Estabelecimento de técnicas de microinjeção em embriões e larvas de *zebrafish*

Raphaela Soares Fonseca[1], Cristiana Hackmann Silveira, Natália Eltz Silva, Laura Roesler Nery, Mônica Ryff Moreira Roca Vianna[1]

[1]*Faculdade de Biociências, PUCRS*

Resumo

O *zebrafish* (*Danio rerio*), é um peixe teleósteo que oferece vantagens em relação à aspectos específicos de seu desenvolvimento comparado a outros animais modelos. A técnica de microinjeção em embriões e larvas de *zebrafish* é o método mais eficaz de introduzir DNA, RNA e proteínas, além de ser inovador e extremamente vantajoso neste organismo. Este projeto, que compõe um projeto que visa caracterizar modelos de doenças neurodegenerativas como a Doença Alzheimer (DA), propõe o estabelecimento e validação dos protocolos de microinjeção de sondas morfolino e RNAm em embriões e de microinjeção intracerebroventricular em larvas de zebrafish.

Os animais utilizados no experimento foram obtidos através da reprodução de matrizes 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 na região intracerebroventricular com proteína β-amilóide (marcador da DA) nas concentrações de (2.5, 5.0, 10.0 e 50µM) 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, análise do comportamento exploratório e aversivo.

Os animais tratados proteína ß-amilóide tiveram um alta 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 10µM de proteína ß-Amilóide não tiveram sua capacidade exploratória alterada, mas foi observada uma alteração em 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.