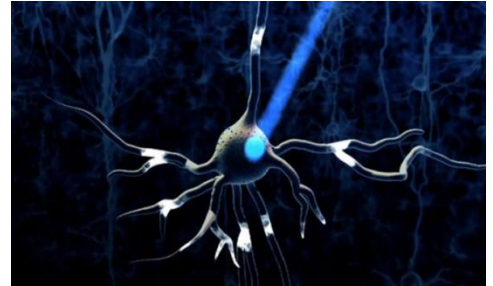


Optogenética

La finalidad de este ensayo es la exposición de una reciente técnica de combinación de la genética con el ámbito de la óptica y la tecnología para controlar células de tejidos vivos, incluso de mamíferos y otros animales, para así mantener el funcionamiento de los sistemas biológicos.



Introducción

El control de la optogenética se genera a partir del uso de la luz como agente inductor de los cambios sensibles de proteínas, naturales o modificados genéticamente y/o químicamente, para introducir a los genes que codifican dichas proteínas en las células o tejidos diana y, por último, la generación de sistemas de detección de los cambios de comportamiento producidos en dichas células y tejidos.

"Es un maravilloso ejemplo de cómo la tecnología puede impulsar el progreso científico"

Los métodos optogenéticos se basan en proteínas sensibles a la luz codificadas a partir de genes exógenos. La introducción de células que contengan este tipo de genes permite modificar el comportamiento a nivel celular mediante la presencia o ausencia de luz. La idea clave es la fusión en una proteína de dominios que absorben la luz con dominios efectores, capaces de una función específica. Un avance muy importante de esta tecnología está basado en el uso de **opsinas** que proceden de microorganismos bacterianos como interruptores celulares. Las opsinas combinan un dominio sensible a la luz y un canal iónico en la misma proteína.

La importancia principal que desencadena esta técnica es el control de modelos de actividad neuronal específicos a partir de potenciales de acción. Estas técnicas se han empleado, sobretodo últimamente, en investigaciones de neurociencias, en las que se estudian los comportamientos *in vivo* de células individualizadas.

Francis Crick es uno de los impulsores de esta técnica. Hizo la afirmación siguiente en un artículo publicado en 1929:

"A veces enunciar claramente una necesidad se sitúa a medio camino de ponerla en práctica. Por ejemplo, sería muy valioso un método que hiciera posible inyectar una sustancia en una neurona que luego tiñera de forma clara todas las neuronas conectadas entre ellas y no otras. Sería un método que permitiría desactivar todas las neuronas de un solo tipo, dejando al resto más o menos inalteradas".

Para él, la mayor dificultad a la que se enfrentaba la neurociencia era poder ejercer el control sobre un cierto tipo de neuronas sin afectar a otras para poder así comprender su funcionamiento. Los métodos disponibles hasta el momento no permitían ni de lejos este tipo de detalle. Anticipado por él mismo en conferencias de Kuffler en la Universidad de California en San Diego, exponía la posibilidad de crear nuevas rutas neuronales a partir del uso de luz como control neuronal. Richard Fork posteriormente, y Rafael Yuste, demostraron la activación por láser de las neuronas del tejido intacto, aunque no de una forma genéticamente orientada.

El primer método dirigido y controlado genéticamente por láser que utilizaba la luz como control neuronal en células sensibilizadas fue publicado en 2002 por Boriz Zemelman y Gero Miesenböck, que emplearon fotorreceptores para la rodopsina de *Drosophila Melanogaster* para controlar la actividad neuronal. En 2003 volvieron a desarrollar un segundo método para la activación dependiente de la luz de neuronas individuales en las que los canales inotrópicos TRPV1, TRPM8 y P2X2 fueron encerrados en respuesta a la luz.

A partir de aquí se desarrollaron des de diversos grupos científicos, el desarrollo de fotointerruptores orgánicos o compuestos enjaulados que podrían interactuar con los canales de iones genéticamente introducidos. A causa de múltiples problemas en la realización experimental, ninguno de los enfoques previos fueron aplicados.

En 2005, los científicos Susana Lima y Miesenböck publicaron el uso de la fotoestimulación genéticamente orientada de P2X2 para controlar el comportamiento de *Drosophila Melanogaster*, demostrando que la fotoestimulación de grupos genéticamente centrados

de neuronas provocaba cambios en el comportamiento característico de *Drosophila*.

Karl Deisseroth es uno de los científicos más relevantes de esta técnica. Explica que la optogenética combina los conocimientos de la genética y la óptica y comprende además técnicas que nos harán dirigir los genes y células de interés.

En la Universidad de Stanford ese mismo año se publicó la primera demostración de un sistema optogenético de un solo componente, de la canalrodopsina 2, un canal catiónico de un solo componente activado por luz procedente de algas unicelulares. Las propiedades de esta proteína hacían útil el estudio optogenético.

El gran punto que impulsó el proyecto fue pasar de neuronas crecientes en placas de cultivo al control neuronal en ratones específicamente. Para conseguirlo, primero usaron vectores virales que introducían el ADN de la ChR2 y así como las instrucciones para que solo se produjese en un tipo de célula neuronal concreta.



En 2010 la optogenética fue escogida como el método del año entre todos los campos de ingeniería y ciencia por la revista *"Nature Methods"*. Al mismo tiempo fue destacado en el artículo "Insights of de Decade" publicado en la revista *"Science"*.

En 2013 consiguió su mayor fama de reconocimiento al emplearlo para generar recuerdos artificiales en roedores transgénicos. Sin embargo, su objetivo principal es el de identificar el funcionamiento de circuitos cerebrales neuronales.

Este hecho, conjuntamente con la simplicidad del método y el relativamente bajo coste de los equipos, y la facilidad de aprendizaje ha promovido la universalidad de esta técnica.

Este método se espera que sea muy útil próximamente para identificar a las poblaciones celulares implicadas en padecimientos múltiples y apoyar a la búsqueda de nuevos tratamientos.

Las aplicaciones de la optogenética han servido para:

- Controlar ataques epilépticos en modelos de animales experimentales.
- Al manipular neuronas dopaminérgicas se ha podido potenciar o evitar la adicción a la cocaína.
- El sueño y el estado de vigilia pueden regularse a través de neuronas hipocretinas¹. Es la base para el desarrollo de fármacos que ayuden a tratamientos de narcolepsia.
- Inducción del apetito al activar neuronas del hipotálamo o inhibir y producir pérdida de peso.
- Si se produce una arritmia cardíaca, el corazón nuevamente puede bombear sangre al ritmo cardíaco al ritmo de la luz. Así se desarrolla el primer marcapasos basado en la optogenética.
- Tratamientos para el Parkinson.
- Recuperación de la vista en ratones ciegos.

Funcionamiento

Lo que se genera entonces es:

1. Desarrollo de proteínas fotosensibles, modulando el potencial de membrana y dirigiendo la señalización celular.
2. Conducción de genes a la célula diana por transferencia, transducción o creación de animales transgénicos.
3. Iluminación controlada.
4. Análisis de resultados obtenidos.

Los destellos de luz pueden provenir de un láser o LED, y junto con los métodos genéticos se es capaz de transferir a un grupo específico de neuronas el cDNA que codificaba las opsinas. Las opsinas son canales iónicos que se abren con la presencia de luz instantáneamente.

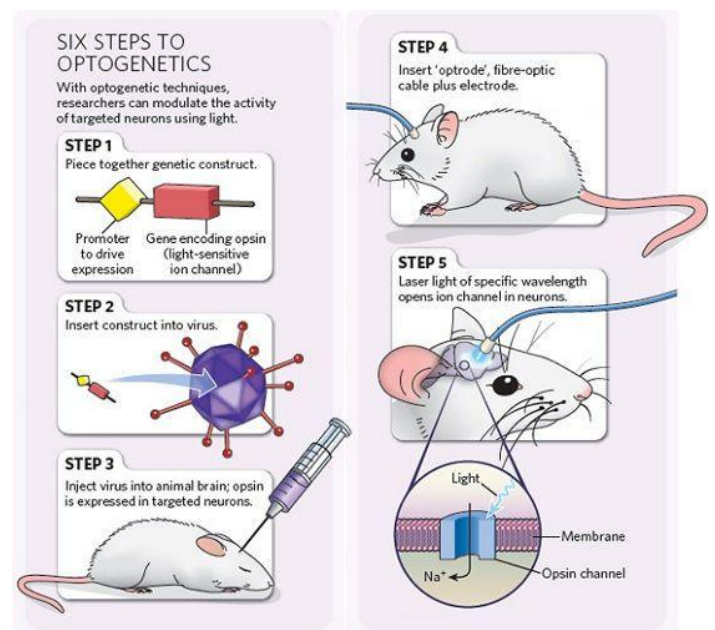
¹ **Neuronas hipocretinas:** Neuronas encargadas de la secreción de hipocretina. La hipocretina, o también conocida como orexina, son los nombres puestos a un par de hormonas neuropéptidas excitantes que fueron simultáneamente descubiertas por investigadores en cerebros de rata.

El alga utilizada se trata de *Chlamydomonas reinhardtii*, y su característica se basa en la capacidad que tiene para moverse hacia una fuente luminosa, y se desplaza hacia la luz por actuación de la proteína **Canalrodopsina 2 (ChR2)**.

Ante la estimulación con un haz luminoso de 473nm, luz azul, el ChR2 se abre permitiendo el paso de iones a través de gradiente electroquímico de la célula. Las neuronas tienen suficientes proteínas de ChR2 para que la luz azul, por fibra óptica, permita la apertura de canales de sodio, y con ello la entrada de iones Na^+ al interior de las neuronas. Cuando el ChR2 se expresa en la membrana neuronal, se transforman los impulsos en potenciales de acción.

El siguiente paso consiste en secuenciar el gen que contiene la información que se codificará en las bacterias para esos canales e insertarlo en las neuronas deseadas. Esto se puede conseguir a partir de la inyección de virus en el organismo, portador de esos genes. Dichos virus se obtienen mediante ingeniería genética y que aparte del gen específico que se quiere codificar, conlleva otra serie de genes que permiten que la proteína solamente se active en las neuronas que queramos. Si no fuese así, se correría el riesgo de que la proteína se insertase en cualquier tejido del organismo.

Una vez se tiene al animal expresando la proteína que queríamos y en los tipos neuronales deseados, el siguiente paso será activar esas proteínas. Para hacerlo se realiza un implante de fibra óptica mediante cirugía estereotáxica² para que llegue hasta la región donde queremos regular la actividad. Esta



² **Cirugía estereotáxica:** Técnica neuroquirúrgica que permite localizar exactamente un punto dentro de la cavidad craneal. Requiere de la colocación de una estructura externa para fijar la cabeza del paciente y constituye un marco de referencia, útil para la toma de biopsias o reinserción de lesiones profundas de pequeño tamaño. Es una técnica mínimamente invasiva. En teoría cualquier órgano puede ser intervenido mediante cirugía estereotáxica, pero su dificultad para obtener un buen sistema de referencia hacen que en este tipo de cirugía se aplique solo a la neurocirugía cuando se es únicamente necesario.

fibra óptica deberá conectarse a una fuente de luz de longitud de onda determinada para emplearla en láser. A partir de ahí ya todo consiste en encender o apagar la luz para regular y modular el efecto que queremos obtener.

Para poder apagar la luz, se usa una segunda proteína distinta a la ChR2, la halorodopsina, la cual captaría un rango de color de luz diferente, los cuales activan la inhibición de la respuesta neurona.

Las ventajas del mismo son que permite estimular sólo el tipo de neuronas que interesan al científico, y encender – apagar la luz a la misma velocidad que lo harían los circuitos neuronales.

El riesgo de esta técnica recae en que siempre puede haber alguna posibilidad de que el gen se introduzca en el lugar equivocado del ADN, y además serían genes de otra especie, con lo que se generaría una respuesta inmune. Algunos se decantan por la **optofarmacología** como vía secundaria, que ahorraría la modificación genética. La idea es desarrollar fármacos sensibles a la luz, y que estos actúen en las células escogidas, por ejemplo, que una retina con fotorreceptores degenerados vuelva a ser sensible a la luz mediante “gotas” de fármacos, que activarían las neuronas supervivientes.

Devolución de la vista

Con tal solo escribir la palabra “optogenética” en Google, miles de noticias relacionan la optogenética con la posibilidad de poder devolver la función de la vista a personas ciegas en un futuro. La aplicación de mayor potencial actualmente se corresponde con la recuperación de la visión, introduciendo genes sensibles a la luz en células de la retina que no están muertas. Neurocirujanos del centro *Retrosense Therapeutics* de Michigan, están desarrollando una técnica que será usada en humanos, para devolver la vista a personas ciegas, con la retina dañada. El método ha sido comprobado con éxito en ratones y monos. También tiene éxito en el uso de este para curar personas con *retinitis pigmentosa*, una degeneración de las células fotorreceptoras y fotosensibles de la retina del ojo, sensible a la luz, causando la pérdida de visión periférica y nocturna, y con el tiempo la ceguera total.

Según el **MIT Technology Reviews**, se ha llevado a cabo un experimento por la “Retina

Foundation of the Southwest”, el cual se ha llevado a cabo con 15 personas diagnosticadas con *retinitis pigmentosa*. El plan a seguir es la inyección del gen sensible a la luz en células ganglionares, las cuales transmitirán el impulso nervioso desde la retina hasta el cerebro. Como la retina de los pacientes está dañada, la esperanza es que se puedan evitar las células dañadas de la retina y hacer que las células ganglionares directamente sean las que respondan a la luz. Los pacientes que se involucren en el centro *Retrosense* puede que no sean completamente ciegos, pero no pueden ver mucho más allá de una mano que se está moviendo delante de su cara. Se esperan que los tratamientos puedan facilitar a pacientes a ver al menos sillas y mesas, e incluso letras grandes.

En esta terapia no se requeriría ni de hardware ni de cables de fibra óptica, como podría ocurrir en tratamientos que envuelvan directamente al cerebro, puesto que la luz ya entraría de forma directa por la retina. Se espera que con el tratamiento, se generen al menos 100.000 células sensibles a la luz dentro de la retina, traduciéndose así como un aumento de visión considerable. Puesto que la retina es un elemento muy sensible, se cree que los pacientes podrían ver mejor con luz exterior pero no tan bien como en interiores.

Debido a que la canalrodopsina (ChR2) solamente actúa a un solo rango de longitud de onda, la luz azul, los científicos creen que los pacientes que sean curados con este tipo de tratamiento solamente podrán ser capaces de visualizar el mundo en monocromo. No está muy claro como percibirán los colores, o si ni siquiera podrán distinguir alguno más que no sea el negro.

Los encargados de esta investigación, como Antonello Bonci, advierten que antes de que se pueda aplicar la optogenética directamente al cerebro como forma terapéutica, se necesitan más datos acerca de las células a las cuales se les debe aplicar el tratamiento. No obstante, se cree que en un plazo de cinco años sí que podrá empezarse a usar.

Control cerebral

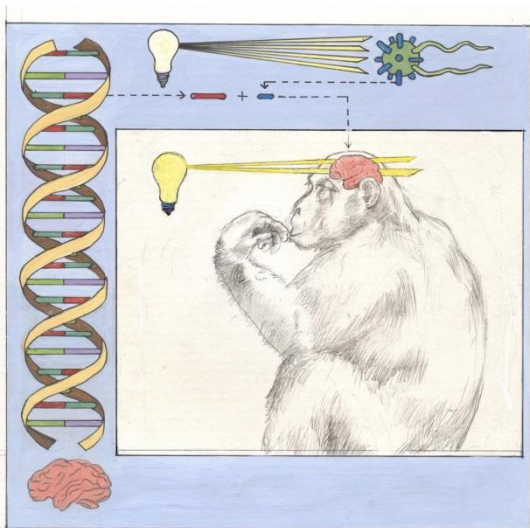
En 2012 se consiguió controlar el comportamiento de monos empleando la técnica optogenética. Los autores de este experimento colocaron los genes sensibles a la luz en el cráneo de macacos reshus. Gracias a ello los científicos fueron capaces de activar neuronas muy concretas capaces de controlar el movimiento del ojo de los macacos. Se considera

que enfermedades como la depresión y el Parkinson, así como también comportamientos obsesivos compulsivos, ansiedad e incluso algunas adicciones podrían ser capaces de superarse a partir de esta técnica.

En el caso de los enfermos de Parkinson, la luz podría activar las neuronas que producen dopamina, una de las sustancias capaces de controlar el movimiento muscular y que falta en los pacientes con este tipo de patología. El método también podría servir para combatir la epilepsia.

Se recuerda que actualmente, la optogenética es un método invasivo, ya que hay que abrir el cráneo para inyectar los genes y para introducir la fibra óptica. Sin embargo, se está buscando proteínas más sensibles a luz infrarroja, capaz atravesar el cráneo sin necesidad de tener que abrirlo. Todos estos experimentos también han sido probados en ratones *Mus Musculus*.

Los investigadores del Instituto Tecnológico de Massachusetts (**MIT**) han sido capaces tanto de etiquetar en cerebro de ratones, las neuronas que almacenaría un recuerdo, sino también de reactivarlas a voluntad con un rayo de luz azul. Así logran convertir la memoria



de una mala vivencia en un buen recuerdo. De momento pero, el potencial optogenético reside en la capacidad de desvelar la capacidad cerebral, para poder así descubrir cómo se graba un recuerdo y como afloran los traumas, la depresión o la esquizofrenia. Al registrar un acontecimiento en la memoria, se conectan entre sí neuronas en zonas especializadas en tareas diferentes del cerebro. La ruta de almacenaje de un recuerdo tiene dos vías, mediante datos neutros, es decir, donde y qué

sucedió, los cuales se guardan en el hipocampo; y el significado emocional, el cual se reserva en la amígdala. Se ha experimentado que un recuerdo puede sustituirse en el hipocampo, pero no en la amígdala, con lo cual permanece el valor emocional. Sin embargo, los investigadores de la MIT han observado que las conexiones neuronales de ambas partes se modifican al modificar el recuerdo. Si se activa un recuerdo bonito, un

ratón es capaz de quedarse en el lugar de la jaula que anteriormente rehuía. Su actitud es opuesta al resto de los ratones que asocian ese espacio con el mal recuerdo de por ejemplo, una descarga eléctrica.

Investigación asentada en Barcelona

Después de diez años de su invención, la optogenética en 2016 se está asentando en Barcelona. Albert Quintana Romero, de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB), aseguró que en 2016 "Diversos grupos importantes se están interesando", poniendo en marcha un complejo experimental en base a la optogenética asentado en nuestra propia universidad.

"Si imaginamos que el cerebro es como un ordenador, la optogenética es como un teclado que nos permite enviarle instrucciones muy precisas".

Ed Ward Boyden (Texas, EEUU, 1979)

Conclusiones

El siglo XXI está siendo el siglo de los avances científicos y tecnológicos. Considero que es de gran importancia poder unir estos dos rasgos de inteligencia, ya que el trabajo conjunto que pueden generar es mucho mayor que si los dos campos trabajaran por separado.



La optogenética me ha intrigado desde que descubrí que existía, me fascina saber que se ha indagado más en el estudio del conocimiento cerebral, y más aún si para poder conseguirlo se requieren a su vez de estudios genéticos.

La implementación de la optogenética en el momento en el que esté totalmente desarrollado su uso, supondrá un gran avance en términos psiquiátricos y de cura de enfermedades. Podremos descubrir y comprender los mecanismos subyacentes al cerebro y trastornos del cerebro en sí. Conocer un mundo en el que enfermedades tales como el Parkinson o la epilepsia puedan curarse a partir de rayos de luz produciría un cambio extraordinariamente sencillo y revolucionario a nivel clínico.

Aún así, todavía queda mucha investigación por delante para desarrollar la optogenética y que pueda ser utilizada en humanos. El grado de potenciación que espero, se generará en los diez próximos años a partir de esta técnica innovadora será uno de los avances más importantes del siglo, que nos ayudará a conocer y profundizar mucho más el cerebro y todos sus secretos aún por descubrir.

Webgrafía

https://www.youtube.com/watch?time_continue=38&v=I64X7vHSHOE

<http://esmateria.com/2012/07/27/cientificos-en-eeuu-controlan-el-comportamiento-de-monos-iluminando-su-cerebro/#prettyPhoto>

<https://www.technologyreview.es/biomedicina/49387/el-primer-ensayo-humano-con-optogenetica-podria/>

<http://www.afanporsaber.es/2015/03/optogenetica-arrojando-luz-sobre-la-neurociencia/#.V2UCaruLSM8>

<http://anestesiario.org/2014/que-es-la-optogenetica-y-para-que-sirve/>

<https://www.bbvaopenmind.com/optogenetica-la-gran-revolucion-del-estudio-del-cerebro/>

<http://www.nature.com/news/2010/100505/full/465026a.html>

<http://culturacientifica.com/2013/04/26/optogenetica-la-fascinante-tecnica-que-apasiona-a-los-neurocientificos/>

<https://www.bbvaopenmind.com/optogenetica-la-gran-revolucion-del-estudio-del-cerebro/>