

Padronização da Técnica de Microinjeção Intracerebroventricular em Embriões de *Zebrafish*

Raphaela Soares Fonseca, Mônica Ryff Moreira Roca Vianna

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Biociências
Av. Ipiranga, 6681 - Partenon - Porto Alegre/RS - CEP: 90619-900

O teleósteo *Danio rerio*, mais comumente conhecido como *zebrafish*, oferece vantagens em relação ao estudo de aspectos específicos de seu desenvolvimento quando comparado a outros animais modelo. Técnicas de microinjeção em embriões e larvas de *zebrafish* é o método mais eficaz de introduzir DNA, RNA e proteínas, além de permitir o estabelecimento de recursos de pesquisa inovadores e extremamente vantajosos. Este projeto propõe o estabelecimento e validação do protocolo de microinjeção intracerebroventricular em embriões de *zebrafish*, adaptando este para a caracterização de um possível modelo para o estudo de doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer (DA).

Os animais utilizados no experimento foram obtidos através da reprodução de matrizes de nosso laboratório, previamente separadas e armazenados em uma estufa (BOD). Para a técnica de microinjeção intracerebroventricular, os animais que completaram 24 horas pós-fertilização tiveram seu córion removido e foram injetados intracerebroventricularmente com proteína β -amilóide (marcador da DA) nas concentrações de (2.5, 5.0, 10.0 e 50 μ M) e DMSO (controle de diluição da droga) na concentração de 1%, adicionalmente foi realizado um grupo controle que apenas teve seu córion removido. Foi realizado o monitoramento da embriotoxicidade até 5 dias pós-fertilização (dpf), além de análise do comportamento exploratório e aversivo aos 5dpf.

Os animais tratados com proteína β -amilóide tiveram uma taxa de sobrevivência reduzida em relação ao controle. Com relação aos controles injetados somente com DMSO a taxa de sobrevivência foi de 93% em relação aos animais não injetados. Com relação à avaliação do comportamento exploratório e aversivo, foi observado que os animais injetados com até 10 μ M de proteína β -Amilóide tiveram sua capacidade exploratória alterada e também foi observada uma alteração na tarefa cognitiva que avalia comportamento aversivo, sugerindo que o modelo seja adequado para avaliação de parâmetros associados a doenças neurodegenerativas como a DA.

Os resultados preliminares deste projeto incluem a padronização de uma técnica inovadora que pode ser aplicada para diferentes drogas e agentes que possam agir diretamente no sistema nervoso. Esta técnica facilita a administração de diferentes agentes, que por suas características químicas ou sítio de ação pretendido não poderiam ser administrados diretamente no meio de desenvolvimento destes animais, ampliando assim a gama de agentes que podem ser testados utilizando este modelo animal.

Palavras-chave: zebrafish; Alzheimer; intracerebroventricular.