fronteras científicas a explorar en este siglo. Un primer paso será adaptar el concepto de plasticidad dirigido a psicopatologías específicas. Por ejemplo, hay líneas de investigación que se están abriendo para el tratamiento de la ansiedad relacionada con el consumo de drogas. En este caso, el signo del cambio sería de asociación positiva a neutral o negativa. Es decir, a partir de una asociación positiva anómala (adicción), convertirla en una respuesta neutra o incluso de repulsión. Esto se ha demostrado posible en ratones al reprogramar los circuitos que conectan el

hipocampo con la corteza prefrontal o la conexión desde la amígdala a la corteza prefrontal, de tal manera que en estos casos la adicción a la cocaína se ha visto disminuida (Pascoli *et al.*, 2014).

En resumen, la capacidad de control de la actividad de poblaciones neuronales específicas que se ha desarrollado en los últimos años gracias a la optogenética es muy notable. Ello nos dota de una herramienta de análisis poderosa que, sin duda, abre una nueva época de investigación del cerebro. #

Roger Redondo

HHMI AND RIKEN-MIT CENTER FOR NEURAL CIRCUIT GENETICS
EN EL PICOWER INSTITUTE FOR LEARNING AND MEMORY,
DEPARTMENT OF BIOLOGY AND DEPARTMENT OF BRAIN AND COGNITIVE SCIENCES,
MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY (MIT),
CAMBRIDGE, MASSACHUSETTS, EE.UU.

► Bibliografía

- Anderson A.K., Phelps E.A.: «Lesions of the human amygdala impair enhanced perception of emotionally salient events». *Nature* 2011; 411: 305-9.
- Deisseroth K.: «Optogenetics». *Nat Meth* 2011; 8: 26-9.
- Garner A.R., Rowland D.C., Hwang S.Y., Baumgaertel K., Roth B.L., Kentros C., Mayford M.: «Generation of a synthetic memory trace». *Science* 2012; 335: 1513-6.
- Han J.H., Kushner S.A., Yiu A.P., Hsiang H.L., Buch T., Waisman A., Bontempi B., Neve R.L., Frankland P.W., Josselyn S.A.: «Selective erasure of a fear memory». *Science* 2009; 323: 1492-6.
- Hausser M.: «Optogenetics: the age of light». *Nat Meth* 2014; 11: 1012-4.
- Liu X., Ramirez S., Pang P.T., Puryear C.B., Govindarajan A., Deisseroth K., Tonegawa S.: «Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall». *Nature* 2012; 484: 381-5.
- Martin S.J., Morris R.G.: «New life in an old idea: the synaptic plasticity and memory hypothesis revisited». *Hippocampus* 2002; 12: 609-36.
- Miserendino M.J.D., Sananes C.B., Melia K.R., Davis M.: «Blocking of acquisition but not expression of conditioned fear-potentiated startle by NMDA antagonists in the amygdala». *Nature* 1990; 345: 716-8.
- Nabavi S., Fox R., Proulx C.D., Lin J.Y., Tsien R.Y., Malinow R.: «Engineering a memory with LTD and LTP». *Nature* 2014; 511: 348-52.
- Oka Y., Ye M., Zuker C.S.: «Thirst driving and suppressing signals encoded by distinct neural populations in the brain». *Nature* 2015 (advance online publication).
- Pascoli V., Terrier J., Espallergues J., Valjent E., O'Connor E.C., Luscher C.: «Contrasting forms of cocaine-evoked plasticity control components of relapse». *Nature* 2014; 509: 459-64.
- Paton J.J., Belova M.A., Morrison S.E., Salzman C.D.: «The primate amygdala represents the positive and negative value of visual stimuli during learning». *Nature* 2006; 439: 865-70.
- Redondo R.L., Kim J., Arons A.L., Ramírez S., Liu X., Tonegawa S.: «Bidirectional switch of the valence associated with a hippocampal contextual memory engram». *Nature* 2014; 513: 426-30.
- Rogan M.T., Staubli U.V., LeDoux J.E.: «Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala». *Nature* 1997; 390: 604-7.
- Sah P., Faber E.S.L., López de Armentia M., Power J.: «The amygdaloid complex: anatomy and physiology». *Physiol Rev* 2003; 83 (3): 803-34.
- Tye Kay M.: «Neural circuit reprogramming: a new paradigm for treating neuropsychiatric disease?». *Neuron* 2014; 83: 1259-61.
- Tye K.M., Deisseroth K.: «Optogenetic investigation of neural circuits underlying brain disease in animal models». *Nat Rev Neurosci* 2012; 13: 251-66.
- Tye K.M., Prakash R., Kim S.-Y., Fenno L.E., Grosenick L., Zarabi H., Thompson K.R., Gradinaru V., Ramakrishnan C., Deisseroth K.: «Amygdala circuitry mediating reversible and bidirectional control of anxiety». *Nature* 2011; 471: 358-62.
- Zola-Morgan S., Squire L.R., Álvarez-Royo P., Clower R.P.: «Independence of memory functions and emotional behavior: separate contributions of the hippocampal formation and the amygdala». *Hippocampus* 1991; 1: 207-20.