

# NeuBTracker. Imágenes neurodinámicas de organismos en movimiento libre

## NeuBTracker. Neurodynamic images of organisms in free movement

ROBERTO OROFINO<sup>1</sup>

Uno de los objetivos más codiciados actualmente por las neurociencias, tal vez el objetivo final de las mismas, es entender el llamado Gran Problema. ¿Como pueden los impulsos del sistema nervioso dar luz a la experiencia subjetiva de la conciencia? ¿Es posible que un organismo en el Universo logre comprender la arquitectura del sistema que da sustento a su propia percepción?

La carrera científico-tecnológica por resolver este profundo misterio, puede remontarse a la gran disputa entre Camilo Golgi y Santiago Ramón y Cajal. Observada ya, gracias al desarrollo del microscopio la citología e histología de los sistemas nerviosos; Golgi defendía la teoría reticular, por la cuál el tejido neuronal formaría un sincitio; una maraña de cables interconectados sin discontinuidades.

Ramón y Cajal amparaba la teoría neuronal; que sostenía que las neuronas presentarían espacios discontinuos entre ellas, de esta forma podrían modular la comunicación.

El perfeccionamiento de la fotografía y tinciones con sales de plata dieron victoria a la teoría neuronal, permitiendo demostrar la existencia de las sinapsis en tejidos embrionarios. Este nuevo paradigma, abrió el camino para consideraciones posteriores: sinapsis y conos axonales podrían actuar como operadores lógicos. Unidades modulares que,

en una superestructura, pueden dar emergencia a sistemas complejos; de forma similar al proceso por el cual millones de operadores lógicos formados por transistores dan origen al sistema operativo de su teléfono móvil.

Entre ésta y muchas otras especulaciones, las confirmaciones y refutaciones neurocientíficas han estado siempre al borde del límite tecnológico, esperando paso a paso, permiso para medir y avanzar.

En julio de 2017, es presentado NeuBTracker, un nuevo sistema de medición desarrollado por la Universidad Técnica de Munich, que permite medir la señalización sináptica de poblaciones neuronales específicas en un pequeño vertebrado nadando libremente, es decir, sin necesidad de inmovilizarlo.

La base que rige los comportamientos neuroconductuales, podría ser interpretada si fuese posible medir cómo y cuándo se activa cada neurona del sistema en ultra cámara lenta, es decir, con alta resolución temporoespacial.

A pesar de los increíbles avances hasta la fecha en busca de este objetivo, una de las mayores limitaciones ha sido que los seres vivos estudiados deben ser inmovilizados para observarlos.

Esto altera el fin último de lo que pretendemos comprender: como funcionan los sistemas nerviosos sin perturbaciones artificiales. NeuBTracker permite

<sup>1</sup> Médico Anestesiólogo Hospital Español, La Plata; Hospital Posadas, Buenos Aires; Hospital Pedro Elizalde, Buenos Aires, Argentina.

Fecha de recepción: 15 de marzo de 2018

Fecha de aceptación: 23 de marzo de 2018

### ORCID

<https://orcid.org/0000-0003-4380-9400>

Correspondencia:

Roberto Orofino

Email: roberto.orofino@gmail.com

observar y medir eliminando la necesidad utilizar medios mecánicos, sedación o parálisis.

### **Funciona a través del acople de dos subsistemas**

**Seguimiento Dinámico de Objetivos:** Es un sistema robótico de enfoque de objetivos móviles, por el cual cámaras de alta definición provistas de sensores que muestrean fotogramas en alta velocidad pueden seguir y enfocar objetivos que se mueven muy rápido, manteniéndolos perfectamente en el centro de la imagen permitiendo su postprocesado y análisis. Para lograr esto, se cuenta con dos espejos perpendiculares, denominados “espejos sacádicos” por su similitud funcional con los movimientos oculares. Estos espejos van montados sobre motores galvanométricos de altísima precisión en el control de su aceleración. Es destacable la investigación aplicada al desarrollo de software para superar limitaciones físicas que se presentan; como el control de la inercia de los espejos, que genera vibraciones productoras de desenfoques durante el movimiento. Desde 2012, la Universidad de Tokio lidera el desarrollo de estos sistemas.

**Indicadores Fluorescentes Codificados Genéticamente:** Consisten en moléculas que fluorescen ante la excitación con luz de una frecuencia determinada. Al quelar calcio, se producen cambios conformacionales en el interior de estas proteínas que cambian la intensidad con la cuál fluorescen ante la irradiación electromagnética. Suelen utilizarse moléculas de troponina C o calmodulina fusionada con algún fluoróforo.

La actividad neuronal se mide detectando las variaciones de intensidad de fluorescencia que se producen cuando aumenta la concentración de calcio intracelular.

A través de diversos vectores, se produce la transfección: la introducción de material genético externo,

a una línea celular específica. Se logra así, expresar estos indicadores fluorescentes en un determinado subtipo neuronal.

Esta nueva metodología se ha presentado recientemente aprovechando la transparencia de larvas del pez cebra (*Danio rerio*).

Presenta un avance mayor, ya que permite medir de forma no invasiva la actividad de grupos neuronales específicos en diversas circunstancias, como actividad espontánea del animal, respuesta a estímulos metabólicos y drogas (administrados en la solución en donde nadan). La alta precisión del sistema de espejos puede aplicarse para fotoestimular mediante un láser la cabeza del organismo, permitiendo estudiar conductas de reorientación e integración sensoriomotora.

Un aspecto notable de NeuBTracker, es que se trata de una iniciativa Open Source. Los códigos fuente del software y blueprints (planos para desarrollar el hardware) se encuentran disponibles gratis para que los investigadores puedan utilizarlos y modificarlos sin restricciones impuestas por las licencias. Un aspecto interesante socialmente, en tiempos donde el debate entre publicaciones Open Access versus los clásicos Subscription Journals es un tema candente.

NeuBTracker permite filmar como destellan las neuronas de un organismo comportándose libremente, sin restricciones. Puede anticiparse que el próximo paso, sea la integración con técnicas optogenéticas, prometiendo ser una herramienta fundamental para explicar los mecanismos neurodinámicos por los cuales su sistema nervioso puede leer e interpretar este texto.

### **Si le resultó interesante:**

<http://neubtracker.org> (Official Website)

<http://rdcu.be/FKqy> (Paper PDF)

<https://www.youtube.com/watch?v=qn5YQVvW-hQ> (Dynamic Target Tracking)

<https://www.youtube.com/watch?v=eKkaYDToauQ> (Neural Activity Imaging)

### **Referencias**

1. Panagiotis Symvoulidis, Antonella Lauri, Anca Stefanoiu, Michele Cappelletta, Steffen Schneider, Hongbo Jia, Anja Stelzl, Maximilian Koch, Carlos Cruz Pérez, Ahne Myklatun, Sabine Renninger, Andriy Chmyrov, Tobias Lasser, Wolfgang Wurst, Vasilis Ntziachristos, Gil G Westmeyer. NeuBTracker-imaging neurobehavioral dynamics in freely behaving fish. *Nature Methods*, 2017; DOI: 10.1038/NMETH.4459
2. Hayakawa, T., Watanabe, T., Senoo, T., Ishikawa, M. Gain-compensation Methodology for a Sinusoidal Scan of a Galvanometer Mirror in Proportional-Integral-Differential Control Using Pre-emphasis Techniques. *J. Vis. Exp.* (122), e55431, 2017; DOI: 10.3791/55431
3. Pérez Koldenkova, V., and Nagai, T. (2013). Genetically encoded Ca(2+) indicators: properties and evaluation. *Biochim. Biophys. Acta* 1833, 1787-1797. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2013.01.011