

Titulo tesis: Comunicación astrocito-interneurona y el procesamiento de la información en las redes neuronales

Presentación

Esta tesis doctoral ha estudiado el papel de los astrocitos en la regulación de la actividad inhibitoria en los circuitos corticales y su participación en los procesos cognitivos. El procesamiento de la información en el cerebro refleja la relación entre eventos sinápticos excitatorios e inhibitorios que dan lugar a respuestas fisiológicas relevantes. La inhibición GABAérgica cumple una función crucial en la modulación la actividad espontánea e inducida de los circuitos neuronales; por tanto, el estudio de la señalización GABAérgica permitirá un mejor entendimiento de los procesos cognitivos que subyacen el comportamiento animal. En el Sistema Nervioso destaca la presencia de las células de glía, con funciones diversas y, al mismo tiempo, esenciales para la fisiología del Sistema Nervioso. Los astrocitos, uno de los tipos de células gliales más numerosos, establecen una comunicación dinámica con los elementos neuronales, conocida como Sinapsis Tripartita, en la que se produce el intercambio de señales químicas y la modulación de la actividad neuronal. Sin embargo, el conocimiento de las propiedades que rigen esta señalización proviene fundamentalmente del estudio de sinapsis excitadoras y neuronas piramidales, quedando aún por dilucidar las características de la interacción entre interneuronas GABAérgicas y astrocitos, así como las implicaciones funcionales de esta interacción para los circuitos neuronales y el comportamiento del individuo.

El estudio de la señalización astrocito-neurona requiere del uso de nuevos métodos y herramientas experimentales y de análisis que permitan la monitorización y manipulación de los astrocitos sin alterar de forma directa la respuesta neuronal, con el fin de determinar el papel que juegan estas células en los circuitos cerebrales.

Por tanto, los objetivos de esta tesis doctoral han sido: 1 - Desarrollar y caracterizar nuevas herramientas ópticas que faciliten el estudio de la comunicación astrocito-neurona desde un punto de vista fisiológico, basándose en el uso de melanopsin, una proteína-G fotosensible. 2- Estudiar las propiedades que subyacen la señalización entre neuronas GABAérgicas y astrocitos, y su participación en los circuitos corticales regulados por estas células inhibitorias. Los resultados obtenidos muestran por primera vez el uso de melanopsin, un fotopigmento sensible a luz visible y acoplado a proteínas G, para la manipulación de las señales intracelulares de calcio en astrocitos. El análisis de las respuestas inducidas por luz muestra la capacidad de melanopsin para recapitular la señalización endógena en astrocitos, indicando que esta herramienta es óptima para inducir respuestas astrocitarias similares a las producidas por la actividad neuronal.

Además, resultados obtenidos en esta tesis doctoral revelan las propiedades de la señalización entre neuronas GABAérgicas, en concreto de las interneuronas parvoalbúmina positivas (PV+), y astrocitos indicando la contribución decisiva de esta comunicación en las respuestas de las neuronas principales de la corteza cerebral durante los procesos de memoria y toma de decisiones. Así, se ha encontrado que los astrocitos responden a la actividad de las interneuronas PV+ aumentando el tono inhibitorio en las capas 2/3 de la corteza prefrontal

medial (CPFm), que resulta en una alteración del balance excitación/inhibición en los circuitos corticales.

En conclusión, los resultados derivados de esta tesis doctoral indican que los astrocitos participan en la regulación del tono inhibitorio de los circuitos de la corteza prefrontal de ratón, crucial para la correcta ejecución de tareas relacionadas con la toma de decisiones. Estos resultados evidencian el impacto de la unidad de señalización astrocito-PV+ en las funciones cerebrales, contribuyendo así al conocimiento del papel que tienen los astrocitos en el balance excitación/inhibición (E/I) cortical y su relación con los procesos cognitivos.

Resumen:

Bajo el título 'COMUNICACIÓN ASTROCITO-INTERNEURONA Y EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN EN LAS REDES NEURONALES' se recoge el trabajo realizado durante la ejecución de esta tesis doctoral, en la que se ha estudiado el control GABAérgico y el papel de los astrocitos en la regulación del tono inhibitorio y los procesos cognitivos. El procesamiento de la información en el cerebro refleja la relación entre eventos sinápticos excitatorios e inhibitorios que dan lugar a respuestas fisiológicas relevantes. El papel crucial de la inhibición GABAérgica en la modulación la actividad espontánea e inducida en los circuitos neuronales, la posiciona en el centro de estudio para un mejor entendimiento de los procesos cognitivos que subyacen el comportamiento animal. En el Sistema Nervioso destaca la presencia de las células de glía, con funciones diversas y, al mismo tiempo, esenciales en su fisiología. Los astrocitos, las células gliales más numerosas, establecen una comunicación dinámica con los elementos neuronales, conocida como Sinapsis Tripartita. Sin embargo, el conocimiento de las propiedades que rigen esta señalización proviene fundamentalmente del estudio de sinapsis excitadoras sobre neuronas piramidales, relegando a un segundo plano el análisis de la interacción entre interneuronas GABAérgicas y astrocitos, así como las implicaciones funcionales de esta interacción.

El estudio de la señalización astrocito-neurona requiere del uso de nuevos métodos y herramientas experimentales y de análisis, que permitan la monitorización y manipulación de los astrocitos sin alterar de forma directa la respuesta neuronal, con el fin de determinar el papel que juegan estas células en los circuitos cerebrales.

Por tanto, el objetivo de esta tesis doctoral ha sido en primer lugar, desarrollar y caracterizar herramientas ópticas que faciliten el estudio de la comunicación astrocito-neurona desde un punto de vista fisiológico, basándose en el uso de melanopsin, una proteína-G fotosensible, que permite controlar la actividad astrocitaria. Y en segundo lugar, estudiar las propiedades que subyacen la señalización entre astrocitos y neuronas GABAérgicas, y su participación en los eventos sinápticos y los circuitos corticales gobernados por estas células inhibitorias.

Para el abordaje de tales objetivos se emplearon: registros de patch-clamp en la configuración célula entera in vitro en secciones de hipocampo y corteza prefrontal medial (CPFm), registros extracelulares in vivo en la CPFm, imagen de Ca²⁺, empleo de opsinas para control optogénico de la actividad celular, identificación histológica de poblaciones celulares y marcadores de membrana, estudios de comportamiento de los sujetos de experimentación y análisis computacional.

Los resultados obtenidos muestran por primera vez el uso de melanopsin, un fotorpigmento sensible a luz visible y acoplado a proteínas G, para la manipulación de las señales intracelulares de Ca²⁺ en astrocitos, tanto a nivel del soma celular como de los procesos ramificados de los astrocitos. El análisis de las respuestas inducidas por luz demuestra que melanopsin recapitula la señalización intracelular inducida por receptores metabotrópicos acoplados a proteínas Gq sensibles a neurotransmisores, indicando que se trata de una herramienta optogenética idónea para inducir respuestas astrocitarias similares a las producidas por la actividad neuronal. Asimismo, modificar el patrón de estimulación por luz de melanopsin permite generar respuestas no lineales, tanto en las señales de Ca²⁺ astrocitarias como en las respuestas sinápticas derivadas de su activación; con lo que se consigue controlar de forma exógena el grado de activación de los astrocitos y evaluar su impacto tanto en los circuitos donde están localizados como en el comportamiento animal. Por tanto, estos resultados muestran la viabilidad de melanopsin como herramienta de control de la actividad astrocitaria in vitro e in vivo y ponen en relieve el papel central que juegan los astrocitos en los procesos cognitivos.

Adicionalmente, los resultados derivados de esta tesis doctoral revelan las propiedades de la señalización entre neuronas GABAérgicas, en concreto de las interneuronas parvalbúmina positivas (PV+), y astrocitos indicando la contribución decisiva de esta comunicación en la respuesta final de las neuronas principales, y durante los procesos de memoria y la toma de decisiones. Así, hemos encontrado que los astrocitos responden a diferentes patrones de actividad de las interneuronas PV+ aumentando el tono inhibitorio en las capas 2/3 de la corteza prefrontal medial (CPFm), que resulta en una alteración del balance excitación/inhibición en los circuitos corticales. El estudio farmacológico demostró que la potenciación de la inhibición está mediada por receptores de GABAB (GABABRs) en los astrocitos, y es dependiente de la señalización por Ca²⁺ en los astrocitos. Asimismo, la potenciación de la inhibición requiere de la activación de receptores metabotrópicos de glutamato de tipo I (mGluRI) en los terminales presinápticos inhibitorios que aumentan la eficacia en la liberación de GABA. El uso de melanopsin para activar de forma específica astrocitos imitando la actividad de las interneuronas PV+ induce un aumento del tono inhibitorio sobre las neuronas principales de CPFm, al mismo tiempo que ratones que expresan melanopsin en astrocitos y son estimulados con luz presentan una mejora en la ejecución de tareas cognitivas y la toma de decisiones que requieren la participación directa de la CPFm, recuperando incluso los déficits cognitivos encontrados en modelos que presentan ausencia de GABABRs específica en astrocitos.

En conclusión, estos resultados indican que los astrocitos participan en la regulación del tono inhibitorio de los circuitos de la corteza prefrontal de ratón, crucial para la correcta ejecución de tareas relacionadas con la toma de decisiones. Los resultados de este estudio evidencian el impacto de la unidad de señalización astrocito-PV+ en las funciones cerebrales, contribuyendo así a nuestro conocimiento del papel que tienen los astrocitos en el balance excitación/inhibición (E/I) cortical y su relación con los procesos cognitivos.