

Laboratorio de Neurofisiología celular y de sistemas (Claudio Pérez Leighton)

Nicolás Duarte

Agenda

Pregunta de investigación central

- ▶ Vínculo entre función neural y comportamiento
- ▶ Variable independiente es de carácter 'biológico'
- ▶ Variable dependiente de carácter 'comportamiento'
- ▶ o viceversa
- ▶ Existen múltiples métodos de investigación

Inhibir o extinguir una función neuronal

- ▶ Estudios de lesiones
- ▶ Estimulación magnética/eléctrica
- ▶ Manipulación de neuro-transmisores
- ▶ Entre otras

Aumentar una función neuronal

- ▶ Estimulación eléctrica
- ▶ Optogenetica
- ▶ facilitación de la actividad neuronal

Observando el vínculo

En el laboratorio se observan múltiples 'direccionalidades' derivadas de la pregunta central

Mi presentación evaluará 3 de ellas y sus respectivas técnicas

- ▶ Aumentar/inhibir la función neural y observar cambios en el comportamiento
- ▶ Definir, dado un fenotipo de comportamiento, la dinámica neuronal
- ▶ Definir variables contextuales que modulan el comportamiento, tener un fenotipo de comportamiento dado y observar la dinámica neuronal

El laboratorio en específico

- ▶ La pregunta en general, como se mencionó anteriormente, es el vínculo entre función neuronal y comportamiento
- ▶ La función neuronal de interés específico es la orexina
- ▶ Las medidas de comportamiento corresponden a las relacionadas con el balance calorico
 - ▶ Actividad física espontánea
 - ▶ Comportamiento de ingesta
 - ▶ Gasto energetico
 - ▶ Entre otras relacionadas
- ▶ Adicionalmente la pregunta incluye modulación del vínculo comportamiento-función-neuronal por elementos contextuales

Técnicas asociadas a manipulación de la función neuronal y observar cambios en el comportamiento

La orexina es un neuropeptido, para el cual se ha vinculado la función de regulación de 'arousal', apetito, actividad física espontánea, actividad exploratoria, entre otras (Mavanji et al., 2015)

Mavanji et al. (2015) estudiaron la actividad del sistema neuronal de orexina en el área ventrolateral pre-optica para el control del gasto energético

Técnicas asociadas a manipulación de la función neuronal y observar cambios en el comportamiento

- ▶ Manipulación de la función neuronal (variable independiente)
 - ▶ Inyección de orexina-A
 - ▶ Inyección de antagonista del receptor 2 de orexina (OX2R)
- ▶ Observar modificaciones en el comportamiento (variable dependiente)
 - ▶ Registro de los estados de comportamiento
 - ▶ NREM
 - ▶ REM
 - ▶ 'active wakefulness'
 - ▶ 'quiet wakefulness'
 - ▶ Registro de la actividad física espontanea

Técnicas asociadas a manipulación de la función neuronal y observar cambios en el comportamiento

EL problema acá es observar el efecto de la orexina-A (función neuronal) sobre los registros de comportamientos anteriormente mencionados, para ello, lógicamente, es necesario saber el estado de comportamiento presente

Determinación de estado de comportamiento bajo polisomnografía

- ▶ Se realiza implantación de un transmisor capaz de enviar señales con información de EEG y EMG
- ▶ Se realiza una transformada de Fourier a los datos obtenidos, utilizando un ancho de 'bin' determinado
- ▶ Se utilizad la banda delta, ya que es un marcador del 'sleep drive' (probabilidad de consumir el sueño en cualquier punto dado)
- ▶ Se evaluan el movimiento ocular rápido
- ▶ Entre otras medidas
- ▶ La información anterior es agregada y presentada a un evaluador para determinar el estado de comportamiento presente, dada dicha información

Para revisión de criterios especificos ver (Mavanji et al., 2010)

Medición de la actividad física espontanea

La actividad física espontanea (SPA) es aquél tipo de actividad no-estructurada de baja intensidad (estar de pie, movimiento de manos y pies, deambular, etc) (Teske et al., 2014)

- ▶ Para su medición se ocupan cajas especialmente diseñadas con haces infrarojos en los ejes x e y
- ▶ El eje z, para ratones, se ubica 2.5 cm por sobre el suelo y permite medir elevaciones del animal
- ▶ Gracias a lo anterior se puede medir el tiempo deambulando y tiempo 'de pie'
- ▶ Ambas medición dan un índice que estima el SPA

Medición de la actividad física espontánea

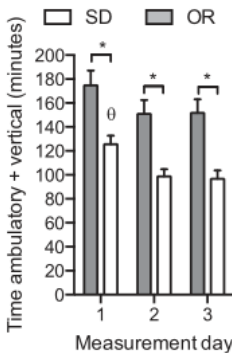


Figure 1: Comparación de grupos utilizando SPA

Comparación mediante 't-test' del SPA para ratones 'resistentes a la obesidad' (OR) y ratones Sprague-Dawley (SD)

Segmentación de la actividad física espontanea

Una de los problemas que podría surgir para evaluar la SPA, es que las medidas de comportamiento sean redundantes y por ende no se este registrando apropiadamente la señal, por ejemplo, si la deambulación y pararse verticalmente es redundante o son medidas complementarias

Segmentación de la actividad física espontanea

- ▶ Para lo anterior se puede utilizar una técnica de reducción de dimensionalidad tal como 'principal component analysis' (PCA)
- ▶ PCA nos entrega 'componentes' correspondientes a fuentes de variabilidad no-correlacionadas
- ▶ El primer componente da cuenta de la mayor cantidad de variabilidad de los datos, el segundo de la segunda mayor cantidad y así
- ▶ Adicionalmente, esto nos permite calcular los 'factor loadings':
 - ▶ Correlación entre las variables originales y cada uno de los componentes
 - ▶ Porcentaje de la varianza en la variable original explicado por un componente determinado
- ▶ Con ellos podemos determinar si distintos 'comportamientos' provienen de la misma o distinta fuente de variabilidad

Ejemplo de hallazgo con la técnica anterior

	Principal Component 1	Principal Component 2	Principal Component 3
Eigenvalue	4.55	1.07	0.85
Relative Importance	0.65	0.15	0.12
Cumulative Proportion	0.65	0.80	0.92
SPA Measurement			
Distance travelled	0.457	0.043	0.024
Ambulatory Time	0.457	0.058	0.006
Ambulatory Counts	0.455	0.045	0.025
Ambulatory Episodes	0.417	0.104	0.084
Vertical Time	0.143	-0.790	-0.032
Vertical Counts	0.062	-0.596	-0.785
Resting Time	-0.417	-0.060	-0.032

Figure 2: Análisis con PCA

Se observan las correlaciones de cada variable original con cada componente. Las correlaciones para medidas de 'deambulaci3n' son altas para el componente 1, mientras que las de 'verticalidad' correlacionan sustancialmente con los componentes 2 y 3 (Teske et al., 2014)

Técnicas dónde, dado un fenotipo de comportamiento, se observa la dinámica neuronal

En este tipo de problemas se cuenta con algún fenotipo de comportamiento, por ejemplo, ratones de altos y bajos niveles de actividad. Y luego se observa la modificación del comportamiento (SPA) por inyección de orexina-A en diferentes áreas

Técnicas dónde, dado un fenotipo de comportamiento, se observa la estructura neuronal

PCR

Técnicas para evaluar interacción de elementos contextuales, comportamiento y función neuronal

Desarrollo de preferencia

Conclusions

- Mavanji, V., Perez-Leighton, C. E., Kotz, C. M., Billington, C. J., Parthasarathy, S., Sinton, C. M., & Teske, J. A. (2015). Promotion of Wakefulness and Energy Expenditure by Orexin-A in the Ventrolateral Preoptic Area. *Sleep*, 38(9), 1361–1370. <https://doi.org/10.5665/sleep.4970>
- Mavanji, V., Teske, J. A., Billington, C. J., & Kotz, C. M. (2010). Elevated sleep quality and orexin receptor mRNA in obesity-resistant rats. *International Journal of Obesity*, 34(11), 1576–1588. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.93>
- Teske, J. A., Perez-Leighton, C. E., Billington, C. J., & Kotz, C. M. (2014). Methodological considerations for measuring spontaneous physical activity in rodents. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 306(10), R714–R721. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00479.2013>