

30 DE NOVIEMBRE DE 00

## Una nueva técnica sirve para visualizar la función de los canales sinápticos

Utilizando una nueva técnica, investigadores del Instituto Médico Howard Hughes han visualizado los canales de calcio en su ambiente original, mostrando el número y la actividad de las moléculas sensibles al voltaje que permiten que el calcio entre a las neuronas.

En un artículo publicado en el número del 30 de noviembre de 2000, de la revista *Nature*, el investigador del HHMI, Karel Svoboda y su colega Bernardo Sabatini en Cold Spring Harbor Laboratory describen el uso del análisis de fluctuación óptica para ver la actividad de los canales de calcio en sinapsis intactas, que son las uniones entre las neuronas. Las sinapsis están situadas en proyecciones minúsculas llamadas espinas dendríticas que sobresalen de las dendritas de las neuronas.

"Estos canales de las espinas son funcionalmente importantes porque sirven para amplificar las corrientes sinápticas, y también acoplan la actividad sináptica con los eventos bioquímicos subsecuentes", dijo Svoboda. "Estos eventos incluyen la modificación de los receptores, que lleva a cambios en la eficacia de las sinapsis, que son la base de la plasticidad cerebral a largo plazo".

Una dificultad técnica importante en la comprensión del comportamiento de estos canales, dijo Svoboda, es que la técnica de medición eléctrica extensamente usada, patch clamp de un solo canal, no se podía aplicar al estudio de los canales en las sinapsis intactas. Para realizar el patch clamp, se utilizan electrodos microscópicos que miden las propiedades eléctricas de los canales individuales.

"La técnica del patch clamp se puede utilizar solamente en preparaciones simples, tales como los cultivos de células", dijo Svoboda. "Sin embargo, estamos interesados en las sinapsis, que deben ser estudiadas en tejidos

nerviosos intactos debido a la importancia de su ambiente celular. Las sinapsis son demasiado pequeñas para ser accesibles a las mediciones eléctricas".

Para superar este obstáculo, los científicos inventaron la técnica del análisis de fluctuación óptica, que utiliza un microscopio de barrido láser para visualizar los canales de calcio, midiendo la luz emitida por un colorante fluorescente sensible al calcio, que es inyectado en las neuronas dianas presentes en secciones de cerebro de rata. Los científicos utilizan potenciales de acción eléctricos para activar la apertura repetida de los canales de calcio y luego medir las fluctuaciones en la luz emitida por las espinas. Estas fluctuaciones en la luz proporcionan una medida de la actividad del calcio en las sinapsis, la que es causada por las fluctuaciones al azar en la apertura y cierre de los canales. Los científicos analizaron esas fluctuaciones a lo largo de muchos ensayos para deducir el número y las propiedades de los canales de calcio.

"Sabíamos que las espinas eran muy pequeñas, así que no podía haber muchos canales de calcio en ellas", dijo Svoboda. "Así que pensábamos que podríamos obtener información útil analizando esas fluctuaciones. El proceso es como tirar monedas. Digamos que se tienen diez monedas. Si estas se arrojan al aire, se puede conseguir entre cero y diez caras. En promedio, se conseguirán cinco caras, pero las fluctuaciones en el número de caras entre ensayo y ensayo pueden decirnos, realmente, cuántas monedas hay y cuál es la probabilidad de obtener caras.

"Utilizamos esa clase de lógica para descubrir cuántos canales se encuentran en las espinas y cuáles son sus propiedades", dijo Svoboda. "Por ejemplo, pudimos calcular la probabilidad de la apertura del canal en respuesta a un potencial de acción". Los estudios de los científicos revelaron que la espina dendrítica típica tiene sólo alrededor de seis canales, variando entre uno y 20, y que se abren en cada activación con una alta probabilidad.

"Fue realmente sorprendente que una sinapsis individual sólo funcione con un número tan pequeño de canales", dijo Svoboda.

En estudios adicionales, Sabatini y Svoboda descubrieron cómo modular las señales de los canales de calcio. En esos estudios, los científicos utilizaron un activador químico, o agonista, que activaba los receptores  $GABA_B$  para reducir la transmisión sináptica. "Cuando agregamos el agonista del receptor de  $GABA_B$ , que probablemente activa a todos los receptores  $GABA_B$  a lo largo de la dendrita, sólo los canales de calcio presentes en las espinas fueron modulados por estos receptores activados. Así que esta es una buena

evidencia de que estas espinas son, en realidad, compartimientos de señalización separados y que el ambiente de señalización de las espinas es muy diferente que el de las dendritas".

Según Svoboda, estudios adicionales debieran generar información significativa sobre la naturaleza y localización de tales procesos bioquímicos claves que subyacen a la función y plasticidad neuronal. "En general, toda la evidencia indica que estas espinas son compartimientos de señalización aislados", dijo. "Sabemos que la sinapsis activa la espina, entra el calcio y activa enzimas o receptores, y toda esta actividad bioquímica ocurre en la cabeza de la espina".