2022

INSTITUTO DO CÉREBRO

Instituto do Cérebro ICe/UFRN

Diretora: Kerstin Schmidt
Vice-Diretora: Bernardete Sousa
Coordenador de Pós-Graduação: Rodrigo Romcy
Coordenador de Graduação: Claudio Queiroz
Coordenador de Pesquisa: Sérgio Neuenschwander
Coordenador de Extensão: Eduardo Sequerra

ÍNDICE

04
Sobre o ICe

05
Nossa História

07
Nossos Professores

08
Nossos Técnicos

09
Laboratório de Neurofisiologia Computacional

15
Laboratório de Audição e Atividade Neuronal

20
Laboratório de Neurobiologia Celular

23
Laboratório de Endocrinologia Comportamental

27
Nossos Estudantes

Sobre o ICe

Eu gostaria de apresentar brevemente o Instituto do Cérebro (ICe) para aqueles que ainda não nos conhecem tanto, e resumir o que estamos trazendo para o novo prédio. Somos 18 professores de diferentes especializações e formações primárias. Todos estudaram muito tempo fora ou são estrangeiros, e trouxeram suas redes de contato internacional ao voltar (ou chegar) à UFRN.

O ICe abriga hoje 18 laboratórios individuais e várias instalações multiusuários, entre eles um microscópio confocal; um sistema de dissecção a laser; sistemas de registro eletrofisiológico extra e intracelular; clusters de análise computacional; equipamento de biologia molecular e celular; um sistema de eletroencefalografia de alta densidade; psicofarmacologia intracerebral; e equipamentos de pesquisa comportamental.

As técnicas de ponta disponíveis incluem imageamento óptico de corantes sensíveis à voltagem; optogenética; quimogenética; vetores virais e sistemas Cre-Lox; múltiplos registros paralelos de atividade neurofisiológica; bioinformática, bem como técnicas transgênicas para mapeamento de destino celular. Além disso, cuidamos de sete diferentes espécies de animais em biotérios especializados.

Estamos pesquisando um amplo espectro de tópicos, desde o canal iônico até os circuitos celulares, das funções cognitivas à modelagem da função cerebral. Uma de nossas principais áreas de pesquisa é a neurobiológica dos sistemas e da cognição, com foco em funções sensoriais e motoras, vocalização, bem como dinâmica cerebral em condições normais e patológicas – para mencionar aqui nossos modelos de epilepsia, autismo, ansiedade e zumbido, e os mecanismos do sono. Estamos estudando ainda os mecanismos celulares e moleculares relacionados ao desenvolvimento, plasticidade, aprendizagem e memória do cérebro.

Um exemplo é a exploração de fatores que estão envolvidos na persistência e modificação de memórias declarativas, algo que é importante para entender as demências – por exemplo, o mal de Alzheimer. Em nossa abordagem de neuroinformática, também empregamos técnicas matemáticas e de programação para a análise de grandes conjuntos de dados de pesquisas experimentais em neurociência.

Embora a maior parte de nossa pesquisa seja básica, nossa equipe de pesquisadores principais também está envolvida em ciência nacional. Alguns de nossos pesquisadores reagiram às necessidades da população, como o acompanhamento de crianças com microcefalia nascidas após o surto de Zikavírus, ou a análise de relatos de sonhos durante a pandemia de Covid-19. Outras pesquisas aproveitam a localização do instituto no Nordeste do Brasil, como o estudo de cérebros de táxons raros, específicos da América do Sul.

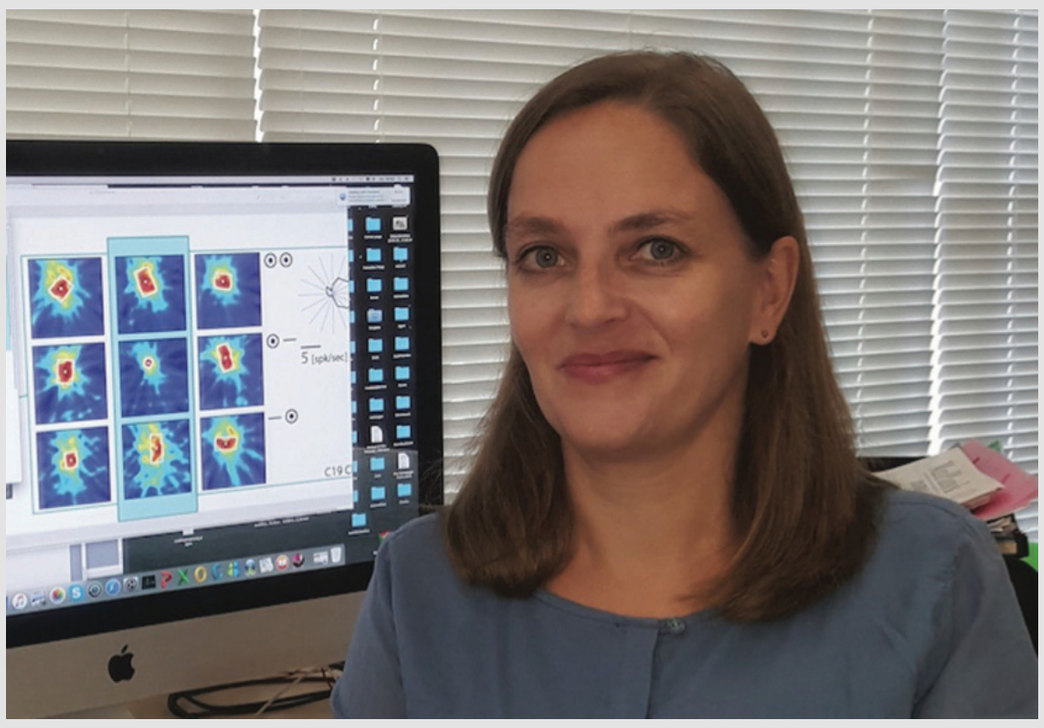
Também desenvolvemos investigações que contribuem para o desenvolvimento de estratégias diagnósticas e terapêuticas para doenças do neurodesenvolvimento, neurológicas e psiquiátricas, além de estudar o potencial medicinal de drogas ainda não suficientemente exploradas, como canabinóides e psicodélicos em modelos animais.

O Instituto do Cérebro foi idealizado em uma época de muito apoio à ciência e ao crescimento das universidades no Brasil. Seu planejamento inicial previa o funcionamento de 25 grupos de trabalho. Isso resultou no ICe de hoje, com 18 professores, 29 técnicos e cerca de 40 alunos de pós-graduação, e mais de 400 artigos em revistas internacionais com 7400 citações. Entre os 22 cientistas da UFRN que figuram na lista promovida pela AD Scientific Index dos dez mil cientistas mais produtivos do BRICS (bloco formado por Brasil, Rússia, Índia, China e África do Sul) em 2021, cinco são do ICe.

Também buscamos oferecer ensino de excelência em neurociências para alunos de graduação e pós-graduação, tanto como uma formação baseada na ciência para alunos de outros cursos como a formação principal de neurocientistas aptos para conquistar o mundo cientifico e continuar um doutorado ou uma carreira fora do país (e voltar). Atuamos em três programas de pós-graduação: o PGPsicobio, o PGBioinformatica e nosso próprio programa, o PGNeuro. Formamos quase 50 mestres, mais de 35 doutores e 30 pós-doutorados.

Além disso, queremos contribuir para a formação multidisciplinar dos alunos de graduação da UFRN ainda por meio do eixo de Neurociências no Âmbito do Bacharelado em Ciência e Tecnologia na Escola de Ciências e Tecnologia (ECT). Oferecemos mais do que 40 componentes curriculares em vários cursos da UFRN, incluindo a ECT, o Centro de Biociências, o Centro de Ciências Exatas e da Terra e o Centro de Ciências Humanas, Letras e Artes. E os números de alunos de graduação interessados em Neurociência nos últimos anos só cresce, chegando a quase 600 estudantes matriculados em nossas disciplinas em 2021.

Finalmente, realizamos ações de extensão junto a comunidades carentes, com participação de alunos de graduação e do ensino fundamental e médio, além de pacientes hospitalares e público em geral.



Kerstin Schmidt

Diretora do Instituto do Cérebro

Nossa História

O percurso que nos trouxe aqui foi mesmo longo. O Instituto do Cérebro começou a ser concebido em meados dos anos 1990, quando Claudio Mello, Sergio Neuenschwander e eu - neurocientistas brasileiros então atuando nos Estados Unidos e na Alemanha - começamos a sonhar com um instituto de pesquisa de ponta no Brasil que não apenas pesquisasse o cérebro com grande liberdade de ideias e métodos, mas que pudesse inverter a lógica metrópole-colônia do fluxo de cérebros entre os países hegemônicos e os países dependentes de ciência e tecnologia.

Em nossa impaciente juventude, tínhamos pressa de construir o sonho. Em pouco tempo o projeto já contava com importantes apoiadores, entre eles o neurobiólogo sueco Torsten Wiesel (prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia em 1981), então presidente da Universidade Rockefeller, e o economista Henrique Meirelles, à época presidente do Banco de Boston, além de diversos cientistas latino-americanos trabalhando em território nacional, como Cecília Hedin-Pereira e Claudia Vargas, ou no exterior, como Miguel Nicolelis e Arturo Álvarez Buylla. Em 1998, mobilizamos nossa extensa rede de apoiadores para apresentar o primeiro projeto desse Instituto ao Dr. Torsten Wiesel. Ele nos encorajou, mas disse que seria muito mais difícil e demorado do que imaginávamos.

Começou naquela reunião em Nova York uma aventura complexa, cheia de momentos lindos e percalços inacreditáveis, caracterizada principalmente pelo fortalecimento e expansão da rede de colaboradores, entusiastas e guardiões do projeto. Em 2001, sob a liderança de Ricardo Gattass, professor titular da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e com a participação dos acima mencionados além de outros neurocientistas brasileiros atuando no Rio de Janeiro (Eliane Volchan, Mário Fiorani,), São Paulo (Koichi Sameshima, Dora Ventura, Luiz Eugenio Mello), Brasília (Marco Marcondes de Moura) e Pará (Antonio Pereira, Luiz Carlos Silveira), foi apresentada ao CNPq uma proposta para materializar o projeto no estado de São Paulo, a fim de aproveitar a ótima estrutura da FAPESP. O projeto foi julgado do mais alto mérito científico, mas não recebeu financiamento. Com esse inusitado resultado, recebemos também uma recomendação preciosa: o projeto precisava sair do eixo São Paulo-Rio, onde se concentram 70% da produção científica brasileira.

E foi o que fizemos. Reconfiguramos nosso alvo geográfico para o nordeste e, em 2003, o projeto foi apresentado ao ex-presidente Lula por Miguel Nicolelis e pelo prof. Isaac Roitman, incansável apoiador e conselheiro ao longo de todo o caminho. O Brasil vivia então o início de um período brilhante de investimentos em educação, ciência, tecnologia e inovação. Na primeira década do século 21 o orçamento de CTI foi multiplicado por quatro, e grande parte destes recursos foi destinado ao nordeste, norte e centro-oeste. O entusiasmo do ex-presidente Lula foi imediato e em poucos dias deflagrou-se o plano de criar o Instituto na Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Em reunião na sede do CNPq, em Brasília, a proposta foi apresentada ao então reitor da UFRN, Óthon Anselmo de Oliveira, que convocou uma reunião acadêmica em Natal para tratar do tema. Essa reunião ocorreu em março de 2003, na sala do CONSEPE (Conselho de Ensino e Pesquisa), no prédio da Reitoria, e contou com a presença do então Secretário de Políticas Científicas do Ministério da Ciência e Tecnologia, Gilberto Fernandes de Sá, bem como de representantes do Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia da UFRN, que já realizava pesquisas na área de Neurociências, como Maria Bernardete Cordeiro de Sousa, John Fontenele Araujo, Miriam Stela Maris de Oliveira Costa e Jeferson de Souza Cavalcante.

É importante destacar a inteligência, coragem e coerência da UFRN ao longo de todo esse processo, seja na receptividade generosa do ex-reitor Othom Anselmo; seja na ousadia e visão estratégica do ex-reitor Ivonildo do Rego, que articulou a criação das vagas de docentes e técnicos para o Instituto, captou recursos e bancou a realização de concursos de nível internacional; seja na firmeza e habilidade da ex-reitora Angela Paiva, que apaziguou conflitos perigosos e lutou incansavelmente até garantir os recursos para a construção da sede; seja, mais recentemente, na serenidade e competência do reitor José Daniel Diniz Melo durante o período de conclusão da obra, inaugurada em 9 de novembro de 2021.

Cumpre também destacar o papel da então deputada e hoje governadora Fátima Bezerra, que em 2007 conseguiu reunir quase toda a bancada legislativa federal do RN para solicitar ao então ministro da Educação Fernando Haddad que criasse as vagas de docentes e técnicos para o Instituto. Compareci a esta reunião junto com o então reitor Ivonildo e o professor Isaac Roitman e me entusiasmei com a reação positiva do então ministro Haddad, que não apenas garantiu as vagas como destinou recursos suficientes para a aquisição de equipamentos científicos, algo inédito no país.

As vagas foram criadas e começamos assim uma outra etapa do projeto: recrutar neurocientistas do mais alto nível possível para integrar nosso grupo de professores pesquisadores. Os concursos foram amplamente divulgados no exterior em veículos como a revista Science, e em 2008 começaram a ser realizados. Ao longo da década seguinte conseguimos compor um quadro docente caracterizado pela excelência na investigação científica, diversificação das linhas de pesquisa e amplitude de abordagens experimentais, das mais tradicionais às mais futuristas. Todas as nossas professoras e professores têm doutorado, pós-doutorado e bastante experiência internacional, sendo quatro oriundos da Alemanha, Suécia e Argentina, inclusive nossa diretora, Kerstin Schmidt, que rege essa orquestra neural com sabedoria e competência ímpares.

Em paralelo à construção do corpo docente, conseguimos recrutar ao longo do tempo um corpo técnico de elevada competência administrativa e científica, capaz de dar solidez e eficiência às ações de pesquisa, ensino e extensão do Instituto do Cérebro. Vários de nossos técnicos têm mestrado e doutorado e atuam diretamente na pesquisa. O Instituto do Cérebro tem muito orgulho da produtividade e criatividade de seus professores, técnicos e pessoal terceirizado sem o qual não poderíamos funcionar.

Ao mesmo tempo em que construímos nossos quadros docente e técnico, criamos o Programa de Pós-Graduação em Neurociências da UFRN e participamos de diversos outros programas de pós-graduação. Concentramos nossos melhores esforços na formação das novas gerações de neurocientistas, em níveis de graduação, mestrado, doutorado e pós-doutorado, as mais preciosas jóias de nosso tesouro, nossos estudantes, pós-doutorandos e egressos, muitos dos quais hoje são docentes ou técnicos em universidades como a UFRN, UFPE, UERN, UnB e UFRJ, ou realizam pós-doutorados em alguns dos melhores centros de pesquisa do mundo. Nivaldo Vasconcelos, Natália Bezerra Mota, Vitor Lopes dos Santos, Fernanda Palhano-Fontes, Bruna Landeira, Andressa Radiske, Annie Souza, Bryan Souza, Wilfredo Blanco, Sergio Conde, Sérgio Arthuro Rolim, Thawan Malfatti, Markus Hilscher, Daniel Almeida Filho, Fabio Caixeta e tantos outros talentos que passaram pelo Instituto do Cérebro: vocês nos enchem de orgulho!

É importante salientar que na última década contamos com a orientação de nosso Conselho Científico Internacional, formado em 2012 com o objetivo de avaliar as pesquisas desenvolvidas no Instituto com base em metas e critérios da mais alta qualidade. Em 2014, recebemos uma visita presencial deste Conselho, formado por Torsten Wiesel e Charles Gilbert (ambos da Universidade Rockefeller, EUA), Yves Fregnac (CNRS, França), Cláudio Mello (OHSU, EUA), Henry Markram (EPFL, Suiça) e Pierre Magistretti (EPFL, Suiça). O Conselho realizou uma avaliação detalhada da produção científica de cada professor do Instituto, nos orientou sobre decisões futuras e solicitou o envio de relatórios trimestrais, o que temos feito desde então.

Também quero destacar o importante papel desempenhado pelo MCTI e pela FINEP no financiamento de equipamentos e insumos para o Instituto do Cérebro, através de dirigentes como Sergio Rezende, Ricardo Gattass, Wanderley de Souza, Marco Antonio Raupp, Luiz Antonio Elias e Ricardo Rosa. Contamos ainda com o apoio de lideranças políticas expressivas no RN, como a senadora Zenaide Maia, a deputada Natália Bonavides e o secretário Fernando Mineiro.

O Instituto do Cérebro da UFRN é produto da interação sinergística de diversos atores, por meio do qual o estado brasileiro apoiou com entusiasmo a diversificação geográfica da produção científica na área de neurociência. O modelo de gestão adotado no Instituto do Cérebro se caracteriza por horizontalidade e compartilhamento de responsabilidades entre os docentes, viés pragmático orientado para a desburocratização da pesquisa, recrutamento internacional de alto nível, articulação institucional em níveis local, estadual, federal e global, múltiplas plataformas de financiamento, proatividade para salvaguardar os fundamentos públicos do projeto, compromisso genuíno com ensino de excelência e engajamento efetivo em extensão socialmente transformadora.

Tais características fazem do Instituto do Cérebro da Universidade Federal do Rio Grande do Norte uma experiência valiosa e original para o desenvolvimento regional brasileiro, inspirando sonhos de liberdade não apenas no Rio Grande do Norte, mas também em diversos outros estados brasileiros. A rede de pessoas envolvidas na criação e sustentação do Instituto do Cérebro, tanto dentro quanto fora do Brasil, é enorme. Somos o produto do trabalho conjunto e do alinhamento de inúmeras vontades. Somos um presente do mundo para o Brasil, mas sobretudo um presente do Brasil para seu futuro.

Sidarta Ribeiro

Membro fundador do
Instituto do Cérebro

Nossos Professores

ADRIANO TORT
tort@neuro.ufrn.br
Neurofisiologia Computacional

BERNARDETE SOUSA
mbcsousa@neuro.ufrn.br
Endocrinologia Comportamental

CLAUDIO QUEIROZ
clausqueiroz@neuro.ufrn.br
Redes Neurais e Epilepsia

DANIEL TAKAHASHI
takahashiyd@neuro.ufrn.br
Etogênese

DIEGO LAPLANGE
diego@neuro.ufrn.br
Neurofisiologia do Comportamento

DRÁULIO ARAÚJO
draulio@neuro.ufrn.br
Neuroimagem Funcional

EDUARDO SEQUERRA
ebsequerra@neuro.ufrn.br
Desenvolvimento Neural e Ambiente

KATARINA LEÃO
katarina.leao@neuro.ufrn.br
Audição e Atividade Neuronal

KERSTIN SCHMIDT
kschmidt@neuro.ufrn.br
Neurobiologia da Visão

LIA BEVILAQUA
lia.bevilaqua@neuro.ufrn.br
Memória

MARCOS COSTA
mrcosta@neuro.ufrn.br
Neurobiologia Celular

MARTÍN CAMMAROTA
martin.cammarota@neuro.ufrn.br
Memória

RICHARDSON LEÃO
richardson.leao@neuro.ufrn.br
Neurodinâmica

RODRIGO ROMCY
rnrpereira@neuro.ufrn.br
Plasticidade de Circuitos Neurais

SANDRO SOUZA
sandro@neuro.ufrn.br
BioMe

SERGIO NEUENSCHWANDER
neuenschwander@neuro.ufrn.br
Vislab

SIDARTA RIBEIRO
sidartaribeiro@neuro.ufrn.br
Sono, Sonhos e Memória

TARCISO VELHO
velhot@neuro.ufrn.br
Neurogenética

Nossos Técnicos

AKALINE DANTAS DE ARAÚJO
Secretária Executiva da Pós-Graduação

ALEX SANDRO SILVA
Técnico em Edificações

ANA CRISTINA MACIEL VILAR QUEIROZ
Assistente de Laboratório

ANDERSON DE CASTRO MUNIZ
Assistente em Administração

DANIEL SOARES BRANDÃO
Analista de Tecnologia da Informação

DÉBORA COSTA ARAÚJO
Assessora Técnica

DELSON ALVES DA COSTA
Engenheiro Eletricista

EDUARDO MARQUES
Técnico em Tecnologia da Informação

FERNANDA PALHANO XAVIER DE FONTES
Engenheira / Neuroengenharia

GABRIEL MARCOS DA SILVA
Técnico em Tecnologia da Informação

GRACE SANTANA
Secretária Administrativa

HELOÍSA HELENA DOS SANTOS ONIAS
Física

INÁCIO GOMES MEDEIROS
Assistente em Administração

INGRID BÁRBARA RAMOS HO
Assistente em Administração

ISMAEL SOARES PEREIRA
Bibliotecário

ISRAEL ARAÚJO DO NASCIMENTO DANTAS
Técnico em Tecnologia da Informação

JAIME BRUNO CIRNE DE OLIVEIRA
Técnico em Tecnologia da Informação

JOSY PONTES
Médica Veterinária

JULIANA ALVES BRANDÃO MEDEIROS DE SOUSA
Biomédica

KARLA DANIELLE BARBOSA DANTAS ROCHA
Administradora

LAÍZA FELIX DE AGUIAR
Jornalista

LUZIA LEIROS DE SENA FERNANDES
Farmacêutica

MARIANA CAMPELO MEDEIROS
Zootecnista

MAYARA DANIELLE DE MEDEIROS
Técnica em Administração

MELYNA SOARES DE SOUTO
Técnica em Laboratório/Histologia

REBECCA DE MOURA BRAZ DINIZ
Física

RENAN ARAÚJO DE LIMA
Engenheiro Mecatrônico

SÉRGIO RUSCHI BERGAMACHI SILVA
Técnico de Laboratório/Química

SHALINE ELAIDE DE ARAÚJO
Técnica em Laboratório/Biologia

SILVANA CRISTINA LIMA DOS SANTOS
Zootecnista

THIAGO ZAQUEU LIMA
Estatístico

Laboratório de Neurofisiologia Computacional

Computational Neurophysiology Laboratory

O Laboratório de Neurofisiologia Computacional do Instituto do Cérebro da UFRN atua em diversos temas de pesquisa atual em Neurociências, com particular foco em como o cérebro exerce atividades cognitivas. Em outras palavras, o laboratório estuda como o cérebro normal funciona. As pesquisas realizadas por membros deste grupo incluem tanto abordagens experimentais quanto teórico-computacionais. A parte experimental envolve a obtenção de dados da atividade elétrica do cérebro, chamados de registros ou sinais eletrofisiológicos. Esses registros são colhidos através de eletrodos intracerebrais, isto é, eletrodos implantados dentro do cérebro. Os experimentos são geralmente realizados em ratos ou camundongos.

Os registros fornecem informação sobre os momentos nos quais as células do cérebro (neurônios) emitem impulsos nervosos, também conhecidos como disparos neuronais ou potenciais de ação. De fato, uma vantagem de se trabalhar com eletrodos dentro do cérebro é que eles permitem detectar a atividade de neurônios individuais localizados próximos aos eletrodos, o que é impossível com registros feitos fora do cérebro (como no escalpo). A figura abaixo mostra os tempos de disparos neuronais de 40 células detectadas em um experimento que registrou o hipocampo, uma região cerebral importante para memória.

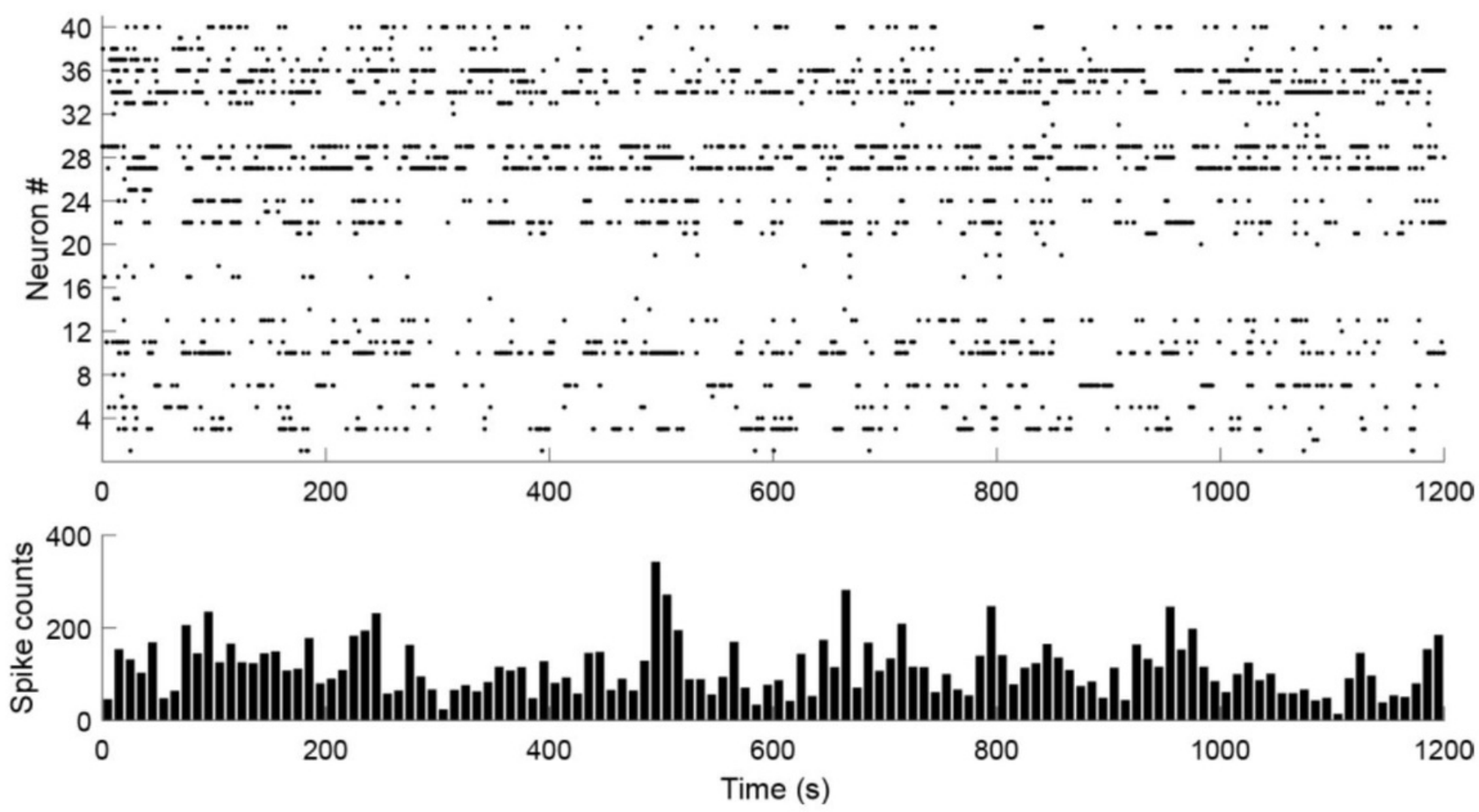


Figura 1. Tempos de disparos de neurônios do hipocampo. O painel de cima mostra um gráfico de rastreio, onde cada linha representa a atividade de um neurônio, e cada marca no gráfico indica um instante de tempo (eixo X) no qual o neurônio disparou (emitiu um potencial de ação). O gráfico debaixo quantifica todos os disparos detectados nesta amostra de neurônios.

Além de captar a atividade de neurônios individuais, os experimentos eletrofisiológicos também fornecem um sinal elétrico contínuo semelhante a um registro de eletroencefalograma (EEG), que, quando registrado dentro do cérebro, é chamado de potencial de campo local.

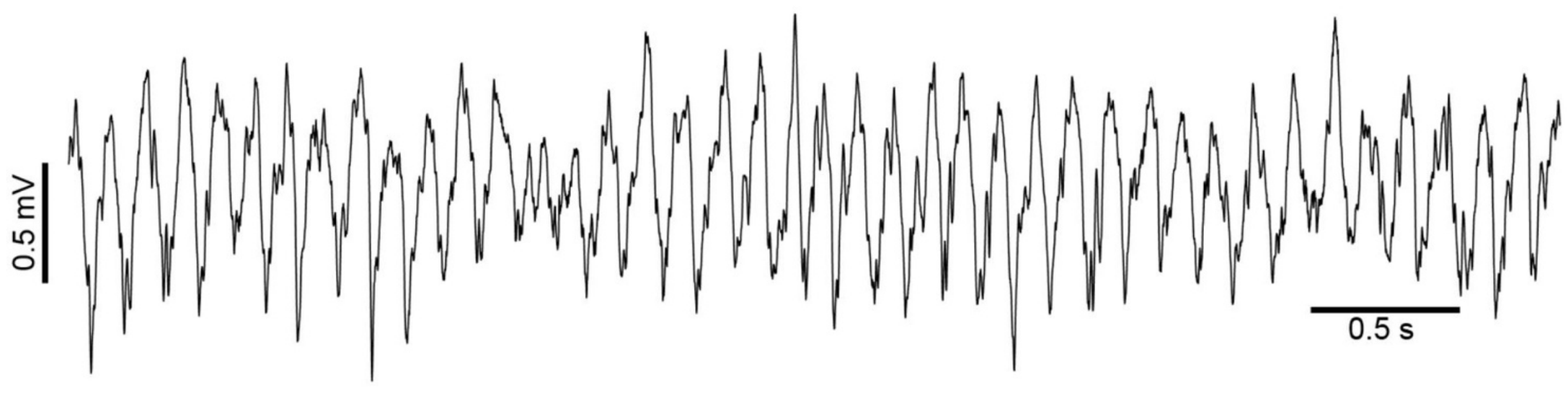


Figura 2. Registro do potencial de campo local do hipocampo mostrando atividade oscilatória.

Acredita-se que este sinal contínuo possui informação acerca da atividade elétrica média de uma população de neurônios próxima ao eletrodo, refletindo suas entradas sinápticas. De nota, é neste sinal que comumente se observam as ondas cerebrais.

Assim, experimentos visam registrar a atividade elétrica de regiões cerebrais de interesse

enquanto as cobaias são sujeitas a paradigmas comportamentais que tipicamente requerem componentes cognitivos, como, por exemplo, tomada de decisão, atenção e memória. Estas pesquisas acumulam um grande volume de dados a serem minerados através de ferramentas computacionais. De fato, a grande *expertise* em análise computacional de sinais eletrofisiológicos é um carro chefe do grupo, o que motivou sua alcunha (Laboratório de Neurofisiologia Computacional).

As abordagens computacionais do grupo são divididas em três grandes linhas de atuação: a primeira envolve a análise de dados experimentais eletrofisiológicos através de ferramentas matemáticas modernas, tanto de dados próprios colhidos por membros do laboratório bem como dados disponibilizados por laboratórios de colaboradores científicos. A segunda linha lida com o desenvolvimento de novas ferramentas computacionais para análise de dados eletrofisiológicos, uma vez que muitas descobertas científicas dependem de novas maneiras de examinar os dados que sejam capazes de enxergar fenômenos previamente não detectados. Em geral, estas ferramentas são desenvolvidas ao adaptar-se técnicas de engenharia, física e matemática para as perguntas em neurociências. A figura abaixo ilustra uma ferramenta de análise desenvolvida pelo grupo.

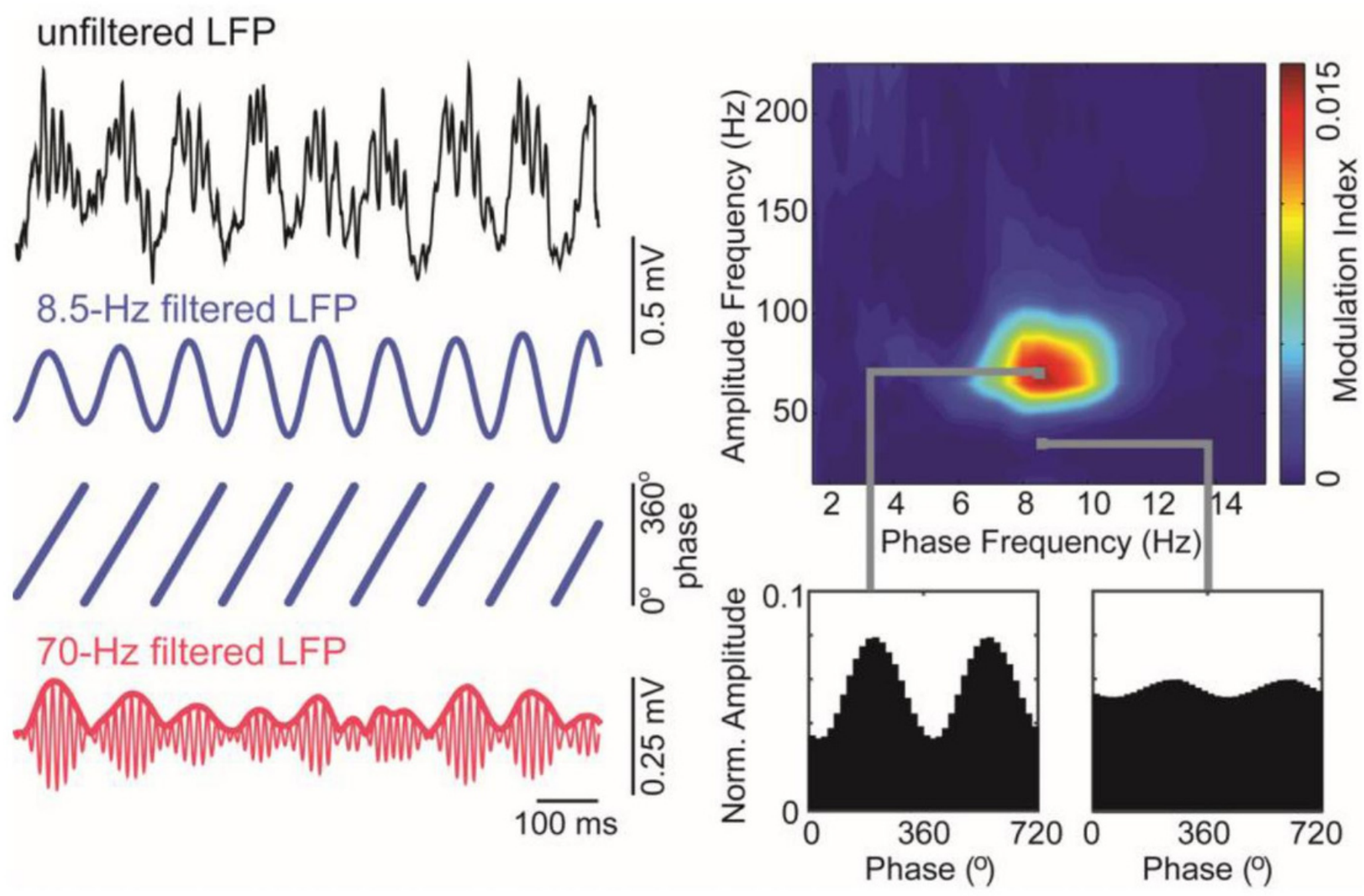


Figura 3. Medindo interação entre ondas cerebrais. Os painéis ilustram os passos para mensurar fenômenos de interação entre ondas cerebrais distintas. No caso, a amplitude de uma onda cerebral rápida (70 Hz) é modulada por uma onda cerebral mais lenta (8,5 Hz). Tal fenômeno, também conhecido como acoplamento entre frequências cruzadas, foi descoberto através de uma nova ferramenta de análise desenvolvida pelo grupo, o "comodulograma" (mapa bidimensional de cores mostrado em cima).

Já a terceira linha de atuação do laboratório visa a simulação *in silico* (no computador) de neurônios e redes neuronais a fim de se ganhar *insights* sobre os mecanismos biofísicos subjacentes aos resultados obtidos experimentalmente, conforme ilustrado abaixo.

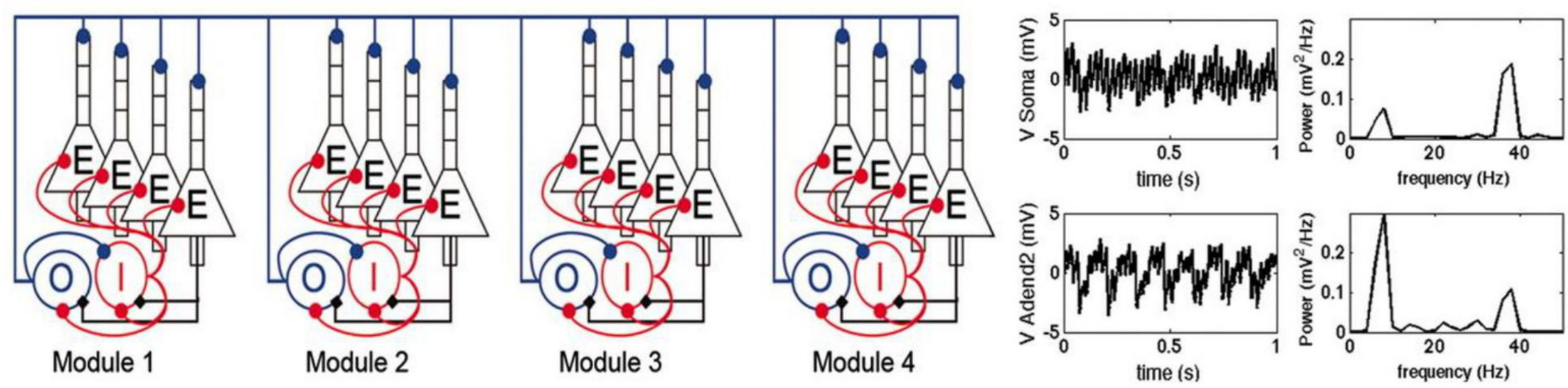


Figura 4. Modelo de redes de neurônios do hipocampo e atividade elétrica produzida por simulação.

As simulações de neurônios através desses modelos computacionais levantam hipóteses sobre os circuitos neuronais em estudo que podem ser testadas por novos experimentos, dando origem a um ciclo virtuoso entre teoria e experimentação.

Abordagens interdisciplinares

Em nossa vida cotidiana, o cérebro é capaz de realizar uma enorme quantidade de cálculos intrincados em alta velocidade, e a grande maioria é feita de forma inconsciente. Sabemos que certas regiões do cérebro são especializadas em determinadas funções; por exemplo, o hipocampo é responsável por certos tipos de memórias, o córtex pré-frontal é importante para o planejamento e a tomada de decisão, e os gânglios da base estão envolvidos no controle do movimento. No entanto, apesar destas descobertas anatômicas, ainda não se sabe como as redes neuronais realmente funcionam para executar tarefas especializadas. A compreensão dos chamados "correlatos neuronais" de funções do cérebro é considerado por muitos como o Santo Graal da Neurociência. Para atacar o problema, o laboratório tem empregado uma abordagem interdisciplinar, unindo pesquisadores com formação variada, de ciências biológicas a exatas, e múltiplas técnicas de pesquisa como abordagens eletrofisiológicas, comportamentais, farmacológicas, matemáticas e computacionais. O chefe do laboratório, Prof. Adriano Tort, tem formação em medicina, biologia, física e matemática, e o grupo de pesquisa é também altamente interdisciplinar.

Ondas cerebrais

Muito do que nos constitui está codificado no cérebro: nossa personalidade, nossas memórias, nossas percepções, nossas decisões. Mas como exatamente o cérebro funciona é ainda uma grande questão em aberto, considerada por muitos como a última fronteira da ciência. O cérebro produz continuamente uma diversidade de padrões organizados de atividade elétrica. Acredita-se que esses padrões – denominados “ritmos”, “oscilações” ou “ondas” cerebrais – correspondem a correlatos neuronais de funções cognitivas. As oscilações de redes neuronais se tornaram um dos principais tópicos de estudo da neurociência moderna. Este amplo interesse é devido a evidências oriundas tanto de pesquisas básicas quanto clínicas, que demonstram sua importância para diversos tipos de comportamento, cognição e memória. Além disso, muitas desordens cerebrais estão associadas a disfunções da atividade oscilatória. O estudo das oscilações cerebrais pode ajudar a preencher a lacuna entre a neurociência celular e a cognitiva e, em última análise, aumentar nosso conhecimento sobre o que nos torna quem somos.

O Laboratório de Neurofisiologia Computacional tem como uma de suas grandes linhas de pesquisa a caracterização de novas oscilações neuronais, e visa decifrar a relação entre oscilações, comportamento e função cerebral. Para tanto, o grupo vem empregando uma abordagem interdisciplinar que envolve experimentalmente o registro extracelular da atividade cerebral de roedores, seguido do emprego de ferramentas computacionais de ponta – muitas das quais desenvolvidas pelo próprio grupo – para a análise de dados eletrofisiológicos. Através desta abordagem, a equipe de pesquisadores do laboratório já fez importantes descobertas em neurociência básica e orientada a doenças no campo de oscilações neuronais. Dentre as descobertas recentes do grupo, destaca-se a descrição de novo tipo de oscilação neuronal, cuja principal característica é o fato de seus ciclos serem sincronizados com os ciclos de respiração nasal, conforme melhor detalhado abaixo.

Oscilações neuronais acopladas à respiração nasal

O estudo dos ritmos cerebrais é uma abordagem promissora para unir o gap entre o nível celular e o cognitivo e constitui um grande campo de pesquisa. Ao longo dos últimos anos, o Laboratório de Neurofisiologia Computacional tem buscado desvendar os tipos, os mecanismos, e as funções das oscilações neuronais. Atualmente, há a realização de projetos de pesquisa para melhor caracterizar um novo tipo de oscilação neuronal recentemente descrito pelo grupo. A principal característica deste ritmo é a sua sincronia com a respiração, isto é, sua frequência instantânea é variável, podendo assumir valores de 0,5 a 14 Hz a depender da taxa de respiração, e seus ciclos são acoplados com os ciclos respiratórios. Embora oscilações acopladas à respiração fossem conhecidas em áreas olfativas (bulbo olfatório e córtex piriforme), a grande novidade foi a descoberta de que a respiração pode

também influenciar a atividade neuronal em outras áreas não primariamente relacionadas à olfação. Isto sugere que oscilações acopladas à respiração constituem um ritmo global capaz de integrar informações entre regiões cerebrais distantes. Através de subprojetos em execução por membros do laboratório, estamos estudando as funções cognitivas desempenhadas por este ritmo, bem como investigando seus mecanismos de geração.

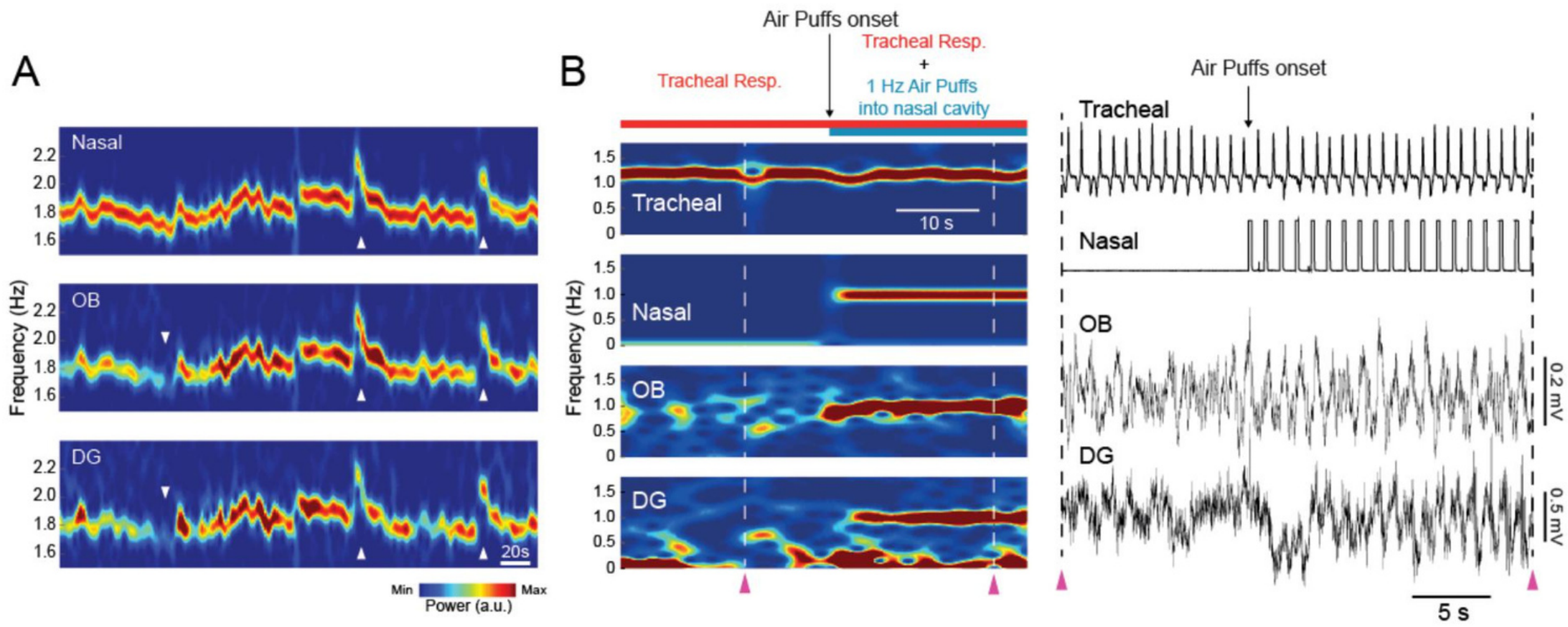


Figura 5. O hipocampo de roedores exibe uma oscilação de baixa frequência acoplada à respiração nasal. (A) Decomposição temporal e espectral da potência de sinais registrados simultaneamente, mostrando que a frequência de uma oscilação de baixa frequência no giro denteado (DG) segue de perto as variações na taxa de respiração nasal e na atividade do bulbo olfatório (OB). (B) A interrupção do fluxo de ar nasal por traqueotomia abole as oscilações de campo acopladas à respiração, enquanto que o bombeamento rítmico de ar na cavidade nasal de ratos traqueotomizados restaura oscilações coerentes entre o OB e DG na mesma frequência. Nos painéis, "Nasal" e "Traqueal" referem-se às medidas de pressão de ar na cavidade nasal e traqueia, respectivamente. Adaptado de Lockmann, Laplagne, Leão & Tort, *A respiration-coupled rhythm in the rat hippocampus independent of theta and slow oscillations*, Journal of Neuroscience 2016.

Impacto crescente

O Laboratório de Neurofisiologia Computacional já está bem consolidado e vem contribuindo com a publicação de importantes descobertas científicas. O grupo vem formando recursos humanos qualificados a trabalhar em pesquisa científica, e possui colaboradores em centros internacionais de excelência, onde pesquisadores em formação têm efetuado intercâmbio científico. Nos últimos dez anos, o grupo conseguiu angariar verbas de pesquisa e bolsas de estudo, contribuindo para o desenvolvimento científico da UFRN.

A importância dos trabalhos do grupo têm chamado atenção de laboratórios ao redor do mundo, e isto é refletido pelo número crescente de citações (quando um trabalho científico é mencionado por outro) ao longo dos anos, conforme quantificado pelo Google Acadêmico:

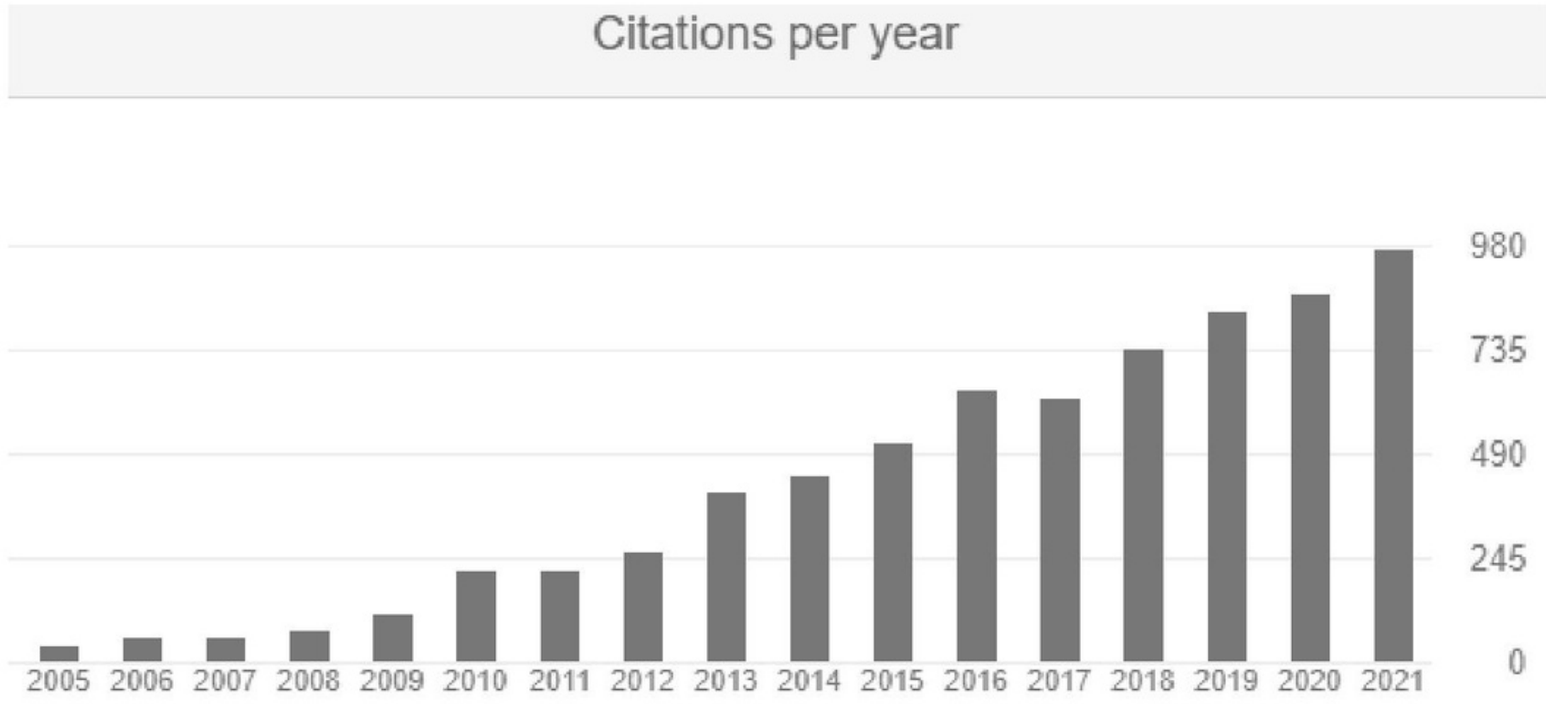


Figura 6. Número de citações aos trabalhos científicos do laboratório por ano acadêmico.

Membros atuais do laboratório

Lab members

Adriano Tort
Principal Investigator

Lucas Tavares
PhD Student

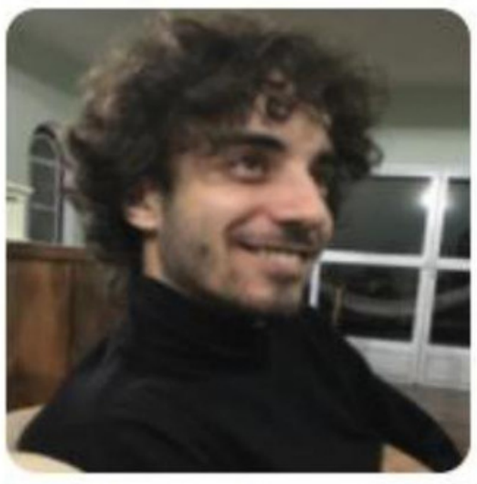
Rodrigo Santiago
PhD Student

Ana Dias
MSc Student

Bruno Santos
MSc Student

Izabela Paiva
MSc Student

Elis Duarte
Undergraduate Student



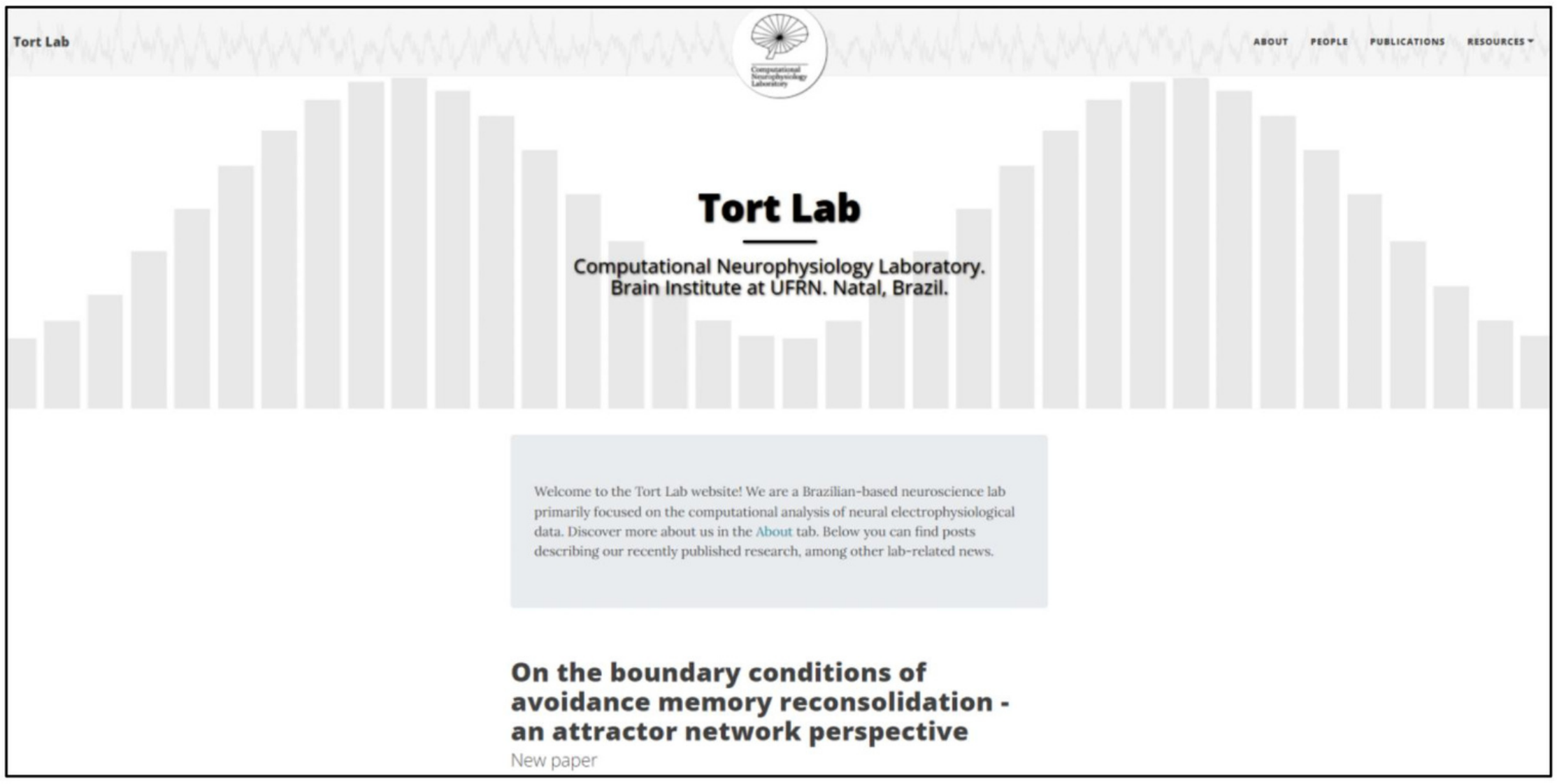
Victor Martins
Undergraduate Student

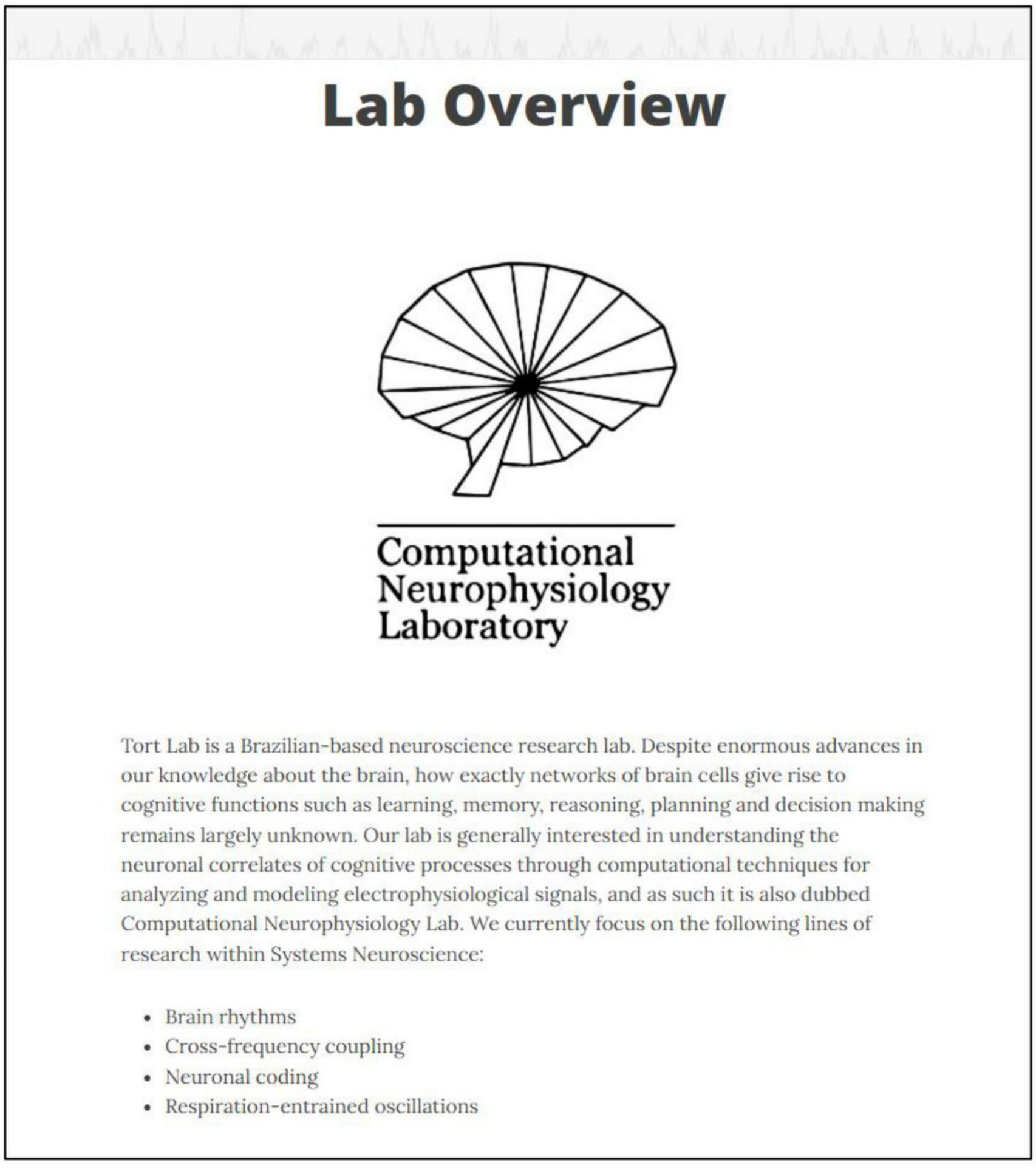
Estudantes de doutorado em coorientação com outros laboratórios:

Alan Fortunato

Joseph Alves

Página na internet





Hearing and Neuronal activity lab

Our lab focuses on what makes spontaneous neuronal activity be misinterpreted as sensory-driven activity. This is a feature often seen in an unbalanced auditory system, where our brain can create sounds that are not real, for example tinnitus (a constant ringing or beeping in the ears) or complex sounds like auditory hallucinations in schizophrenia. For schizophrenia there are medications that can dampen psychotic events, but for tinnitus, there is still no useful treatment or cure for this often-stressful phenomena.

Photo from 2017 of Thawann Malfatti, Katarina Leao (PI), Ingrid Nogueira and Barbara Ciralli.

Periodic (weeks-months) or chronic tinnitus (>6 months) can be loud and interfere with work, sleep and routines of normal life and about half of tinnitus patients report psychological problems such as anxiety, stress and depression. Anxiety related to tinnitus has also been reported in animal models of tinnitus, where we have shown it for both the salicylate induced (Winne *et al.*, 2019, 2020) and noise-induced model of tinnitus (Diógenes et al., *in preparation*), highlight the complex connections between the auditory and limbic (emotional) system.

There are many forms of tinnitus (see the American tinnitus association; www.ata.org) yet tinnitus often relates to hearing loss and/or loud noise exposure. Especially noise-induced tinnitus is interesting as it may or may not be directly related to hearing loss. Therefore, damage to cochlear hair-cells of the inner ear may generate a lack of auditory input, where noise-induced tinnitus, with a normal audiogram, instead relates to an increased level of input for a prolonged time. Both cases have the capability to alter how neurons of the auditory system fires, generate a maladaptive plasticity, that then can lead to a false perception of sound; tinnitus. Hence, it is important to separate tinnitus related to hearing loss and temporarily increased activity, as the cellular mechanisms may be different. We have previously shown that loud noise for 1-2 hrs increase immediate early gene activity, leading to increased membrane expression of Kv3.1b potassium channels (Leao *et al.*, 2010). Therefore, our lab is focusing on the animal model of noise-induced tinnitus without permanent hearing loss., a type of tinnitus more likely to affect younger individuals (4.7-18.3% of adolescents report noise-induced tinnitus).

The big questions in tinnitus research are:
Where is tinnitus generated?
How are phantom sounds maintained?
Are there biomarkers of tinnitus?

Our lab has focused on the first level of the auditory pathway, where auditory and sensory information are processed together; the **dorsal cochlear nucleus**. This area has been shown to be related to a multitude of synaptic and intrinsic alterations in animal models of noise-induced or salicylate-induced tinnitus. Here, we have tested to optogenetically (Malfatti, Ciralli, Hilscher, Edwards, *et al.*, 2021) and chemogenetically (Malfatti, Ciralli, Hilscher, Leao, *et al.*, 2021) lower neuronal activity of a large class of dorsal cochlear nucleus neurons by using a common cortical genetic marker, the Ca^{2+}/calmodulin kinase 2 alpha promoter to control synthetic light-activated ion channels, or drug-activated G-protein coupled receptors, respectively. When we chemogenetically lowered the activity of the dorsal cochlear nucleus, by administrating clozapine-N-oxide (CNO; 0.5mg/kg) to mice

previously injected with viral vectors of CamK2a-hM4Di, this showed behavioral alleviation of tinnitus (**Figure 1**). These results were not seen in mice expressing control synthetic proteins such as enhance yellow fluorescent protein, or if mice were administered saline instead of CNO. Also, the electrophysiological activity of dorsal cochlear nucleus neurons was monitored with unit recordings in response to sound. Thereby, research where we temporarily lower activity of certain cell types, rather than completely block all nerve cell activity, gives us clues to cellular components driving

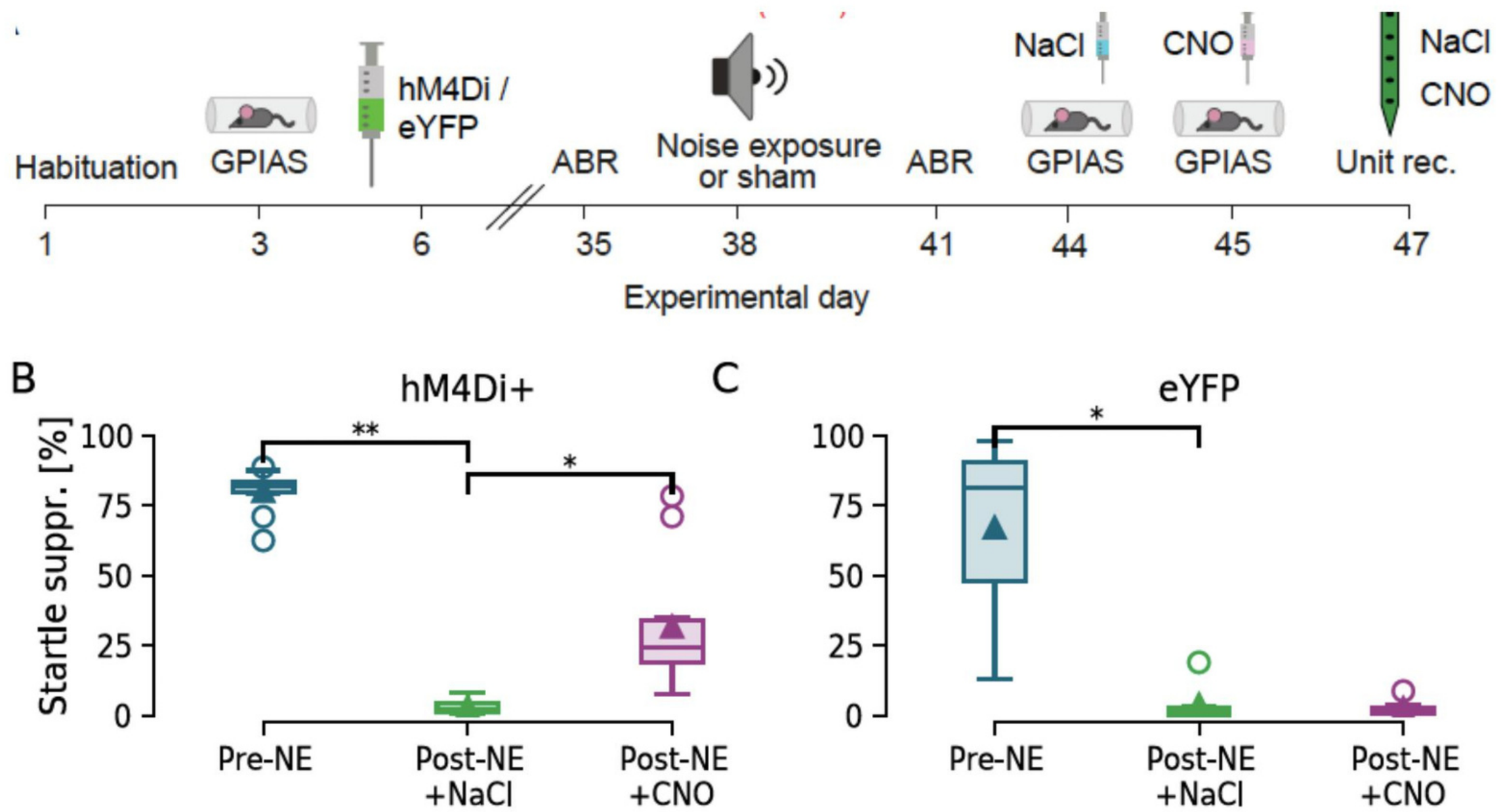


Figure 1. *Top*; Experimental timeline of chemogenetic experiments to test the contribution of the dorsal cochlear nucleus activity in a mouse model of noise-induced tinnitus. *Bottom*; The acoustic startle suppression by a silent gap in background noise was improved after inhibition of dorsal cochlear nucleus neurons expressing mutated inhibitory G-coupled proteins (hM4Di) when activated by clozapine-N-oxide (CNO), but no different in mice expressing control enhanced yellow fluorescent protein (eYFP). NE-noise-exposure; GPIAS- gap prepulse inhibition of acoustic startle; ABR- auditory brainstem response. (Malfatti et al., BMCbiology re-submission, pre-print bioRxiv)

tinnitus.

Many nuclei of the auditory pathway may be part of maintaining tinnitus. One area that is particularly interesting is the **auditory cortex**, as this is the most superficial area of the auditory system, that might be modulated using non-invasive techniques such as repetitive transcranial magnetic stimulation and/or transcranial direct current stimulation. The auditory cortex also provides feedback to all lower levels of the auditory system. Different subtypes of layer 5 and layer 6 pyramidal cells are part of the descending auditory system and if we can understand how different auditory cortex neurons are altered in noise-induced tinnitus, we might better understand mechanisms maintaining chronic tinnitus. Here, our lab has focused on two main types of layer 5 pyramidal cells, and using in vitro electrophysiological recordings we have seen that different subtypes are responding differently one week after a session of loud noise exposure (**Figure 2**). We found neurons, which are more likely to provide feedback to lower structures, to have reduce firing frequency, while neurons with a phenotype of projecting intra hemispherically to show increased firing frequency (Nogueira *et al.*, 2020). We are currently analyzing in vivo data to see if we can identify the same type of dual response from Ca2+ imaging using miniature microendoscopes (Winne *et al.*, 2021).

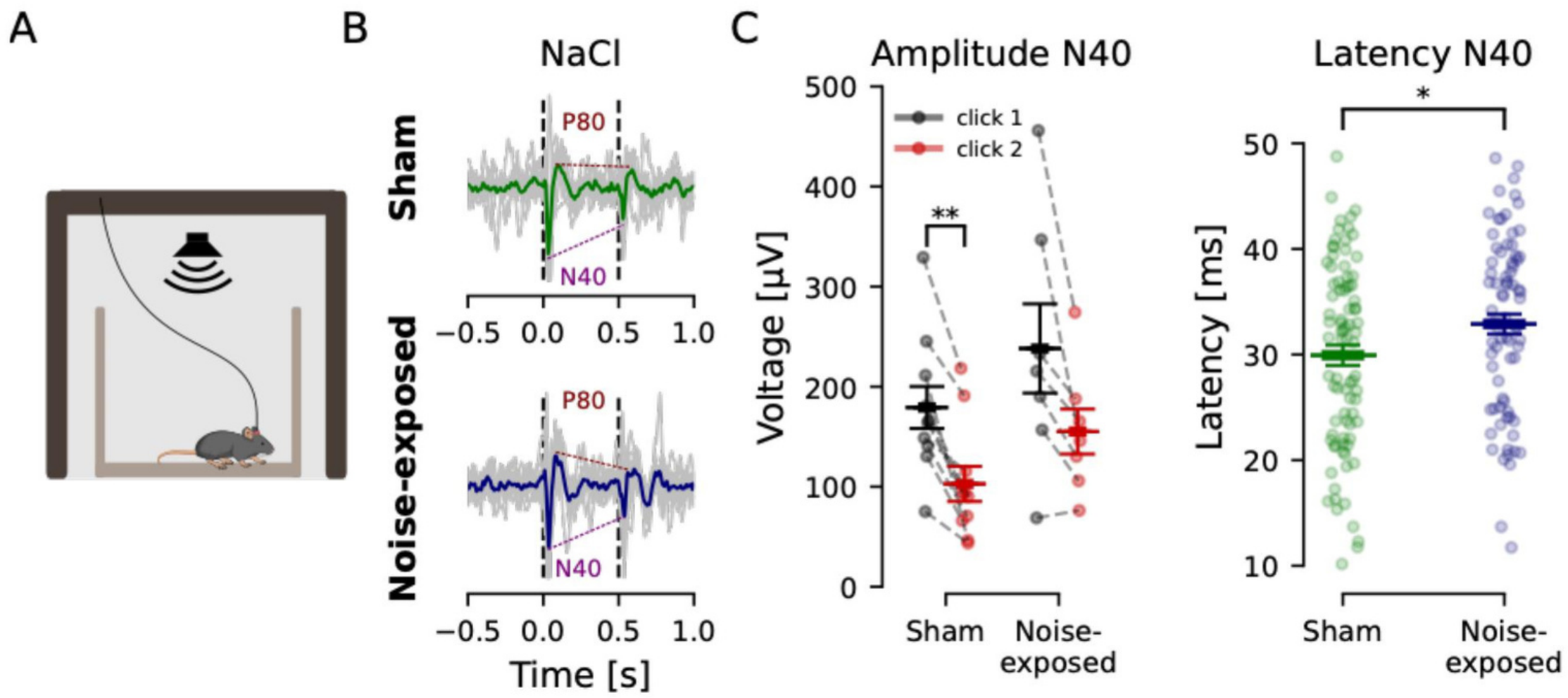


Figure 3. A) Experimental illustration of auditory event-related potentials to paired-click in wake freely moving mice . B) Average auditory event-related potentials from sham and noise-exposed mice showing the negative ~40ms peak and positive ~80ms peak, where the second N40 peak is always smaller than then first (sensory filtering/gating). C) Average N40 amplitude showing larger variability and smaller average difference in noise-exposed mice, and a larger latency to peak in noise-exposed mice. (Ciralli et al., Final preparation for submission).

induced tinnitus, results partially seen in patient studies, and pointed to neurotransmitter systems involved in regulating sensory filtering. Interestingly, there is a strong interaction between the cholinergic system and the endocannabinoid system that needs to be further investigated as we found sensory gating to be specifically improved by their combination in noise-exposed mice with behavioral signs of tinnitus.

The connection between **tinnitus and anxiety** has been shown both in humans and animal models of tinnitus. Still few studies use behavioral test to examine both parameters. As we have seen altered neuronal activity in the ventral hippocampus, showing increased theta 2 oscillations and center avoidance of the open-field test in a salicylate model of tinnitus (Winne et al., 2019), we wanted to expand behavioral studies of anxiety to a model of noise-induced tinnitus in awake mice. Here, we

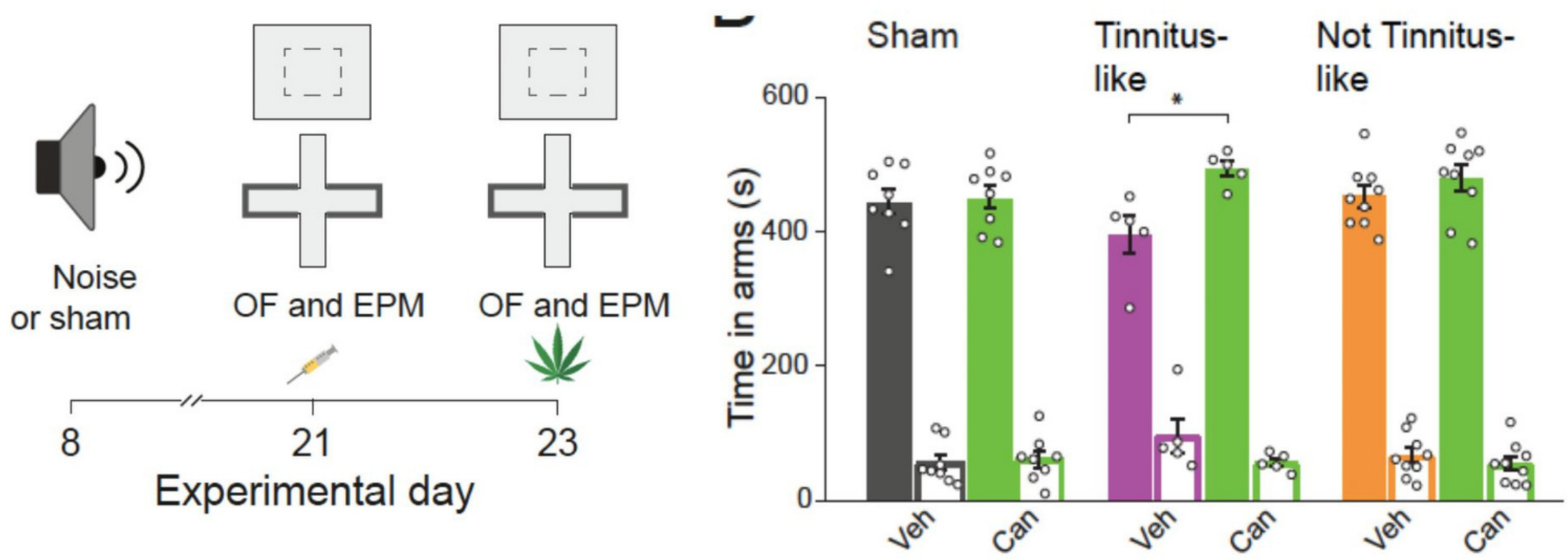


Figure 4. *Top*; Schematic of open field (OF) and elevated plus maze (EPM) test after injections of vehicle (sesame oil) and cannabis extract (containing 1mg/kg THC). *Bottom*; The tinnitus-like group increased time inside the closed (full color) arms after cannabis extract administration. (Diógenes et al., final preparation for submission).

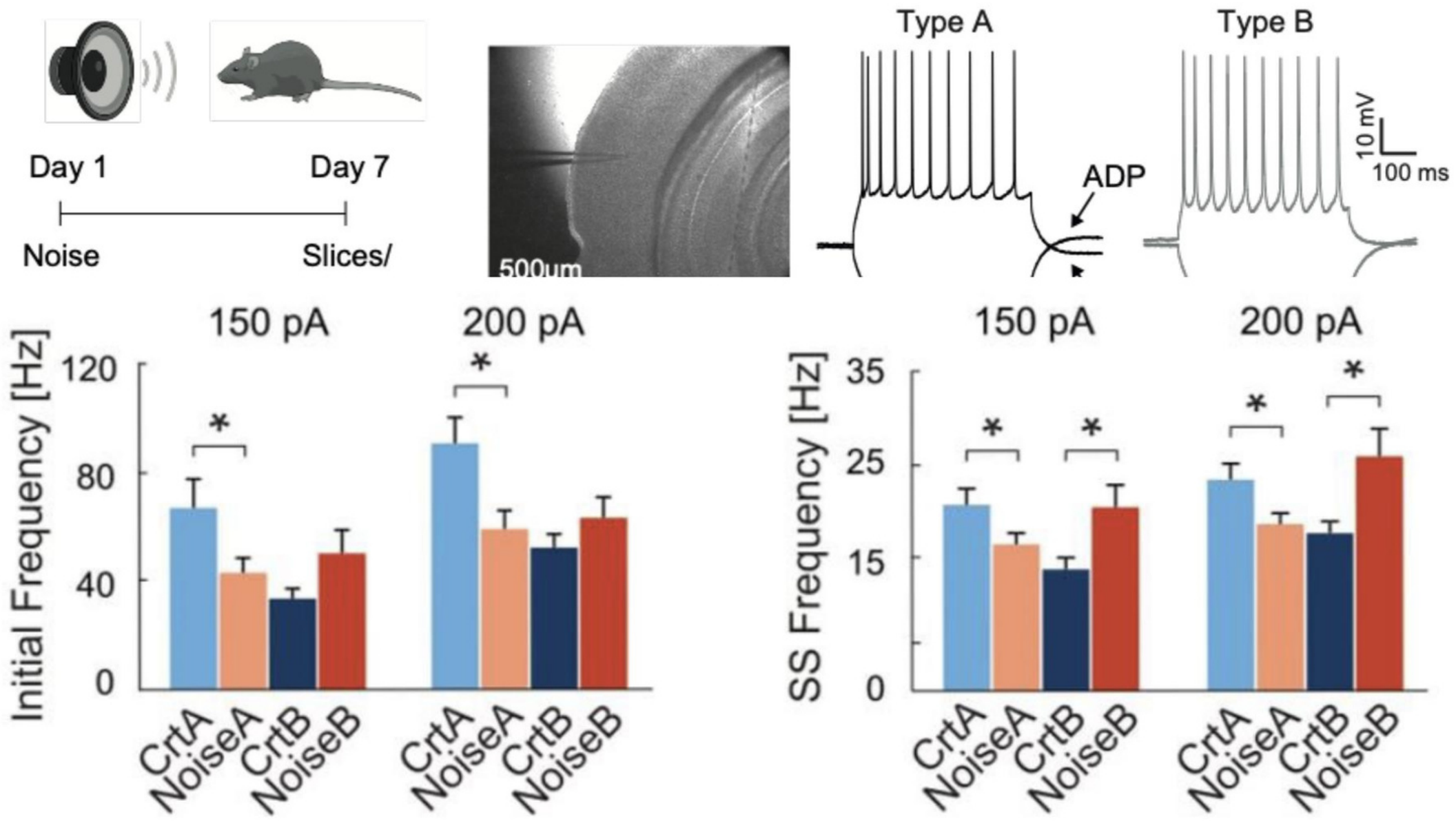


Figure 2. *Top*; Schematic of experiment, Noise-exposed mice were sacrificed one week later for whole-cell patch clamp experiments of layer 5 pyramidal neurons of the primary auditory cortex, and post-hoc sub classified into type A and type B pyramidal neurons based on the after depolarization (ADP) and afterhyperpolarization (AHP) magnitude. *Bottom*; Noise-exposure decreased average initial firing frequency of type A neurons while steady-state average frequency was lower in type A neurons while increased in type B neurons. (Nogueira et al., Final preparations submission, pre-print bioRxiv)

An important field of tinnitus research is the hunt for **biomarkers**, to clinically determine tinnitus, that today is done using questionnaires and patients comparing their internal perception of sound with external sounds of different frequencies and intensities. A genetic and/or electrophysiological biomarker would be extremely helpful to the clinic and patients feeling believed, but could also help distinguish different kinds of tinnitus and possible therapeutical targets for a certain auditory maladaptive plasticity having generated tinnitus.

Our lab has started to investigate possible electrophysiological biomarkers of tinnitus. First, we have examined auditory sensory gating, to see if such basic attentional computations are altered in tinnitus, as they have already been shown to be altered in schizophrenia. Using custom-made intra-hippocampal electrodes, chronically implanted to detect the phase reversal of signal in the dorsal hippocampus, we could identify subtle differences to the auditory event-related potentials in response to repetitive, randomized, paired-clicks. Mice subjected to loud noise 1,5 week before testing sensory gating showed a smaller gating ratio and larger latency of auditory event-related negative peaks (N40 events, **Figure 3**). These alterations were more striking after provoking the auditory system with drugs normally enhancing perception, such as nicotine (1mg/kg), and drugs related to dampening neuronal activity such as cannabis extracts (tetrahydrocannabinol; THC, 47mg/kg). This research has thereby shown potentials for electrophysiological biomarkers for noise-

found, also as shown by others, that not all noise-induced mice show signs of altered auditory perception (measured by the detection of a silent gap in an auditory startle test). However, only mice with a poorer "gap-detection" index showed increased anxiety in the open field and elevated plus maze test (**Figure 4**). More so, when testing anxiolytic or anxiogenic effects of cannabis extract, it was clear that a low dose of tetrahydrocannabinol (1mg/kg THC) was anxiogenic in noise-induced mice with putative tinnitus, but did not affect control, sham treated mice. This fist shows that anxiety test may help in evaluating noise-induced tinnitus models, and secondly, that the endocannabinoid system may be more active in subjects with noise-induced tinnitus, as sham treated mice did not show this altered sensitivity to cannabis extract.

In summary, the year of 2021 started with a publication in eNeuro on the use of cortical genetic markers for the dorsal cochlear nucleus and the optogenetic investigation of such tools (Malfatti, Ciralli, Hilscher, Edwards, *et al.*, 2021), while the year is ending with the finalizing of several manuscripts for submission. The main questions of tinnitus physiology remain far from understood but with each tedious step forward of basic science, we are moving closer to an understanding of the mechanism behind noise-induced tinnitus. Work only possible due to strong work ethics, independence and maturity of each graduate student, and, most important, the collaborative spirit between labs (especially the Neurodynamics lab and the Queiroz lab), and our international collaborators at the Uppsala university and Karolinska institute in Sweden.

Members of the Hearing and neuronal activity lab and Neurodynamic labs after the Christmas lunch 2019.

References:

Leao, K.E., Leao, R.N., Deardorff, A.S., Garrett, A., Fyffe, R., & Walmsley, B. (2010) Sound stimulation modulates high-threshold K(+) currents in mouse auditory brainstem neurons. *Eur. J. Neurosci.*, **32**, 1658–1667.

Malfatti, T., Ciralli, B., Hilscher, M.M., Edwards, S.J., Kullander, K., Leao, R.N., & Leao, K.E. (2021) Using Cortical Neuron Markers to Target Cells in the Dorsal Cochlear Nucleus. *eNeuro*, **8**, ENEURO.0413-20.2020.

Malfatti, T., Ciralli, B., Hilscher, M.M., Leao, R.N., & Leao, K.E. (2021) Chemogenetically decreasing activity of the dorsal cochlear nucleus can ameliorate noise-induced tinnitus in mice.

Nogueira, I., Winne, J., Lima, T.Z., Malfatti, T., Leao, R.N., & Leao, K.E. (2020) Loud noise exposure differentially affects subpopulations of auditory cortex pyramidal cells. *bioRxiv*, 2020.08.25.264200.

Winne, J., Boerner, B.C., Malfatti, T., Brisa, E., Doerl, J., Nogueira, I., Leão, K.E., & Leão, R.N. (2020) Anxiety-like behavior induced by salicylate depends on age and can be prevented by a single dose of 5-MeO-DMT. *Exp. Neurol.*, **326**, 113175.

Winne, J., Franzon, R., de Miranda, A., Malfatti, T., Patriota, J., Mikulovic, S., Leão, K.E., & Leão, R.N. (2019) Salicylate induces anxiety-like behavior and slow theta oscillation and abolishes the relationship between running speed and fast theta oscillation frequency. *Hippocampus*, **29**, 15–25.

Winne, J., Nascimento, G., Nogueira, I., Leao, R.N., & Leao, K.E. (2021) Calcium imaging and analysis of the mouse hippocampus or neocortex using miniature microendoscopes. *ArXiv211000609 Q-Bio*,.

Laboratório de Neurobiologia Celular

Mudanças na expressão gênica caracterizam uma infinidade de doenças humanas e têm sido usadas com sucesso para prever mecanismos moleculares e celulares associados a processos patológicos. A doença de Alzheimer é o tipo de demência mais prevalente e causa um declínio cognitivo progressivo, para o qual não há tratamento ou cura eficazes. Embora as análises de expressão gênica em doenças cerebrais sejam geralmente limitadas pela disponibilidade de tecido, diversos consórcios produziram dados de sequenciamento de RNA (RNAseq) a partir de amostras cerebrais post mortem de indivíduos saudáveis e com doença de Alzheimer. No entanto, uma descrição abrangente das alterações da expressão gênica no cérebro destes pacientes permanece indefinida.

Trabalhos recentes começaram a abordar esta lacuna importante no estudo da patologia da doença de Alzheimer usando sequenciamento de RNA de tecido cerebral (RNAseq) ou sequenciamento de RNA de células únicas (scRNAseq). No entanto, esses estudos têm se concentrado em amostras obtidas em diferentes regiões do cérebro, a saber, córtex pré-frontal dorsolateral5 e entorrinal, o que pode levar a discrepâncias importantes nos resultados. De fato, a patologia da doença de Alzheimer mostra um impacto progressivo em diferentes regiões do cérebro, caracterizadas nos estágios iniciais pela presença de inclusões de proteínas TAU no locus coeruleus, nas regiões transentorrinal e entorrinal (estágios I e II). Isso é seguido pela presença de inclusões TAU na formação do hipocampo e algumas partes do neocórtex (estágios III e IV), seguidas por grandes partes do neocórtex (estágios V e VI). Esta progressão temporal da patologia da doença de Alzheimer pode impactar de forma diferente a expressão gênica nessas áreas do cérebro.

De acordo com esta hipótese, um estudo recente mostrou que as alterações na expressão de proteínas são muito mais proeminentes em áreas afetadas em estágios iniciais e intermediários, como o hipocampo, córtex entorrinal e córtex cingulado no lobo temporal, em comparação com outras regiões cerebrais afetadas em estágios posteriores de Patologia da doença de Alzheimer, como córtex sensorial, córtex motor e cerebelo.

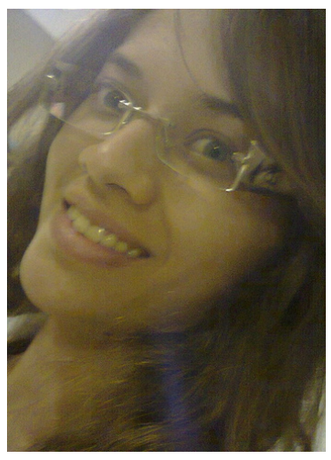
Outro aspecto importante a se considerar é a relevância descritiva da análise da expressão gênica baseada apenas na identificação de genes diferencialmente expressos (DEG), que falha em detectar dinâmicas na expressão de múltiplos transcritos relacionados. Recentemente, novas abordagens usando análise em nível de transcritos, permitem a identificação de splicing alternativo e mudanças de isoformas gênicas com previsão de consequências funcionais. Portanto, modificações importantes da expressão gênica no cérebro com doença de Alzheimer podem ocorrer no nível do transcrito e ser negligenciadas nas análises clássicas de expressão diferencia de genes.

Nós utilizamos três conjuntos de dados RNAseq disponíveis, gerados usando amostras de diferentes regiões do cérebro, para sondar sistematicamente as mudanças de expressão gênica a nível de isoformas e de gene na doença de Alzheimer. Além disso, nós utilizamos uma abordagem indireta para mapear alterações na expressão gênica no cérebro de pacientes com a doença de Alzheimer em tipos celulares únicos, permitindo a identificação de alterações em neurônios excitatórios ou inibitórios, astrócitos, oligodendrócitos, micróglia e células endoteliais. Entre as alterações da expressão gênica descritas em nosso estudo, encontramos genes causais e de risco da doença de Alzheimer, tais como APP e BIN1, respectivamente (Figura 1; Marques-Coelho et al., 2021)

Membros do Laboratório

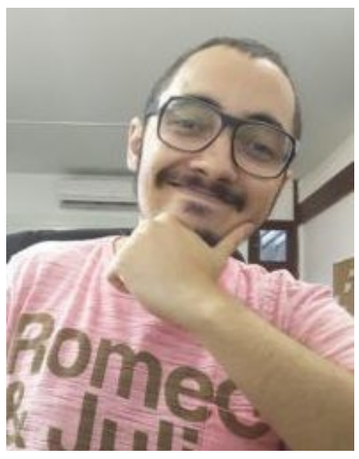
Marcos Romualdo Costa
Professor Adjunto
mrcosta@neuro.ufrn.br

Daniela Maria de Sousa Moura
Pós-doutoranda



Jéssica Alves de Medeiros Araújo
Doutoranda

Priscila Tavares Macêdo
Doutoranda



Diego Marques Coelho
Doutorando

Ana Raquel Melo de Farias
Mestranda

Lukas Iohan da Cruz Carvalho
Mestrando

Larissa Dayane Góes de Araújo
Mestranda

Juliana Alves Brandão Medeiros de Sousa
Colaboradora

Bruna Soares Landeira
Ex-membro

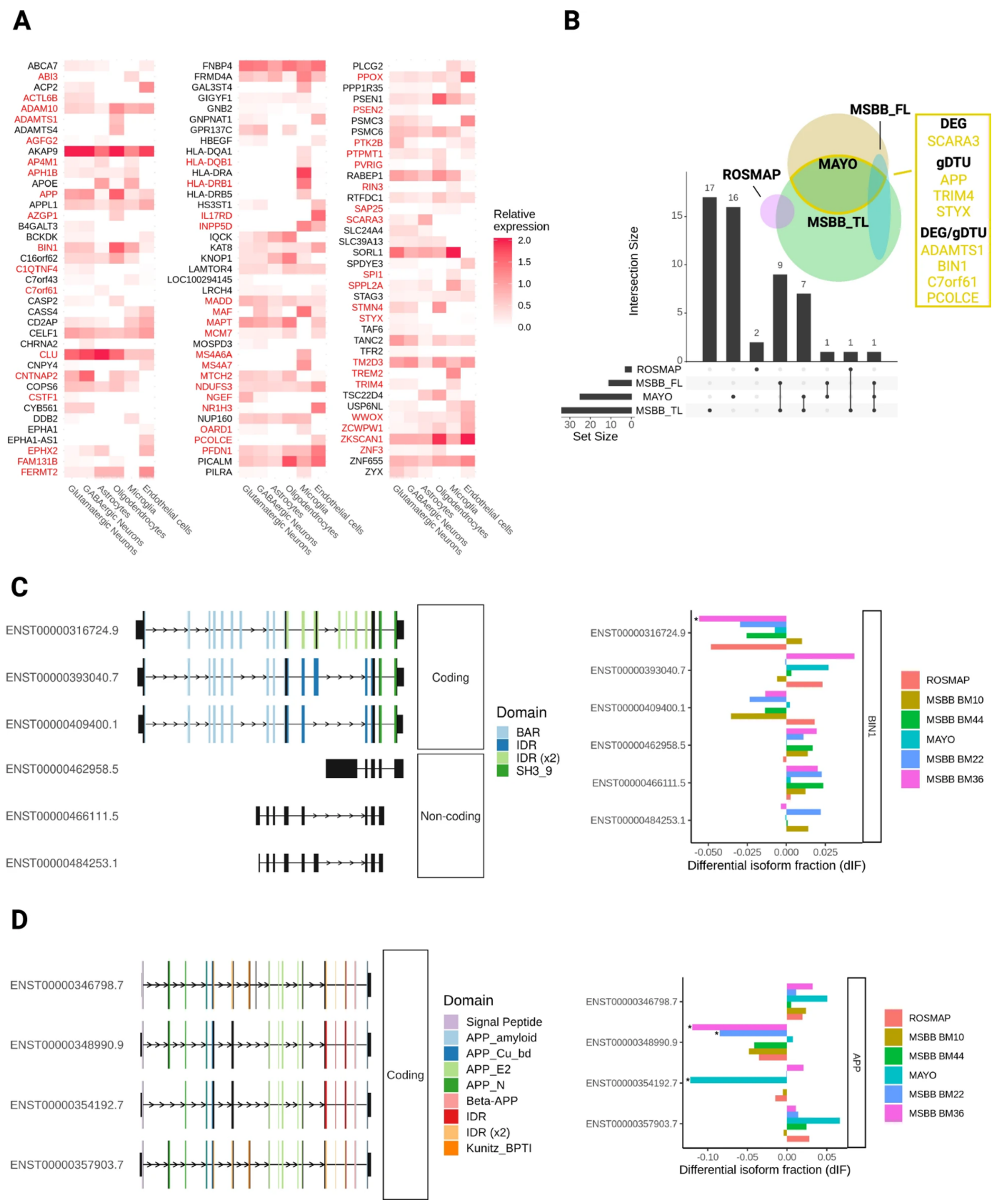


Figura 1: (A) Expressão de genes de risco/causais para DA em diferentes tipos de células do cérebro humano adulto. Gene diferencialmente expressos (DEGs) e genes com utilização diferencial de transcritos (gDTUs) identificados em pelo menos um dataset analisado em nosso estudo são destacados em vermelho. (B) Diagrama de Venn mostrando o número de genes de risco/causal de para a doença de Alzheimer identificados como DEGs ou gDTUs. (C) Representação das 6 isoformas de BIN1 (esquerda) e quantificação da fração diferencial de isoformas (dIF) em cérebros com doença de Alzheimer em comparação com os controles (direita). Os principais domínios de proteína são indicados com cores diferentes. (D) Representação semelhante para APP. * dIF> 0,05 e FDR> 0,01.

A isoforma de BIN1 significativamente afetada no cérebro de pacientes com doença de Alzheimer corresponde à isoforma 1, cuja expressão é predominantemente observada em neurônios. Utilizando células tronco de pluripotência induzida para gerar neurônios humanos geneticamente modificados para expressar isoformas específicas de BIN1, nós demonstramos que a ausência da proteína BIN1 em neurônios humanos afeta o processo de endocitose, que é uma das primeiras alterações citopatológicas observadas no cérebro de pacientes com a doença de Alzheimer. A reintrodução da isoforma 1 da proteína BIN1 em neurônios é suficiente para recuperar o efeito sobre o tamanho dos endossomas, mas quando esta isoforma é expressa em maiores quantidades nos neurônios, os endossomas ficam maiores e observamos sinais de neurodegeneração (Figura 2; Lambert et al., 2021). Nós também observamos que a reintrodução da isoforma 9 da proteína BIN1 (expressa ubiquamente) não é capaz de reverter as alterações observadas em neurônios knock-out para BIN1.

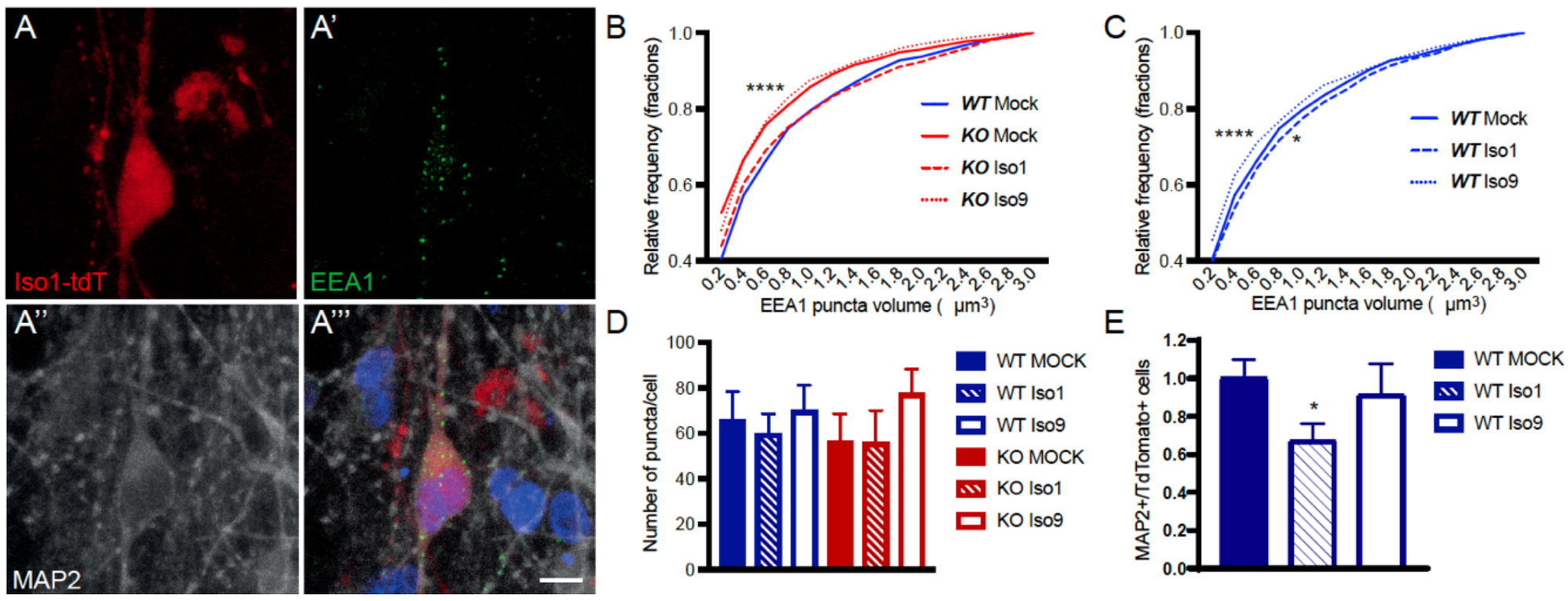


Figura 2: Resgate do volume de endossomos primários em neurônios knockout para BIN1 por transdução da Isoforma 1 de BIN1. (A) Imagens representativas de neurônios humanos induzidos (hiNs) BIN1 WT e KO marcadas com anticorpos contra tdTomato (vermelho, A), EEA1 (verde, A'), MAP2 (cinza, A'') e corado com DAPI (azul, A'''). (B) Gráfico que mostra a frequência de ocorrência de endossomos (EEA1 +) de vários tamanhos em hiNs BIN1 KO transduzidos com construções lentivirais tdT; BIN1iso1 (Iso1, linha vermelha longa), BIN1iso9 (Iso9, linha vermelha pontilhada) e Mock-tdT (linha vermelha sólida). BIN1 WT iNs introduzidos com Mock-tdt (linha azul sólida) é indicado para mostrar o efeito de resgate da construção BIN1iso1 (linha laranja) em neurônios mutantes nulos de BIN1. Teste de Kolmogorov-Smirnov seguido pela correção de Bonferroni: BIN1 WT + Mock vs BIN1 KO + Mock: **** Padj <0,0001; BIN1 WT + Mock vs BIN1 KO + iso9: Padj <0,0001; BIN1 KO + Mock vs BIN1 KO + Iso1: **** Padj <0,0001; BIN1 WT + Mock vs BIN1 KO + Iso1: Padj = 0,174; BIN1 KO + Mock vs BIN1 KO + Iso9: Padj = 0,207 (N = 3 culturas de células independentes). (C) Gráfico mostrando a frequência de ocorrência de endossomos EEA1+ de vários tamanhos em hiNs BIN1 WT transduzidos com construções lentivirais expressando tdTomato (tdT); BIN1iso1 (Iso1, linha longa azul), BIN1iso9 (Iso9, linha azul pontilhada) e Mock-tdT (linha azul sólida). Teste de Kolmogorov-Smirnov seguido de correção de Bonferroni: BIN1 WT + Mock vs BIN1 WT + Iso1: * Padj = 0,04; BIN1 WT + Mock vs BIN1 WT + Iso9: **** Padj <0,0001 (N = 3 culturas de células independentes). (D) Gráfico que mostra a quantificação do número de pontos EEA1 por célula em células transduzidas com construtos lentivirais marcados com tdT (N = 3 culturas de células independentes. Puncta / neurônio: BIN1 WT + Mock: 65,86 ± 12,78; BIN1 WT + Iso1: 59,75 ± 8,895; BIN1 WT + Iso9: 69,82 ± 11,42; BIN1 KO + Mock: 56,47 ± 12,27; BIN1 KO + Iso1: 55,65 ± 14,52; BIN1 KO + Iso9: 77,31 ± 11,04; p = 0,81, ANOVA F (5,90)) (E) Quantificação de neurônios MAP2 + / tdTomato + em células BIN1iso9- e BIN1iso1-transduzidas em relação às células Mock-transduzidas (N = 3 culturas de células independentes; N tdTomato + células: Mock = 468; BIN1iso1 = 193; BIN1iso9 = 103; ANOVA seguido por Teste de comparações múltiplas de Dunnett, ** p = 0,0289).

Estudos em andamento no nosso laboratório indicam que a proteína BIN1 também tem uma função importante na regulação da atividade elétrica neuronal e fosforilação da proteína TAU, duas alterações comumente observadas no cérebro de pacientes com a doença de Alzheimer.
Em conjunto, nosso trabalho demonstra que uma abordagem sistemática para assinalar genes de interesse em patologias humanas a partir de alterações da expressão gênica identificados por métodos de bioinformática, combinada às técnicas de manipulação da expressão gênica em células-tronco humanas e geração de neurônios humanos induzidos, permite-nos desvendar os processos biológicos potencialmente regulados por tais genes. No futuro, estes modelos podem ser também utilizados para estudarmos as vias de sinalização envolvidas nestes processos, com a potencial identificação de novos alvos terapêuticos.

Marques-Coelho D, Iohan L da CC, Melo de Farias AR, Flaig A, Letournel F, Martin-Négrier M-L, et al. Differential transcript usage unravels gene expression alterations in Alzheimer's disease human brains. npj Aging Mech Dis. 2021;7(1):2. Available from: https://doi.org/10.1038/s41514-020-00052-5
Lambert E, Saha O, Soares Landeira B, Melo De Farias AR, Hermant X, Carrier A, et al. The Alzheimer's disease genetic risk factor BIN1 induces isoform-dependent neurotoxicity through early endosome defects. Acta Neuropatholgica Communication, in press (preprint available from: https://doi.org/10.1101/2021.04.02.438184)

Behavioral Endocrinology Laboratory (BELab)

Hormones and behavioral relationships associated with the stress response, as well as the malfunction of this system, are investigated in our laboratory considering different approaches: (1) to validate the common marmoset (*Callithrix jacchus*) as an animal model to study depression-like behavior in adolescence; (2) investigate the neuroplastic effects of steroid hormones and psychological interventions in the outcome of mental disorders, with a focus on anxiety, depression and post-traumatic stress disorder.

Photo from 2018 of Ana Cecília Galvão, Nicole Galvão-Coelho (Co-PI), Maria Bernardete Sousa (PI), Geovan Sousa and Erick Silva.

(1) Are common marmosets good models for the study of depression before maturity, i.e. at juvenile age?

Working together with Prof. Nicole L. Galvão-Coelho and our undergraduate and graduate students, we were able to demonstrate that sex and age matter when the common marmosets were submitted to social privation at the juvenile stage of development to induce symptoms like depressive behavior (Sousa et al., 2015). As cortisol profile seems to be sexually dimorphic before adulthood, age and sex are critical variables to consider in approaches that require immature marmosets in their experimental protocols. We also show that available cognitive tests should be scrutinized to allow better investigation of cognitive traits in this species.

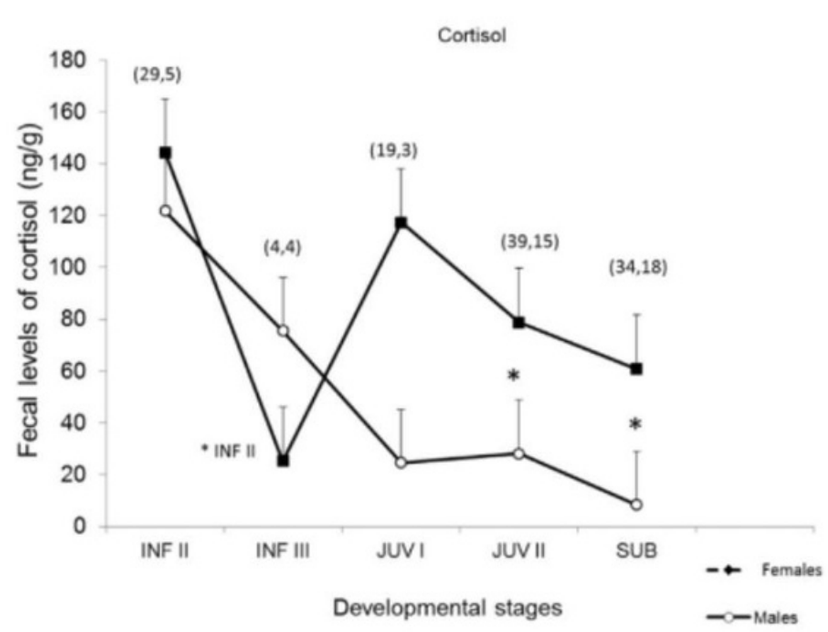


Figure 1 - Fecal cortisol in male (n = 4) and female (n = 6) common marmosets during the developmental stages regarding weight and age (INF = infant: I (0-1 month); II- (1-3 months); III (3-4 months); JUV = juvenile: I (4-7 months); II (7-10 months) SUB = sub-adult (10- 15 months). (Sousa et al., 2015).

Common marmoset (*Callithrix jacchus*) family group living in outdoor cages in the Laboratory for Advanced Primate Studies (LEAP) at UFRN (Sousa et al., 2015).

We also demonstrated that juvenile marmosets were responsive to two pharmacological treatments using nortriptyline (Galvão-Coelho et al., 2017) and Ayahuasca brew (da Silva et al., 2018). The purposes of these studies were to validate common marmosets as a translational model of juvenile depression, addressing all domain criteria of validation: etiologic, face, functional, predictive, inter- relational, evolutionary, and population. Following a social isolation protocol, we found that cortisol levels decrease after 4 weeks after isolation, concomitant with increases in autogrooming, stereotyped and anxiety

behaviors, as well as the presence of anhedonia (Galvão-Coelho, 2017) (Figure 2). These changes alterations are comparable to that seen for depressive state in other non-human primates and in humans. Most of these symptoms were reversed by treatment with an antidepressant drug (nortriptyline).

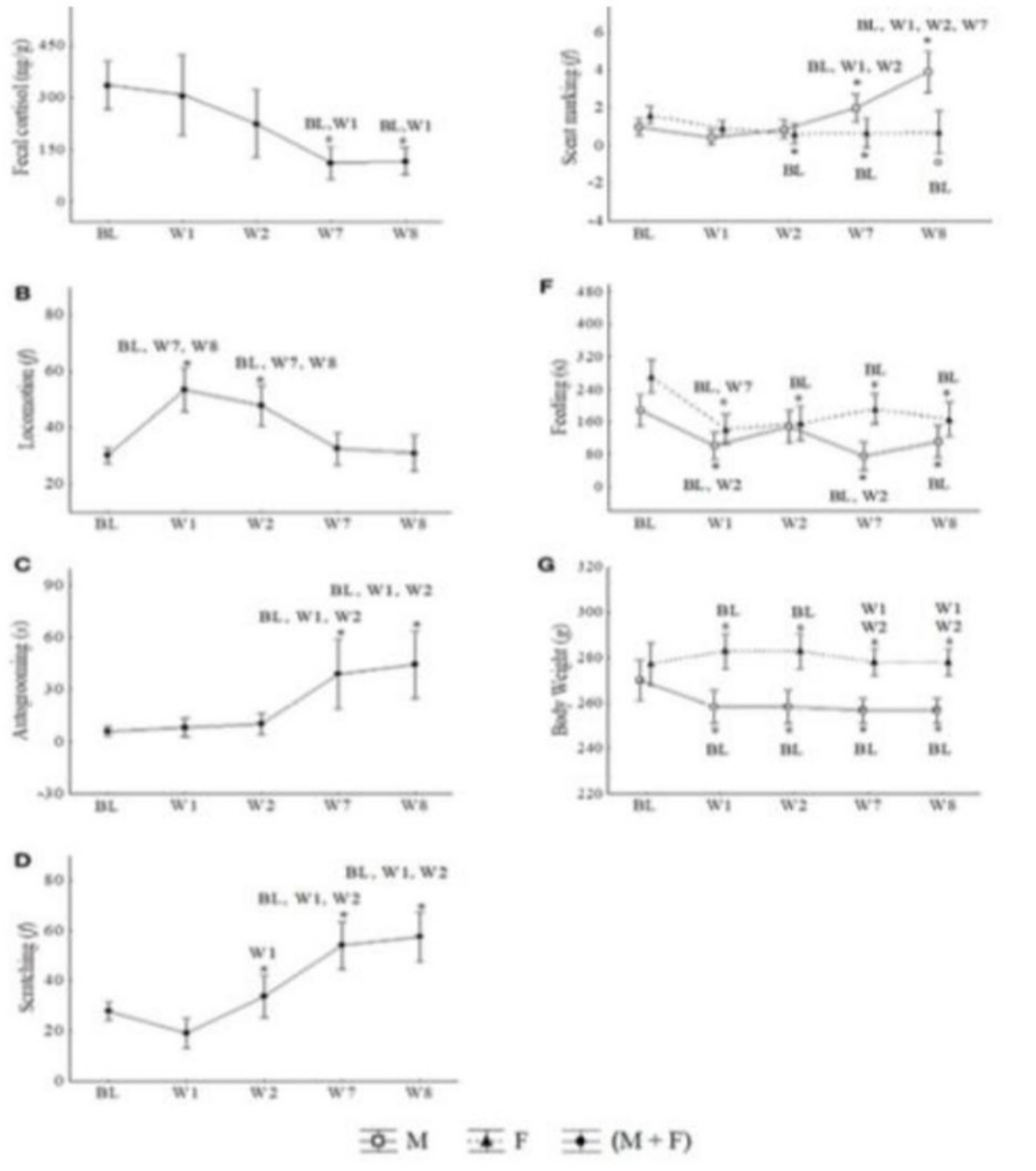


Figure 2 - Mean values of the week + SEM for (a) fecal cortisol, (b) locomotion, (c) autogrooming, (D) scratching, (e) scent marking, (F) feeding, and (g) body weight in male and females juveniles Callithrix jacchus along DPT (protocol for depression state + pharmacological treatment) in baseline (BL) and Isolated context (IC; W1, W2, W7, and W8). *Statistically significant ($p \leq 0.05$) differences between the phase in which the symbol is and the (s) phase (s) indicated next to the symbol; °statistically trend ($0.05 < p < 0.07$) of difference between the phase in which the symbol is and the phase indicated next to the symbol. General linear models and post hoc Fisher. (Galvão-Coelho et al., 2017)

In the same way, marmosets also show a rapid recovery, increasing cortisol from a hypocortisolemia produced by isolation, 24 h after an acute dose of Ayahuasca (see the experimental design in Figure 3). It was also observed a reduction in anxiety-like stereotypic behaviors (da Silva et al., 2018).

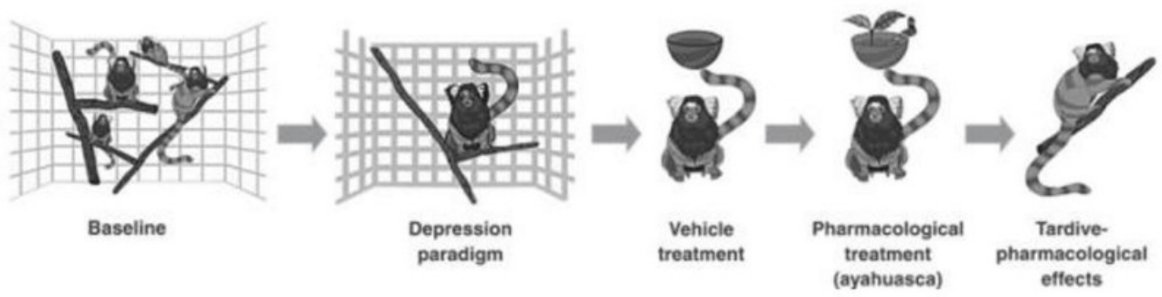


Figure 3 – Sequential experimental design involving 5 phases: (1) baseline (BL), 4 weeks; (2) depression paradigm, isolated social context (CI), 8 weeks; (3) vehicle treatment (VE), 1 week; (4) pharmacological treatment (HP), ayahuasca, 1 week; and (5) late pharmacological effects (tPE), measured over 1 week. Behavior, fecal cortisol levels and body weight were monitored at all stages (Da Silva et al., 2018).

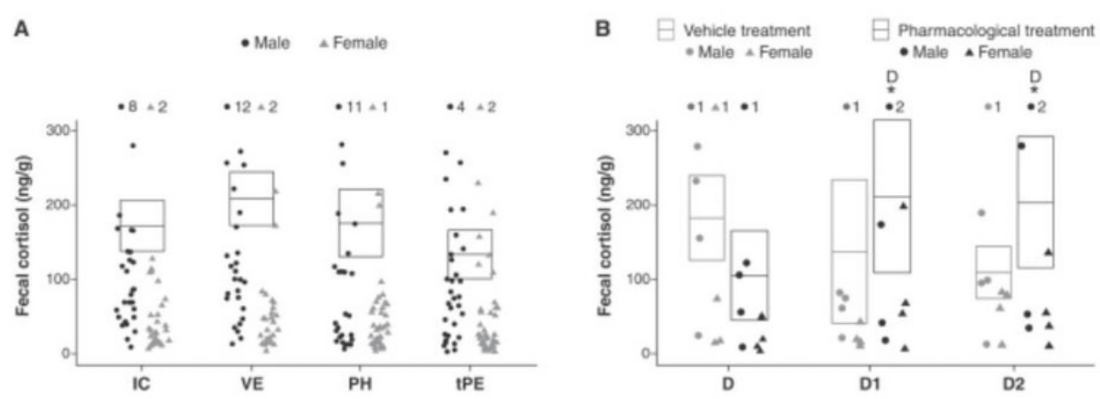


Figure 4 - Means ± standard error of the mean. A) fecal cortisol in IC, VE, PH, and tPE; B) fecal cortisol at treatment (D) day 1 (D1, 24 h) and day 2 (D2, 48 h) after vehicle and ayahuasca treatment. * Statistically significant ($p<0.05$),between respective phase and phase(s) indicated next to the symbol. IC = social isolated context; PH = pharmacological treatment (ayahuasca); tPE = tardive-pharmacological effects; VE = vehicle treatment.

These results lead our groups to propose that both captive and wild animals have specific adaptations that drive the common marmoset as an animal model to study psychopathologies associated with chronic stress (Sousa et al., 2021a).

(2) Is mindfulness training useful to attenuate anxiety state?

Photo of students from the Postgraduate Program in Neuroscience. From left to right Geovan Sousa, [Luiz Farias, postdoctoral student at the Postgraduate Program in Psychobiology], Geissy Lima-Araújo, Maria Bernardete Sousa (PI), Rafaela Lacerda, José MN Filho, Gleidson Rebouças and the Scientific Initiation scholarship student Martony Borges (2019).

Our laboratory is also interested in studying the pathophysiology associated with a malfunctioning stress response. In one randomized controlled trial coordinated by Geissy Lima-Araújo in her PhD study, we started to investigate, using non-invasive techniques, the health impact of mindfulness-based training in university students aged 18 to 30 years with no prior experience with meditation or yoga (Araújo, 2018; Sousa et al., 2021b). Forty participants (20 women) divided into two groups: Control (C) and Mindfulness Training (MT) (10 participants for each sex in each group) and we found two clusters of individuals showing low and high mindfulness trait (Figure 5) assessed by Five Facets of Mindfulness Questionnaire (FFMQ). Group differences between pre and postintervention are also shown for the facets of FFMQ (Figure 6). It was also shown that High Trait Mindfulness (HTM) individuals have lower trait anxiety, anxiety state, and perceived stress levels.

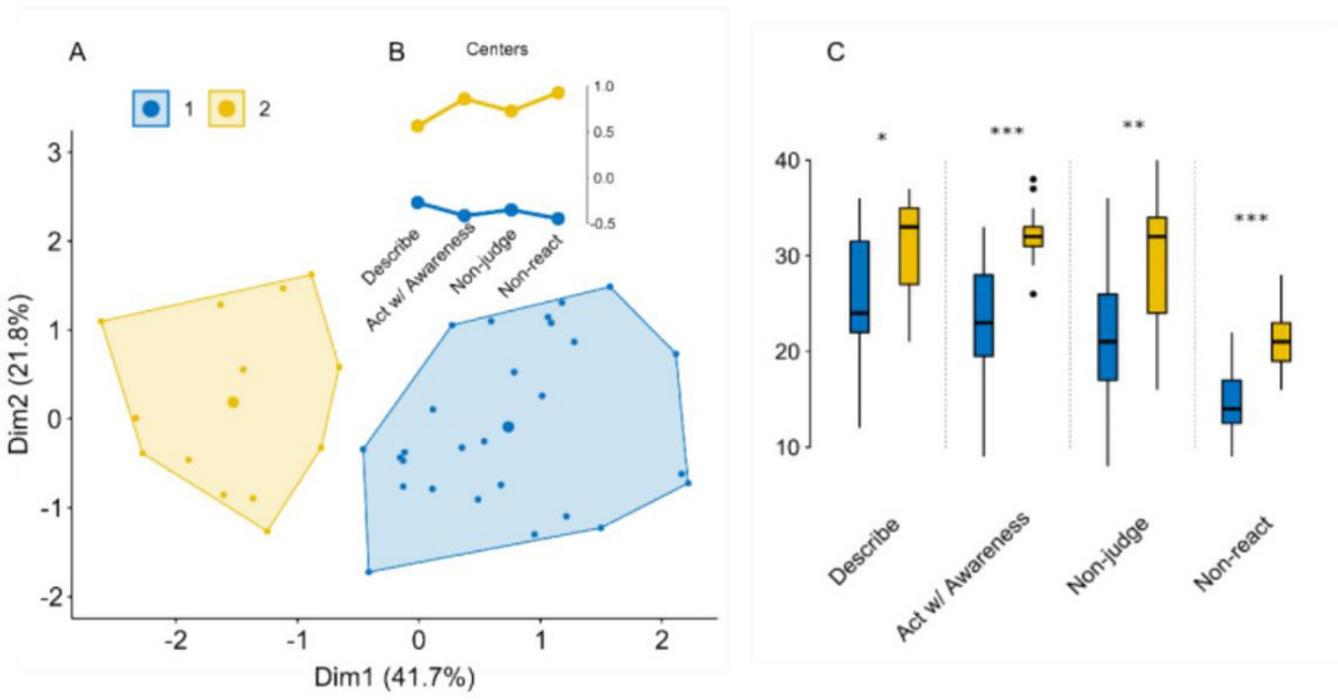


Figure 5. Cluster plot (A) and centers of grouping variables for each cluster (B), showing a clear separation between individuals with low (Cluster 1) from those with high mindfulness trait (Cluster 2). (C) Boxplots of FFMQ facets. Wilcoxon sum rank test showed that all facets are significantly different between clusters. *p≤ .05, **p≤ .01, ***p≤ .001. (Sousa et al., 2021b)

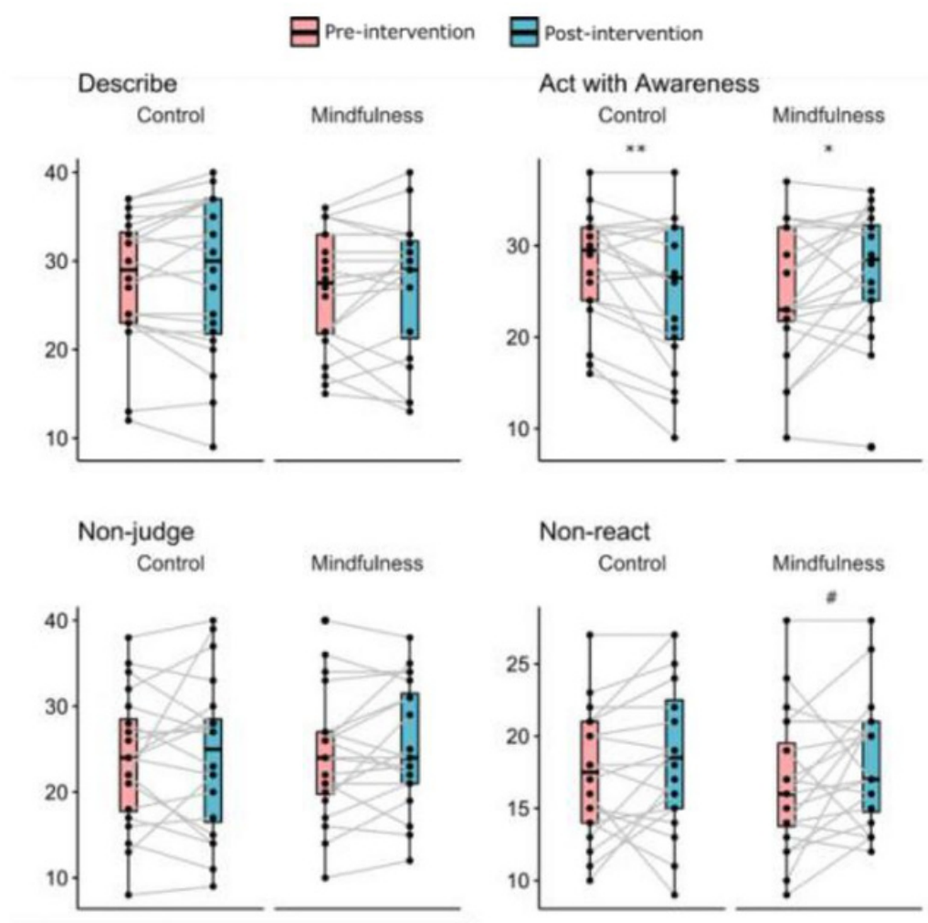


Figure 6. Facets of FFMQ before and after interventions for each group. For means and standard deviations, see Table 2. Mixed ANOVA test, #p≤ .10, *p≤ .05, **p≤ .01, ***p≤ .001.

Participants in the HMT group decrease both their anxiety state and perceived stress, increasing their mindfulness state when compared to the group C. Both groups reduced negative affect and cortisol, and no change was found in positive affect. Only in participants with HTM, anxiety state showed a reduction (Figure 5).

Further correlational analysis also shows that facets of the Five Facet Mindfulness Questionnaire appear to be important for the quality of attention in non-meditative university students in regulating the ongoing experience of anxiety. The non-judgmental facet moderated the relationship between observing and anxiety state. When this facet presents both moderate and high levels, the correlation is no longer positive (Sousa et al. in preparation to submission).

Other interesting result shows that a brief mindfulness training is sufficient to enhance interoceptive ability and this effect mediates the reduction of anxiety in participants after 3 days of 30 minutes mindfulness-based exercise (Lima-Araujo et al., In preparation to submission). Moreover, in collaboration with the department of Psychology at the University of Toronto-Canada, we replicated the same experimental design and found an important reduction of anxiety and depression levels, along with enhancement of mindfulness state in a non-clinical population (Lima-Araujo et al., In preparation).

References

Sousa MBC, Galvão ACM, Sales CJR, Castro DC and Galvão-Coelho NL (2015) Endocrine and Cognitive Adaptations to Cope with Stress in Immature Common Marmosets (Callithrix jacchus): Sex and Age Matter. Front. Psychiatry 6:160. doi: 10.3389/fpsyt.2015.00160

Galvão-Coelho NL, Galvão ACM, Silva FS and Sousa MBC (2017) Common Marmosets: A Potential Translational Animal Model of Juvenile Depression. Front. Psychiatry 8:175. doi: 10.3389/fpsyt.2017.00175

da Silva FS, Silva EAS, Sousa Jr. GM, Maia-de-Oliveira JP, Soares-Rachetti VP, de Araujo DB, et al. (2018) Acute effects of ayahuasca in a juvenile non-human primate model of depression). Braz J Psychiatry. http://dx.doi.org/ 10.1590/1516-4446-2018-0140

Araújo, Geissy Lainny de Lima. Efeitos psicofisiológicos de uma breve intervenção baseada em mindfulness em adultos jovens saudáveis. 2018. 106f. Tese (Doutorado em Neurociências) - Instituto do Cérebro, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2018. https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/26952

Sousa MBC, de Meiroz Grilo MLP and Galvão-Coelho NL (2021a) Natural and Experimental Evidence Drives Marmosets for Research on Psychiatric Disorders Related to Stress. Front. Behav. Neurosci. 15:674256. doi: 10.3389/fnbeh.2021.674256

Sousa GM, Lima-Araújo GL, Araújo DB, Sousa, MBC (2021b) Brief mindfulness-based training and mindfulness trait attenuate psychological stress in university students: a randomized controlled trial. BMC Psychology, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 21. http://dx.doi.org/10.1186/s40359-021-00520-x.

Sousa GM, Lima-Araújo GL, Araújo DB, Sousa, MBC (2021c) Non-judgment prevents positive correlation between Observe and state anxiety in healthy non-meditators. (Final form to be submitted submitted)

Lima-Araújo GL, Sousa GM, Mendes TMA, Demarzo MP, Farb N , Araújo DB, Sousa, MBC (2021) The Impact of a brief mindfulness training on interoception. (Final form to be submitted)

Nossos Estudantes

EGRESSOS DO DOUTORADO	DEFESA
JOAO MENDES DA ROCHA NETO	2012
WALID ABBAS EL AOUAR	2012
JULIO FRANCISCO DANTAS DE REZENDE	2012
MARLI DE FATIMA FERRAZ DA SILVA TACCONI	2012
ANA PATRICIA RODRIGUES LEITE	2012
RICHARD MEDEIROS DE ARAÚJO	2012
CARLOS EDUARDO CAVALCANTE	2012
ALBA DE OLIVEIRA BARBOSA LOPES	2013
ANA CRISTINA BATISTA DOS SANTOS	2013
ANTONIO RUFINO DA COSTA	2013
FERNANDO PORFIRIO SOARES DE OLIVEIRA	2014
GERALDO BEZERRA CAMPOS JUNIOR	2014
JOSUE VITOR DE MEDEIROS JUNIOR	2014
LUCIA DE FATIMA LUCIO GOMES DA COSTA	2014
MARCOS FERNANDO MACHADO DE MEDEIROS	2014
MELQUIADES PEREIRA DE LIMA JUNIOR	2014
SILVIA PIRES BASTOS COSTA	2014
CLÁUDIO MÁRCIO CAMPOS DE MENDONÇA	2015
FABIO RESENDE DE ARAUJO	2015
INGRID WILZA LEAL BEZERRA	2015
LENIN CAVALCANTI BRITO GUERRA	2015
LILIA ASUCA SUMIYA	2015
MARCIO MARREIRO DAS CHAGAS	2015
TICIANO MACIEL DAMORE	2015

Nossos Estudantes

DOUTORANDOS	INGRESSO
ANA RAQUEL MELO DE FARIAS	2018
ANA RAQUEL TORRES DE SANTANA	2018
ANDREA CAROLINE COSTA DE ARRUDA	2016
ANNARA YVE MOURA SOARES	2017
ANTONIO JHONES LIMA DA ROCHA	2022
BARBARA CIRALLI BOERNER	2018
BEATRIZ CARVALHO FROTA	2018
DAVI DRIESKENS CARVALHO DE CASTRO SÁ BARRETO	2016
DEBORA HASHIGUCHI	2019
ELIS BRISA DOS SANTOS	2020
IGOR RAFAEL PRAXEDES DE SALES	2017
INGRID NOGUEIRA SOUSA	2019
JHULIMAR GUILHERME DOERL	2018
JOHSEPH PABALLO GOMES DE SOUZA	2021
JOSÉ FIRMINO RODRIGUES NETO	2020
JOSEPH ANDREWS BELO ALVES	2018
JULIANA AVILA DE SOUZA	2018
LUCAS CAIÃ DE SOUZA TAVARES	2020
LUCAS DE MELO LIRA	2020
MARIA CAROLINA GONZALEZ	2019
MATHEUS FERNANDES FERREIRA	2018
PATRICK RAMON STAFIN COQUEREL	2020
PRISCILLA KELLY DA SILVA BARROS	2019
RAFAEL DOS SANTOS DE BESSA	2016
RODRIGO MARQUES DE MELO SANTIAGO	2018
SYLVIA LIMA DE SOUZA MEDEIROS	2020

Nossos Estudantes

MESTRANDOS	INGRESSO
ADRIANA FREIRE LAMARTINE	2022
AELTON SILVA ARAÚJO	2021
ANA LUIZA ALVES DIAS	2020
ANA LUIZA CAMPOS VILA REAL	2019
ANNA GABRIELY BARROSO DE SA	2022
BRUNO HENRIQUE DE LIMA SANTOS	2020
ISAAC CAMPOS BRAGA	2021
IZABELA LIMA PAIVA	2020
LUANA ADALICE BORGES DE ARAUJO LIMA	2021
MARIANA MUNIZ	2021
MIZZIARA MARLEN MATIAS DE PAIVA	2020
PEDRO DA COSTA MELLO NETO	2022
RAQUEL LÚCIA SOUTO DE ARAÚJO	2021
SAMANTHA DE FREITAS CAVALCANTE	2022
SARA DO NASCIMENTO MAIA	2019
THAIS PRISCILA LIMA SILVA	2021

Instituto do Cérebro ICe/UFRN

Avenida Senador Salgado Filho, 3.000
Campus Universitário, Lagoa Nova
CEP: 59078-900, Caixa Postal 1524
Natal/RN - Brasil
contato@neuro.ufrn.br
neuro.ufrn.br

Anuário Instituto do Cérebro

Diagramação: Laíza Felix de Aguiar
Imagens: Acervo ICe
(exceto capa e contracapa)
Capa e contracapa: Cícero Oliveira
(Agecom/UFRN)

UFRN
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
INSTITUTO DO
CÉREBRO