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

Optogenética é a combinação entre métodos genéticos e ópticos para alcançar ganhos ou perdas de funções específicas de células do tecido vivo. 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. Primeiramente, é introduzido um vírus ao tecido nervoso com DNA alterado. 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.

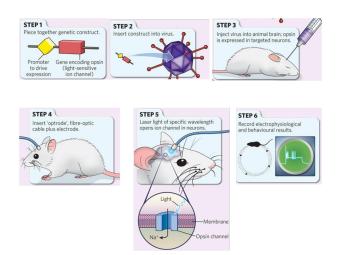


Fig. 1: 1) Construção genética entre o promotor para conduzir a expressão e gene que codifica opsina. 2) Inserção da construção em um vírus. 3) Introdução do vírus no cérebro do animal. 4) Implante do eletrodo. 5) Ativação da luz durante os experimentos. 6) Obtenção dos resultados.

A. Memória

No âmbito da memória, pode-se dizer que a optogenética tem muita influência em experimêntos 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. 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. 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]

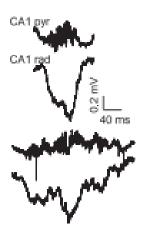


Fig. 2: Diferença entre uma ondulação de onda aguda sem prolongamento com uma onda com prolongamento ativado pela óptogenética.

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

do labirinto até o centro do mesmo. No segundo, o animal aguardava por cerca de vinte segundos no centro do labirinto, e seu próximo objetivo era ir para a extremidade contrária do teste anterior. [Fig 3]

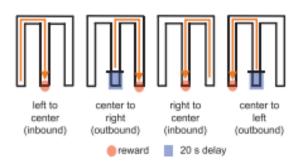


Fig. 3: Fases do teste realizado.⁷

II. MATERIAIS E MÉTODOS

Foi utilzado os conhecimentos adquiridos durante a disciplina de Fundamentos de Programação e Desenvolvimento de Projetos aplicados a Neuroengenharia para a automatização do experimento feito. Aplicando a linguagem Python, foram utilizadas entrada de dados, estruturas de decisão, estruturas de repetição, funções, classes, bibliotecas adicionais e manipulação de arquivos para a gravação dos dados gerados. Os dados de entrada foram fornecidos, sendo eles: Quantidade de pacientes, quantidade de dias do teste, quantas sessões por dia, quanto tempo em cada sessão e se o LED será ligado ou não. Assim, é feito o processamento dos dados, utilizando lógica simular as decisões dos ratos em cada sessão do experimento, e por fim, a criação de gráficos demonstrando o desempenho dos ratos, e também a gravação dos dados gerados em arquivos do tipo texto.

```
Es quanto tempo cada sessão 70
Erravo COM ESTÍMULO PROLOMGIODO
Dodulação aconteceu? 1
Quantos animais farão parte da etapa com estímulo prolongado? 5
Em quantos adias será feito o teste? 10
Em quantos adias será feito o teste? 10
Em quanto tempo cada sessão? 30
Qual a intensidade do LED acua? (em X) 100
ETRAV COM ATRASO DE ESTÍMULO
Dodulação aconteceu? 1
Quantos animais farão parte da etapa com atraso de estímulo? 5
Em quantos alias será feito o teste? 10
Em quantos alias será feito o teste? 10
Em quantos dias será feito o teste? 10
Em quantos alias será feito o teste? 10
Em quantas sessões serão feitas por dia? 2
Em quantos dias será feito o teste? 10
Em quantas sessões serão feitas por dia? 2
Em quantos despo cada sessão? 30
Qual a intensidade do LED azul? (em X) 100
Em quantas sessões serão feitas por dia? 2
Em quantos despo cada sessão? 30
Qual a intensidade do LED azul? (em X) 100
Em quantos despo cada sessão? 30
Ruan despo cada sessão cada despo cada sessão despo cada sessão despo cada sessão despo cada sessão despo despo cada sessão despo cada se cada despo cada despo
```

Fig. 4: Programa em funcionamento.7

```
Arquivo Editar Formatar Exibir Ajuda
Dados com estimulo 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:
0.477000000000000004
Recompensas:
```

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

III. CONCLUSÃO

O projeto teve seu objetivo alcançado, que era a programação de um código baseado em um artigo relacionado com o projeto que será realizado durante o mestrado. Foi notado uma grande evolução no quesito lógica de programação. Algumas melhorias para trabalhos futuros, seriam: Melhorar lógica do labirinto, melhorar dados para obtenção dos gráficos e criar um relatório mais completo, com dados de cada um dos ratos separadamente.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente ao professor André Dantas, por toda paciência e empenho ao ensinar essa matéria que, ao mesmo tempo que básica, pode ser muito complexa à medida que os assuntos vão avançando. O professor mostrou muito domínio dos assuntos, e muita maestria em passalos adiante. Também gostaria de agradecer ao Instituto Internacional de Neurociências Edmond Lily Safra, por toda infraestrutura e suporte.

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., Miesenbock, 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