



ESTABELECIMENTO DE TÉCNICAS DE MICROINJEÇÃO EM EMBRIÕES DE *ZEBRAFISH* E PADRONIZAÇÃO DE INJEÇÕES INTRACEREBRAIS

Raphaella Soares Fonseca¹, Cristiana Hackmann Silveira, Natália Eltz Silva, Laura Roesler Nery, Mônica Ryff Moreira Roca Vianna (orientador)

¹ *ZebLab e Laboratório de Biologia e Desenvolvimento do Sistema Nervoso, Faculdade de Biociências, PUCRS*

Resumo

O *Danio rerio*, mundialmente conhecido como *zebrafish*, é um teleosteo que oferece vantagens em relação a diversos aspectos experimentais incluindo desenvolvimento, modelos de doenças e estudos farmacológicos. 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 propõe o estabelecimento e validação do protocolo de microinjeção intracerebroventricular, e seu uso subsequente em modelos para o estudo de doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer (DA), e avaliação do efeito de fármacos neuroprotetores candidatos.

Os animais utilizados no experimento foram obtidos através da reprodução de matrizes *wild-type* de nosso biotério. Após a coleta dos embriões estes foram divididos em grupos experimentais incluindo os seguintes tratamentos durante os primeiros 5 dias pós-fertilização (dpf): Azul de Metileno nas concentrações de 0,5, 5,0 e 50,0 μM em água e 0 (controle). Para a técnica de microinjeção, os animais que completaram 24 horas pós-fertilização (hpf) tiveram seu córion removido e foram injetados na região cerebroventricular com proteína β -amilóide 10.0 μM em 1%DMSO ou apenas veículo (1%DMSO). Um grupo adicional sem injeção foi incluído. Foi realizado também o monitoramento da sobrevivência e embriotoxicidade diariamente até os 5 dpf e ao completarem esta idade o comportamento exploratório e aversivo das larvas foi avaliado.

Quando a sobrevivência dos animais dos diferentes grupos foi comparada, não houve diferença significativa entre os animais injetados com a proteína β -amilóide, um

marcador da DA, em relação aos animais controle injetados com veículo ou não injetados. Os animais tratados com Azul de Metileno, candidato a agente neuroprotetor por diversos autores, tiveram uma sobrevivência reduzida comparado ao grupo controle, entretanto o grupo tratado com Azul de Metileno 5.0 μM não apresentou alteração no comportamento exploratório e aversivo, sendo então esta a dose escolhida para o tratamento com o agente neuroprotetor.

Os resultados preliminares deste projeto incluem a realização da curva de dose de um fármaco neuroprotetor, o qual será administrado em embriões conjuntamente à proteína β -amilóide, e a padronização de uma técnica inovadora que pode ser aplicada para diferentes drogas e agentes que possam agir diretamente no sistema nervoso.