

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE JOAQUIM VENÂNCIO
LABORATÓRIO DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL EM TÉCNICAS LABORATORIAIS
EM SAÚDE

Rogério B. N. de Almeida

A OPTOGENÉTICA E SUA UTILIZAÇÃO NA NEUROCIÊNCIA

Rio de Janeiro

2014

Rogério B. N. de Almeida

A OPTOGENÉTICA E SUA UTILIZAÇÃO NA NEUROCIÊNCIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio como requisito parcial para aprovação no curso técnico de nível médio em saúde com habilitação em Análises Clínicas.

Orientador: Daniel Santos Souza

Rio de Janeiro

2014

Rogério B. N. de Almeida

A OPTOGENÉTICA E SUA UTILIZAÇÃO NA NEUROCIÊNCIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio como requisito parcial para aprovação no curso técnico de nível médio em saúde com habilitação em Análises Clínicas.

Aprovado em 20/03/2014

BANCA EXAMINADORA

Daniel Santos Souza – Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio

Ray Luiza Muller – Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio

*Dedico este Trabalho à série de casos que me
levaram até a politécnica.*

AGRADECIMENTOS

À minha família que me ajudou sempre que precisei e me apoiou em todas as minhas escolhas.

Ao meu irmão, Kleber, que mesmo inconscientemente foi de grande importância na escolha desse tema, e também foi de grande ajuda no processo de pesquisa.

Aos amigos da Politécnica, que foram mais do que uma família pra mim.

Ao Caio, ao Lucas e ao Raphael, que foram ótima companhia durante esses anos e contribuíram para vários momentos importantes da minha vida.

Ao Abner e ao "Feijão", por terem criado planos e mais planos para o futuro, o que sempre me incentivou bastante.

Ao Matheus Ribeiro, por ter tornado as minhas manhãs no estágio muito mais divertidas e me ajudado sempre que precisei.

À Juliana e à Yasmim, que traziam de volta minha animação com as conversas mais engraçadas e divertidas que já tive.

À Daniela, que me acompanhou nos primeiros anos e mesmo estando mais afastada neste último ano continuou sendo uma ótima amiga, e me ajudando sempre que preciso.

À Fernanda e à Manuela, que apesar de todos os desentendimentos, foram grandes amigas e estiveram dispostas a me ajudar sempre que preciso.

À Desiree e à Ludimila, minhas "superiores", que me suportaram durante todo o ensino médio e me suportarão por mais muito tempo; Que estiveram presentes nos momentos mais importantes desses 3 anos; Que me cobraram todas as minhas obrigações e estiveram o tempo todo do meu lado; Sem as quais nada disso seria possível.

Ao Flávio Paixão, que participou nos eventos do Cnpq como avaliador, e trouxe observações que ajudaram no caminho de elaboração do projeto.

À Ray Luiza Muller e ao Marcos Marques, que foram da banca examinadora do projeto e também me ajudaram a traçar o caminho que este trabalho tomou.

Ao Daniel Santos Souza, meu orientador, que fez de todo o possível para me ajudar no desenvolvimento deste projeto mesmo que eu não tenha sido muito presente;

Ao Karl Deisseroth, sem o qual seria realmente impossível a realização deste trabalho.

RESUMO

Optogenética é uma técnica de neuromodulação empregada na neurociência que usa uma combinação de técnicas de óptica e genética para controlar e monitorar as atividades dos neurônios individuais em tecidos vivos, e medir com precisão os efeitos dessas manipulações em tempo real.

Os principais reagentes utilizados na optogenética são proteínas sensíveis à luz. O controle neuronal preciso é obtido usando os principais atuadores da optogenéticas, como: canalrodopsina, halorodopsina e archaerhodopsin.

As canalrodopsinas funcionam como canais iônicos sensíveis a luz. Elas servem como fotoreceptores sensoriais em algas unicelulares, controlando a fototaxia: movimento em resposta à luz. As halorodopsinas são opsinas, sensíveis a luz que funcionam como canais iônicos de cloro . E as archaerodopsinas transportam prótons para fora da célula na mesma bactéria.

A técnica consiste na expressão induzida dessas proteínas por neurônios específicos, que se tornam assim sensíveis à luz. Esses neurônios então são estimulados através de um cabo de fibra ótica, e são obtidos assim diversos resultados, variando de acordo com a proteína expressada, o tempo da estimulação e com o grupo de neurônios escolhido para a pesquisa.

A optogenética expandiu diversas fronteiras da ciência, facilitou o mapeamento do cérebro, e vem sendo utilizada agora em tratamento de doenças neurológicas e psiquiátricas também.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	9
2 – HISTÓRICO	11
3 – A TÉCNICA	15
4 – BENEFÍCIOS E POSSÍVEIS APLICAÇÕES	17
5 – CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS	21

1 – INTRODUÇÃO

O sistema nervoso, em especial o cérebro, sempre foi a parte do corpo humano mais misteriosa por ser de difícil acesso. Sempre foi difícil entender como esse sistema todo funcionava, como o cérebro seria capaz de comandar todas as funções do organismo e como esses comandos eram criados e reproduzidos. O sistema nervoso humano, além de ser o centro de nossas emoções, controla as funções orgânicas, e motoras do corpo e a interação deste com o ambiente, recebendo estímulos, interpretando-os e elaborando respostas a eles.

É composto pelo sistema nervoso central, e pelo sistema nervoso periférico: o primeiro, constituído de encéfalo e medula espinhal, é responsável por processar informações. O segundo, com nervos, gânglios e terminações nervosas, se encarrega pela condução dessas informações pelo corpo. Células especializadas, denominadas neurônios, são as principais responsáveis pelo recebimento e transporte de informações através da condução do impulso nervoso. Possui a capacidade de responder aos estímulos do meio, como a luz e o calor, por exemplo; através de alterações da diferença de potencial elétrico existente entre as superfícies interna e externa de sua membrana plasmática, se propagando ao longo da célula e de seus prolongamentos.

Com o avanço da neurociência, mais e mais interessados começaram a se aprofundar no assunto em busca dessas informações, para isso foram criadas diversas técnicas para o estudo do sistema nervoso, mesmo assim, ainda não sabemos como funciona o nosso cérebro perfeitamente, ainda é um mistério que vem sendo desvendado.

A optogenética foi desenvolvida com o intuito da manipulação do sistema nervoso, o que acabou trazendo grandes avanços, desde 2010, para a neurociência, que ganhou mais um meio de estudar esse sistema. Porém depois de criada, a técnica passa a ser estudada também por outros cientistas que decidiram tentar utilizá-la com outros intuítos, e não só o de ampliar o conhecimento para a neurociência.

A técnica consiste na combinação de dois campos da ciência, a genética e a óptica com a intenção de controlar eventos bem definidos no interior de células específicas do tecido vivo, a técnica é feita majoritariamente com células específicas do sistema nervoso. Ela inclui a descoberta e inserção em células de genes que conferem resposta a luz, assim como também inclui muitas tecnologias associadas a entrega de luz profunda em

organismos tão complexos como os mamíferos, que além de serem organismos complexos ainda tem de se movimentar livremente para que se consiga avaliar as leituras específicas, ou os efeitos provocados pelo comando óptico.

Com a capacidade de controlar os comportamentos celulares usando a luz e proteínas, que geneticamente modificadas se tornam sensíveis a luz, a optogenética abriu novas portas para a experimentação através dos campos biológicos.

Nos últimos anos, a optogenética se tornou-se um grande campo de pesquisa devido aos grandes avanços tecnológicos que possibilitaram essa manipulação direta do cérebro através da fibra ótica, que permitiu a utilização de cabos, que emitem luz, com o raio menor do que o raio de um fio de cabelo.

A estimulação direta dos neurônios já era feita antes da optogenética, mas antes a estimulação era feita através de impulsos elétricos o que não dava especificidade ao processo, apenas ativando todos os neurônios envolvidos no processo, com a optogenética é possível a estimulação ou inibição de neurônios mais específicos.

A técnica foi utilizada também para ajudar a compreender como ocorrem algumas doenças neurológicas como o parkinson. Um grupo de cientistas realizou a técnica para tentar inibir a doença em ratos parkinsonianos e obtiveram sucesso no seu estudo.

Ela já foi utilizada em experimentos bem sucedidos para o controle de ansiedade o que poderá vir a possibilitar em breve o tratamento de alguns distúrbios psicológicos como as fobias que são controladas hoje em dia com drogas para a mediar a ansiedade do indivíduo.

O trabalho traz como principal objetivo compreender todo o processo da optogenética e dentro disso tentar também estudar os avanços que a optogenética proporcionou para todo o campo neurológico e analisar a utilização da optogenética em tratamentos psiquiátricos, como o controle da ansiedade, e o tratamento doenças como a doença de Parkinson.

A metodologia empregada durante o processo de produção da monografia será a revisão bibliográfica de livros e artigos. As fontes utilizadas são fontes primárias, como os artigos do criador da técnica, Karl Deisseroth, assim como também artigos de outros estudiosos que estudaram e também utilizaram da técnica pra outros tipos de estudos

O tema se mostra bastante relevante por ser um tema atual e além disso a optogenética está se tornando uma técnica muito importante para o avanço da área neurológica e está

trazendo o tratamento de doenças neurológicas, enquanto também existem poucos artigos no Brasil sobre a optogenética, existindo predominantemente artigos em inglês. Mesmo sendo uma técnica que vem crescendo muito a maioria dos artigos são provenientes dos Estados Unidos, onde a técnica nasceu.

2 – HISTÓRICO

O sistema nervoso sempre foi uma área muito difícil de ser estudada pois é um sistema muito complexo e de difícil acesso. Para que esses estudos possam ser realizados, vem sendo criadas, cada vez mais, novas técnicas, que facilitam essa investigação desse sistema que tão misterioso. Mas como nós podemos criar novas ferramentas para entender o funcionamento do cérebro?

Este processo de invenção de “neurotecnologias” é difícil, devido às complexas propriedades do cérebro: à sua inacessibilidade, heterogeneidade, fragilidade, à sua riqueza anatômica e à sua alta velocidade de operação. Assim, para que haja uma nova invenção “neurotecnológica” são necessários alguns acasos. Esse acaso pode ser otimizado até certo grau, no entanto, a pessoa tem de estar consciente das propriedades complexas do cérebro ao longo de todo o processo de invenção, desde a geração do conceito até os testes finais. Essa conscientização, é claro, não assegura que este caminho de inovação tecnológica seja rápido ou previsível, mas ele pode apoiar o processo dinâmico de ajuste contínuo de estratégias e reduzir o risco ao longo do caminho. (BOYDEN, 2011)

Existem vários tipos diferentes de neurônios no cérebro, que possuem diferentes morfologias, composições moleculares, “padrões de fiação” e que sofrem diferentes mudanças em estados patológicos. Novos tipos de neurônios e novas propriedades de tipos de neurônios já existentes estão sendo descobertas o tempo todo. Esta diversidade de neurônios é tão grande que contrasta com, digamos, os circuitos primitivos que fazem um chip de computador, que se dividem em uma parte relativamente pequena de classes, das quais as propriedades computacionais são totalmente compreendidas, já que estes são desenvolvidos por humanos. A fim de determinar como os diferentes tipos de neurônios no cérebro trabalham juntos para implementar as funções do cérebro, e para avaliar os papéis que estes conjuntos específicos de neurônios desempenham dentro dos circuitos neurais, seria idealmente possível controlar, estimulando ou acalmando a atividade dos neurônios

predefinidos, embutidas dentro uma rede neural intacta. Ao dirigir a atividade de um conjunto específico de neurônios, seria possível determinar quais os comportamentos, computações neurais, ou patologias esses neurônios foram capazes de causar. E silenciando a atividade de um conjunto específico de neurônios, seria possível determinar para quais as funções cerebrais, ou patologias, esses neurônios eram necessários.(BOYDEN, 2011)

Edward S. Boyden é um neurocientista do MIT Media Lab e um membro associado do Instituto McGovern para Pesquisa do Cérebro. Ele é reconhecido por seu trabalho com a optogenética, junto com Karl Desseiroth, professor de Bioengenharia e de Psiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade de Stanford, e criador da optogenética e de outras neurotecnologias.

Boyden e Desseiroth, em 2000, começam a pensar sistematicamente sobre melhores maneiras de controlar tipos de neurônios específicos no cérebro. Descargas ópticas de neurotransmissores com pulsos de laser ultravioleta já era um poderoso método para ativar os neurônios, devido à sua alta velocidade e precisão espacial, mas ainda não tinha sido adaptado a um grupo específico de neurônios, a um tipo específico, era uma técnica que atingia todos os neurônios da área de aplicação. Eles começaram a pensar no controle de canais iônicos através do magnetismo, mas não levaram a ideia a frente.

Tempo depois Boyden começou a estudar sobre as bombas de íons que eram ativadas pela luz naturalmente em sete proteínas transmembranares que contêm dentro de si um derivado da vitamina A, um cromóforo retinal, uma molécula com a capacidade de captura de luz.

Estas bombas de íons conduzidas através da luz soaram particularmente útil para ele: quando iluminados, estas proteínas, conhecidas como opsinas, translocam rapidamente íons específicos através das membranas das células em que são expressos. Opsinas haviam sido estudada desde a década de 1970 por causa de suas fascinantes propriedades biofísicas - essas moléculas sofrem rápidas e ricas alterações conformacionais durante o transporte dos íons e também por causa das idéias ecológicas que revelam como diferentes formas de vida usam a luz como fonte de energia ou sugestão sensorial. Bacteriorodopsinas, por exemplo, foram descobertas no início de 1970 no *archaeon Halobacterium salinarum*, bombeavam prótons para fora das células em resposta a luz verde. No final de 1970, a molécula relacionada alorodopsina, foi descoberta dentro da bomba de cloro, orientada à luz laranja, no mesmo

organismo, que vive em ambientes de alta salinidade, onde estas rodopsinas de transporte de íons contribuem para a bioenergia do organismo por bombear prótons pra fora, e cloro pra dentro das células em resposta à luz.

Se alguém fosse capaz de encontrar uma bacteriorodopsina ou halorodopsina que trabalhasse nos neurônios, que pudesse ser usada para bombear íons através das membranas neuronais em resposta à luz, conseguiríamos portanto, iniciar ou encerrar a atividade elétrica dos neurônios. Para que esta estratégia de trabalho, uma opsina teria de ser expressa, nos lípideos neuronais e funcionar neste ambiente iônico. Uma razão otimista para isso eram as bacteriorodopsinas que, com sucesso, tinham sido expressas em células eucariotas, tais como leveduras e ovócitos de rãs, e bombeado íons, em resposta à luz, nestes sistemas.

Em 2002, foi descoberta a canalrodopsina na colaboração de um artigo pioneiro do laboratório de Gero Miesenböck mostrou que a expressão genética de tres genes de uma *Drosophila* em neurônios resultou em neurônios que poderiam ser acionadas por luz, e salientou que a capacidade de ativar neurônios específicos com luz poderia servir como uma ferramenta para encontrar conexões neurais, e determinar o poder de neurónios específicos para dirigir a atividade na rede neural.

A idéia para ativar neurônios geneticamente modificados com a luz estava claramente no ar.

As correntes de luz dirigida mediadas por este sistema, no entanto, levavam muitos segundos para ligar e desligar, provavelmente devido à natureza multi proteica da cascata de sinalização, e este problema técnico pode ter sido um fator que limitou a adoção da ferramenta, em 2002. (BOYDEN, 2011)

Karl e Boyden retomaram os estudos sobre o controle neuronal através do magnetismo, com a utilização de micro contas de metal que auxiliariam na estimulação dos neurônios específicos, mas mais uma vez a ideia não deu certo e não foi levada a frente.

Mais tarde, Karl e Boyden obtiverem um clone da canalrodopsina-2 a base de uma colaboração com outro cientista, que havia feito grandes avanços com a molécula. Entre os avanços e descobertas, ele mostrou que a canalrodopsina-2 formava fusões proteicas estaveis com proteínas fluorescentes como a YFP (proteína fluorescente amarela), o que seria útil para o monitoramento da expressão da canalrodopsina-2 nos sistemas utilizados.

“Finalmente, estávamos fazendo a bola rolar no controle neural de específicos tipos de neurônios, Karl e eu debatíamos todos os tipos de coisas que poderíamos fazer, a ativação de dois fótons de diferentes neurônios, obtendo promotores específicos dos tipos de neurônios no qual a canalrodopsina-2 seria expressa, na mutação da canalrodopsina-2 para obter múltiplas variantes de diferentes cores.” (BOYDEN, 2011)

Mas claro, trabalhar com uma ferramenta baseada em uma molécula natural como a canalrodopsina-2 podia apresentava muitos riscos, muitas coisas podiam sair errado; a canalrodopsina-2 poderia não se expressar bem nos neurônios, precisando assim de uma grande otimização molecular para que ela se tornasse compatível com os neurônios. Ou a canalrodopsina-2 poderia necessitar de um cofator que teria de ser fornecido externamente para seu cromóforo fazendo com que canalrodopsina-2 necessitasse de complexos experimentos e suplementos químicos. Talvez também, a canalrodopsina-2 poderia não ser capaz de mediar correntes resultantes dos estímulos nervosos de tanta magnitude. (BOYDEN, 2011)

Além de todas as complicações, o artigo sobre a canalrodopsina-2 já havia sido publicado e assim, os dois provavelmente estariam apostando uma corrida com outros laboratórios, pra ver se a canalrodopsina-2 realmente funcionava em neurônios.

Em 2005, a pesquisa em cima da utilização da canalrodopsina-2 foi sendo aprofundada. Boyden colocou a placa, que continha neurônios em cultura expressando a canalrodopsina-2, no microscópio, e acionou a luz azul, os neurônios que estavam marcados reagiram instantaneamente em resposta a luz azul. Esse estudo foi levado a frente e eles conseguiram provar que a canalrodopsina-2 funcionava perfeitamente nos neurônios.

Em 2010, foi provado que a canalrodopsina, a halorodopsina e outras bacteriorodopsinas foram todas capazes de ligar ou desligar os neurônios, de forma rápida e segura, através dos estímulos corretos. Os tecidos de seres vertebrados teriam o cofator natural e essencial para o controle fototônico das opsinas bacterianas

Mais tarde, Karl conseguiu aplicar a técnica em seres vivos, através dos cabos e fibra ótica que emitiam a luz azul diretamente no cérebro do animal, lançando assim a técnica para manipular os neurônios predeterminados in-vivo.

3 – A TÉCNICA

Em 1979, Francis Crick sugeriu que o grande desafio da neurociência era a necessidade de controlar um tipo de célula no cérebro, deixando as outras inalteradas.

Como eletrodos não podiam ser usados para direcionar precisamente células definidas e drogas agiam lentamente, Crick mais tarde especulou que a luz podia ter as propriedades para servir como uma ferramenta de controle, mas no momento, os neurocientistas não conheciam nenhuma estratégia clara para fazer células específicas, sensíveis à luz .

No entanto, há 40 anos biólogos microbianos sabiam que alguns microorganismos produzem proteínas sensíveis à luz que regulam diretamente o fluxo de íons através da membrana plasmática.

Mas levou mais de 30 anos para que os neurocientistas trouxessem os dois campos juntos, já que pensavam que tal abordagem seria muito improvável que funcionasse.

Porém, a optogenética consiste nisso, na junção destes dois campos. A optogenética é a combinação de métodos genéticos e óticos para atingir o ganho ou a perda da função dos eventos bem definidos em células específicas de tecido vivo.

No sentido mais amplo, a optogenética engloba um núcleo de tecnologias para: (i) entrega de luz em tecidos sob investigação, (ii) descobrir as ferramentas de controle de células de interesse e (iii) a obtenção de leituras compatíveis e realização de análises, como a imagem alvo ou gravação elétrica da atividade efetuada.

A técnica em si, consiste na inserção dos genes, que produzem a canalrodopsina ou a halorodopsina, nos neurônios específicos a partir de uma técnica de transgenia. Assim, os neurônios, que agora tem este gene, começa a produzir estas proteínas membranares que tem a capacidade de resposta à luz. A halorodopsina, ao ser estimulada com luz amarela, fecha os canais iônicos, inibindo o estímulo nervoso, a canalrodopsina, por sua vez, ao ser estimulada com luz azul, abre os canais iônicos, possibilitando a passagem dos íons e assim, acarretando no estímulo nervoso. O transporte da luz é feito através de cabos de fibra ótica, que tem a espessura menor do que a de um fio de cabelo, possibilitando assim a entrega de luz em tecidos mais profundos. Dessa forma a optogenética possibilita o a estimulação ou a a inibição dos neurônios, com grande precisão e em um curto espaço de tempo. Com os estímulos certos

é possível controlar a ansiedade do mamífero, ou até mesmo controlar certos movimentos destes.

Embora tenha surgido da neurociência, a optogenética aborda uma necessidade não atendida, muito mais ampla no estudo de sistemas biológicos: a necessidade de controlar os eventos definidos, em tipos de células definidos, em tempos definidos e em sistemas intactos. Tais análises são importantes porque os acontecimentos celulares são significativos apenas no contexto de outros eventos que ocorrem no resto do tecido, no organismo e/ou no meio ambiente como um todo.

As ferramentas da optogenética mudaram completamente o modo que a neurociência podia ser conduzida, possibilitando a evolução de diversos outros estudos na área.

Tais ferramentas já foram aplicadas a sistemas não neuronais também, incluindo glial, muscular, cardíaco e as células-tronco embrionárias, e a precisão temporal fornecida pela luz pode continuar a ser crucial, proporcionando um evento definido, em uma população de células definida, em tempos específicos.

A técnica vem sendo utilizada por diversos cientistas como Kyle S. Smith e Ann M. Graybiel, que em uma parceria, utilizaram a optogenética para tentar entender o comportamento dos mamíferos, e como o cérebro se relaciona com tais comportamentos.

David J. Anderson, provou através da optogenética, que a violência pode ser estimulada através de estímulos cerebrais específicos. Provou que a violência, o comportamento agressivo do ser pode ser controlado através de uma pequena área do cérebro.

Além de diversos estudos, que ajudaram no mapeamento do cérebro dos mamíferos, estudiosos também desenvolveram técnicas para o tratamento de doenças psicológicas.

Alexxai Kravitz e sua equipe conseguiram controlar os circuitos nervosos dos gânglios basais que são responsáveis, em grande parte, pelo controle do movimento. Kravitz descreveu dois circuitos paralelos que controlavam o movimento, um circuito que ativava o movimento, outro que inibia. Além disso, ele aplicou a técnica a ratos parkinsonianos, de forma que ao estimular o circuito que ativava o movimento, através da canalrodopsina-2, o rato continuava da mesma forma, porém ao estimular o circuito que inibia o movimento, o rato se tornava saudável, a doença de parkinson parava de fazer efeito enquanto o estímulo não fosse cessado, ao cessar o estímulo deste circuito motor, o rato voltava a ser um rato parkinsoniano. Nesse

estudo, Kravitz utilizou apenas da canalrodopsina-2, pois existiam dois circuitos, e o próprio circuito nervoso era responsável por inibir o movimento se ativado, assim não era preciso inibir nenhum circuito nervoso.

4 – BENEFÍCIOS E POSSÍVEIS APLICAÇÕES

A técnica trouxe diversos benefícios para a ciência e até mesmo para a medicina, hoje em dia a técnica já é utilizada em diversas áreas.

O mapeamento do cérebro foi um dos principais benefícios. Imediatamente após a demonstração de que a canalrodopsina-2 poderia ser usada para o controle de neurônios, muitos laboratórios iniciaram projetos de mapeamento do cérebro em animais vivos. Excelentes trabalhos por vários grupos mostram que a aplicação dos métodos da optogenética abrem as portas em um futuro próximo para estudos mais detalhados, que não teriam sido possíveis com os métodos elétricos e óticos tradicionais. Alguns desses estudos, bem sucedidos foram citados anteriormente, como o de David J. Anderson.

Além do mapeamento do cérebro, estudos possibilitaram uma melhor análises das redes neurais em cultura, já que as células agora poderiam ser estimuladas de forma mais específica, com a luz, em laboratórios, facilitando assim os estudos dessas redes.

No futuro, a terapia gênica com as ferramentas da optogenética parece ser possível. A transdução através de adeno vírus associados (AAV) foi realizada com sucesso no olho humano para curar a neuropatia ótica hereditária de Leber, uma forma hereditária de perda de visão, por transdução de células da retina humana com a intenção de substituir as isomerases da retina em falta. Em analogia com isto, o AAV poderia ser carregado com as rodopsinas microbianas e poderia ser utilizado para terapia gênica em outras doenças. (HUANG, 2011)

Experimentos em camundongos deficientes de fotorreceptores têm mostrado que a luz provoca potenciais no córtex visual após a transdução das células canalrodopsina-2 na retina. Isto indica que a retina dos animais recuperaram a fotossensibilidade, que é transmitida através do nervo óptico, para o cérebro. Trajetórias do movimento dos animais no escuro e na luz mostram claramente uma atividade aumentada na luz. É concebível que num futuro próximo, tal abordagem possa ser possível para os seres humanos cegos. No entanto, a fim de chegar a este ponto muitos obstáculos biomédicas, biofísicos e técnicos têm de ser superadas.

Esta seria uma alternativa para a tecnologia, que implanta fichas fotossensíveis no olho humano, o que está longe de um tratamento satisfatório. (HUANG, 2011)

Além da técnica de Kravitz, outras formas de utilização da técnica para o tratamento da doença de parkinson provavelmente serão possíveis em breve. Alguns cientistas já tentam aplicar o método novo em técnicas antigas de tratamento.

Além da aplicação de fármacos para o tratamento da doença de Parkinson, ela pode ser tratada por uma técnica chamada: estimulação profunda do cérebro. O método consiste na aplicação de um eletrodo quadripolar ao núcleo do subtálamo, parte da via degenerativa do parkinson dentro do cérebro. Com a ajuda dos eletrodos um campo elétrico é aplicado estimulando as células neuronais. Com esta abordagem resultados espetaculares são obtidos, o que representa uma melhoria substancial em comparação com a terapia farmacêutica. Por causa da geometria dos eletrodos uma precisão de cerca de um milímetro pode ser alcançado. A estimulação extracelular pelos eletrodos não só induz a despolarização necessária das células específicas, mas também, parcialmente, uma hiperpolarização, que inativa células com efeitos secundários indesejados. Isso significa que partes da área alvo, não estão sob controle perfeito. (HUANG, 2011)

O método da optogenética é completamente diferente. Se for bem sucedida esta abordagem vai levar a um melhor tratamento da doença: Vírus contendo o gene responsável pela produção da canalrodopsina-2 são induzidos a se instalarem neste grupo de neurônios específicos, do núcleo do subtálamo. Assim a ativação da estrutura alvo no cérebro será mais específica e os resultados serão alcançados mais facilmente, por meio de fontes de luz adequada, os cabos de fibra ótica e sem os efeitos colaterais. Como discutido acima, as vantagens são a especificidade celular, a resolução espacial e temporal em alta escala micrométrica, o que abriria caminhos para a estimulação de subestruturas do núcleo do subtálamo. De tal forma seria possível não só um tratamento mais eficaz, mas também aprofundar os estudos e compreensão da doença. (HUANG, 2011)

Com relação à epilepsia, as pesquisas, e a utilização da optogenética para o tratamento se torna mais difícil, pois aqui certas áreas do córtex cerebral são afetadas, e por esta área ser uma das áreas mais sofisticadas e complexas do cérebro, a utilização do método se torna mais delicada.

Podia-se especular que optogenética atrairia muito foco também para o tratamento de outras doenças, incluindo doenças neuropsiquiátricas, como as fobias. Estudos demonstraram a possibilidade de controlar a ansiedade com a optogenética. Nesses estudos, os camundongos são colocados em um lugar com dois ambientes, um claro e um escuro, e enquanto o cabo de fibra ótica não é ativado, estimulando a área desejada no cérebro do animal, o camundongo permanece apenas no lado escuro, por ter “medo” da luz, porém ao ativarem a luz azul no cérebro do camundongo, ele passa a ser indiferente quanto ao ambiente claro ou escuro.

5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há muitos anos cientistas vinham se esforçando para tentar entender o cérebro, que sempre foi um grande mistério. As técnicas de estimulação do sistema nervoso com eletrodos já era um grande avanço pra este mapeamento cerebral, porém a inovação que a optogenética trouxe facilitou este mapeamento, abriu portas para novos campos de estudos, novas pesquisas, novos tratamentos.

Em 2010, Karl Desseiroth, principal criador da técnica ganhou o prêmio de método do ano, pela revista nature.

Apesar da técnica ser muito importante, e estar expandido as fronteiras da ciência, ela é muito pouco estudada no Brasil. Em 2011, não existia quase nenhum artigo brasileiro, relacionado a técnica. Hoje em dia, a partir de uma pesquisa PubMed, são encontrados cerca de 80 artigos brasileiros sobre a optogenética. O número vem crescendo bastante, porém em relação a quantidade de artigos total a respeito da optogenética o número é muito pequeno ainda.

Em 2013, o primeiro laboratório destinado ao trabalho com a optogenética do Rio de Janeiro, foi implantado na Universidade Federal do Rio de Janeiro. Isso mostra que o Brasil está se aprofundando nas pesquisas com a optogenética.

A optogenética oferece grandes oportunidades para a pesquisa básica em neurociência, como já foi demonstrado por muitos laboratórios no mundo inteiro. As aplicações biomédicas, no entanto, mantem desafios e riscos imprevisíveis.

O método vem sendo cada vez mais estudado, e cada vez mais descobertas são feitas, mais tratamentos vem sendo criados, trazendo muitos benefícios para toda a sociedade científica, não só pra neurociência. E em breve, com os possíveis tratamentos mais eficazes para certas doenças, a optogenética poderá trazer muitos benefícios para a sociedade como um todo.

REFERÊNCIAS

DESSEIROTH, Karl. **Optogenetics, Method of the Year.** Nature, 2010.

BOYDEN, Edward S. **A history of optogenetics: the development of tools to controlling brain circuits with light.** F1000 Reports Biology. Media Lab, McGovern Institute, Department of Brain and Cognitive Sciences and Department of Biological Engineering, MIT, 2011

HAN, Xue. **In vivo application of optogenetics for neural circuit analysis.** ACS Chemical Neuroscience. Biomedical Engineering Department, Boston University, 2012

CAO, Zheng Fang Huang; BURDAKOV, Denis; SARNYAI, Zoltán. **Optogenetics: potentials for addiction research.** Addiction Biology. Department of Pharmacology, University of Cambridge, UK1 and Howard Hughes Medical Institute Janelia Farm Graduate Program, Ashburn.

JOHNSON, Sally Cole. **Optogenetics: An illuminating journey into the brain.** Optical and Photonic News. Boston, 2012.

ANDERSON, David J. **Optogenetics, Sex, and Violence in the Brain: Implications for Psychiatry.** Biol Psychiatry. Division of Biology, Howard Hughes Medical Institute, and Institute of Technology, California, 2011.

DESSEIROTH, Karl. **Optogenetics and Psychiatry: Applications, Challenges, and Opportunities.** Biol Psychiatry. Departments of Bioengineering and Psychiatry and Howard Hughes Medical Institute, Stanford University, California, 2011.

SMITH, Kyle S; GRAYBIEL, Ann M. **Using optogenetics to study habits.** Elsevier. McGovern Institute for Brain Research, Department of Brain and Cognitive Sciences, Massachusetts Institute of Technology, United States, 2013.

TOETTCHER, Jared E; VOIGT, Christopher A.; WEINER, Orion D.; LIM, Wendell A. **The promise of optogenetics in cell biology: interrogating molecular circuits in space and time.** Nature. Department of Cellular and Molecular Pharmacology and the Cardiovascular Research Institute, University of California San Francisco, 2011