



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Manipulação optogenética do córtex pré-frontal e efeitos na memória de trabalho em ratos adultos
Autor	ANA PAULA MENEGOLLA
Orientador	EMILSE MARIA AGOSTINI MARTINI

Manipulação optogenética do córtex pré-frontal e efeitos na memória de trabalho em ratos adultos

Ana Paula Menegolla, Evelien Schut

Radboud Universiteit Nijmegen

Estudos apontam que o córtex pré-frontal está envolvido na memória de trabalho - lesões ou inativação do córtex pré-frontal comprometem o desempenho de primatas e roedores em tarefas comportamentais que avaliam memória de trabalho. Contudo, tais abordagens possuem limitações, e técnicas mais recentes, como a optogenética, são capazes de fornecer mais detalhes acerca desse processo. A optogenética consiste no uso de luz para o controle da atividade de neurônios específicos em animais que se movem livremente. Os neurônios são modificados geneticamente para expressar opsinas, proteínas transmembrana fotossensíveis que promovem alterações no potencial de membrana celular. A opsina channelrhodopsin (ChR2) promove a atividade de neurônios, enquanto halorhodopsin (NpHR 3.0) inibe. Por possuir alta precisão temporal e espacial, a optogenética possibilita um estudo mais refinado sobre o funcionamento de circuitos e estruturas do sistema nervoso durante processos cognitivos em comparação com abordagens clássicas. O objetivo deste projeto foi utilizar a optogenética com o intuito de compreender a contribuição do córtex pré-frontal para as distintas fases da memória de trabalho, silenciando ou estimulando essa estrutura durante etapas de uma tarefa de memória de trabalho espacial. Esperava-se que o silenciamento do córtex pré-frontal provocasse queda na performance dos animais.

Ratos Long Evans adultos foram submetidos a cirurgia para inoculação de vírus contendo os genes de ChR2 (n=1) ou NpHR 3.0 (n=3) e implantação de fibras ópticas no córtex pré-frontal. Os animais foram treinados em teste de alternância em um labirinto em T e, após atingirem critério de alto desempenho, o mesmo teste foi realizado enquanto luz constante (para ChR2 e NpHR 3.0) ou pulsos de 30 Hz (para ChR2) eram entregues durante as fases de codificação, manutenção ou recuperação da memória. Ao fim dos experimentos, os animais foram anestesiados com dose letal de pentobarbital e perfundidos com salina e paraformaldeído 4%. Imuno-histoquímica foi realizada para confirmar expressão de ChR2 e NpHR 3.0.

Estimulação de ChR2 por pulsos ou de NpHR 3.0 por luz constante não provocaram alteração no desempenho dos animais no teste de alternância. Entretanto, houve queda na performance do animal expressando ChR2 com o uso de luz constante durante as fases correspondentes a codificação e manutenção da memória. Apesar de haver fortes evidências, incluindo por estudos com optogenética, de que o córtex pré-frontal é importante para a memória de trabalho espacial, com o presente estudo não foi possível confirmá-las. Aplicação de luz constante sobre ChR2 não é um parâmetro correto de estimulação dessa opsina e possivelmente induziu um bloqueio de despolarização, promovendo um efeito inibitório, ao invés de excitatório. Alguns aspectos metodológicos podem ser alterados na tentativa de melhorar a técnica.