

Automatização de experimento com ratos utilizando ondulações com optogenética

Luan Rizzetto¹

¹Instituto Internacional de Neuroengenharia - Edmond Lily Safra, Macaíba, RN, Brasil

Optogenetics has enabled numerous possibilities within neuroscience. Advances in neurodegenerative diseases such as Parkinson's and Alzheimer's are already a reality, as well as the improvement in relation to memory. The intention of this article is to create an automation of the labyrinth test, in which it uses optogenetics to improve memory according to the ripples of the acute waves that occur in the hippocampus.

Index Terms—Optogenetic, ripple, automation, experimentation

I. INTRODUCTION

A Optogenética é a combinação entre métodos genéticos e ópticos para alcançar ganhos ou perdas de funções específicas de células do tecido vivo.¹ O termo óptogenética foi utilizado pela primeira vez por Karl Deisseroth, em meados de 2005, na Universidade de Stanford. A técnica permite o controle de neurônios geneticamente modificados através de métodos ópticos.² Primeiramente, é introduzido um vírus ao tecido nervoso com DNA alterado.³ O vírus possui rodopsinas (ChR2), que são proteínas fotorreceptoras capazes de serem estimuladas pela luz, e assim, quando determinado comprimento de luz, implicado entre 470 a 906nm⁴, incide sobre a região, os canais por onde passam íons de sódio, potássio, cálcio e hidrogênio podem se abrir ou fechar, alterando o comportamento natural. [Fig 1] A optogenética tem revolucionado a neurociência, provendo avanços significativos em doenças neurodegenerativas, como Parkinson⁵ e Alzheimer⁶.

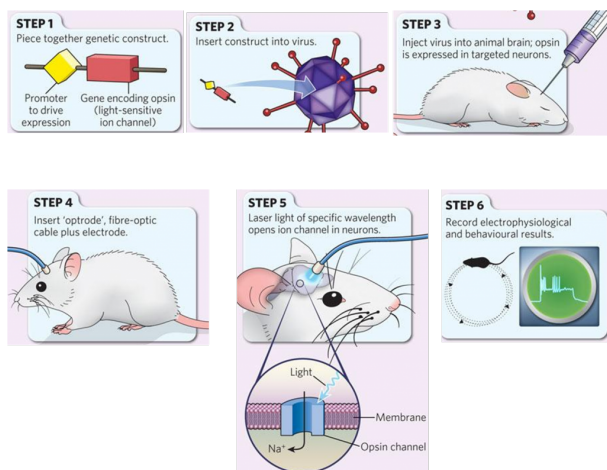


Fig. 1: 1) Construção genética entre o promotor para conduzir a expressão e gene que codifica opsina. 2) Inserção da construção em um vírus. 3) Introdução do vírus no cérebro do animal. 4) Implante do eletrodo. 5) Ativação da luz durante os experimentos. 6) Obtenção dos resultados.

A. Memória

No âmbito da memória, pode-se dizer que a optogenética tem muita influência em experimentos relacionados. Algumas ondulações de ondas agudas, que ocorrem no hipocampo, são consideradas mecanismos essenciais para o planejamento de ações e o firmamento da memória no cérebro.⁷ As oscilações de ondas agudas são um padrão oscilatório rápido de curta duração (140 a 200 Hz) do potencial de campo local (LFP) na camada piramidal CA1.⁷ Estudos apontam que a exposição a luz durante essas ondulações, utilizando a optogenética, conseguem prolongar a duração dessas ondas agudas, e com isso, é possível notar uma melhora na memória. [Fig 2]

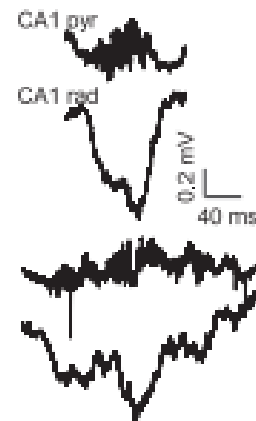


Fig. 2: Diferença entre uma ondulação de onda aguda sem prolongamento com uma onda com prolongamento ativado pela óptogenética.

B. Experimento e testes

O experimento consiste em três grupos de ratos, sendo cinco sem estimulação, cinco com estimulação prolongada e cinco com estimulação prolongada com um delay randômico (400ms a 1000ms). O experimento foi feito em dez dias, duas sessões para cada rato por dia e cada sessão com duração de 30 min. Foram realizados dois tipos de testes no labirinto, sendo que no primeiro era necessário que o rato saísse de um dos lados

left to center (inbound) center to right (outbound) right to center (inbound) center to left (outbound)

● reward ■ 20 s delay

II. MATERIAIS E MÉTODOS

II. MATERIAIS E MÉTODOS

```
C:\Windows\py.exe
Em quanto tempo cada sessão? 30
ETAPA COM ESTÍMULO PROLONGADO
Ondulação aconteceu? 1
Quanto animais farão parte da etapa com estímulo prolongado? 5
Em quantos dias será feito o teste? 10
Em quantas sessões serão feitas por dia? 2
Em quanto tempo cada sessão? 30
Qual a intensidade do LED azul? (em %) 100
LED ON 100 %
ETAPA COM ATRASO DE ESTÍMULO
Ondulação aconteceu? 1
Quanto animais farão parte da etapa com atraso de estímulo? 5
Em quantos dias será feito o teste? 10
Em quantas sessões serão feitas por dia? 2
Em quanto tempo cada sessão? 30
Qual a intensidade do LED azul? (em %) 100
LED ON 100 %
Rato 0 sessão 0 SEM ESTÍMULO
Entre com o braço do labirinto no qual o rato se dirigiu. (0 para esquerdo e 1 para direito) 1
Teste Outbound.
Recompensa liberada.
Rato 0 sessão 1 SEM ESTÍMULO
Entre com o braço do labirinto no qual o rato se dirigiu. (0 para esquerdo e 1 para direito) 0
Teste Outbound.
Recompensa liberada.
Rato 1 sessão 0 SEM ESTÍMULO
Entre com o braço do labirinto no qual o rato se dirigiu. (0 para esquerdo e 1 para direito) 1
Teste Outbound.
Recompensa liberada
```

dadosdEstimulo.txt - Bloco de Notas

Arquivo Editar Formatar Exibir Ajuda

Dados com estímulo atrasado.

Quantidade de animais:

5

Numero de dias de teste:

10

Numero de sessoes feitas:

2

Tempo de cada sessao feita:

30

Intensidade do LED azul:

100

Tempo de atraso:

0.47700000000000004

Recompensas:

10

Fig. 5: Dados gravados em arquivos do tipo texto.⁷

III. CONCLUSÃO

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

REFERENCES

REFERENCES

- [1] Deisseroth, K. (2010). Optogenetics. *Nature Methods*, 8(1), 26–29. doi:10.1038/nmeth.f.324
- [2] Deisseroth, K., Feng, G., Majewska, A. K., Miesenböck, G., Ting, A., Schnitzer, M. J. (2006). Next-Generation Optical Technologies for Illuminating Genetically Targeted Brain Circuits. *Journal of Neuroscience*, 26(41), 10380–10386. doi:10.1523/jneurosci.3863-06.2006
- [3] Liu, X., Tonegawa, S. (2010). Optogenetics 3.0. *Cell*, 141(1), 22–24. doi:10.1016/j.cell.2010.03.019
- [4] Andrasfalvy, B. K., Zemelman, B. V., Tang, J., Vaziri, A. (2010). Two-photon single-cell optogenetic control of neuronal activity by sculpted light. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(26), 11981–11986. doi:10.1073/pnas.1006620107
- [5] Viana Magno, L. A., Tenza-Ferrer, H., Collodetti, M., Felipe Guimarães Aguiar, M., Paula Carneiro Rodrigues, A., Souza da Silva, R., ... Aurélio Romano-Silva, M. (2019). Optogenetic stimulation of the M2 cortex reverts motor dysfunction in a mouse model of Parkinson's Disease. *The Journal of Neuroscience*, 2277–18. doi:10.1523/jneurosci.2277-18.2019

- [6] Roy, D. S., Arons, A., Mitchell, T. I., Pignatelli, M., Ryan, T. J., Tonegawa, S. (2016). Memory retrieval by activating engram cells in mouse models of early Alzheimer's disease. *Nature*, 531(7595), 508–512. doi:10.1038/nature17172
- [7] Fernández-Ruiz, A., Oliva, A., Fermino de Oliveira, E., Rocha-Almeida, F., Tingley, D., Buzsáki, G. (2019). Long-duration hippocampal sharp wave ripples improve memory. *Science*, 364(6445), 1082–1086. doi:10.1126/science.aax0758