CURSO OPTATIVO: NEUROBIOLOGIA DA ANSIEDADE (RCG 268)

Docente responsável: Prof. Francisco Silveira Guimarães
Técnico responsável: Marcos Antonio de Carvalho
Referência básica: Canteras NS, Resstel LB, Bertoglio L, Carobrez AP, Guimarães FS. Neuroanatomy of Anxiety, In: Stein MB, Steckler T (Eds) Behavioral Neurobiology of anxiety and its treatment. Springer, Heildelber, 2010. Pp. 77-96.
Data: 11/12/2017 a 16/12/2017
Local: Sala de Seminários II do Departamento de Farmacologia (seminários e aula teórica) e laboratório do Docente (Prática)

Programa:
2ª feira (11/12/1207): 8:30-9:00: Reunião inicial e distribuição do material didático.
9:00-12:00: Introdução, Distúrbios de ansiedade e drogas ansiolíticas, modelos animais, estruturas cerebrais relacionadas à ansiedade (**Teórica**)
14:00-17:00: **Período de estudo (para preparo dos seminários)**
3ª feira (12/12/2017): 08:00-12:00: **Período de estudo (para preparo dos seminários)**
13:30-18:00: Efeitos do AP7 injetado na substância cinzenta periaquedutal de ratos submetidos ao labirinto em cruz elevado (lab- **Prática/seminário**). Imuno-histoquímica Fos e marcadores de plasticidade sináptica (demonstração). Filme sobre o papel da serotonina na ansiedade. Discussão sobre os resultados da prática. Validação de modelos animais
4ª feira: (13/12/2017): 8:30-12:00: **Seminário**: Apresentação de separatas:
- Adolphs R et al. Fear and the human amygdala. J Neuroscience 15:5879-5891, 1995. – 1 aluno
- Mobbs et al. When fear is near: threat imminence elicits prefrontal periaqueductal gray shift in humans. Science 317:1079-1083, 2007– 1 aluno
- Bechara A, Damasio H, Tranel D, Damasio AR. Deciding advantageously before knowing the advantageous strategy. Science 275:1293-1295, 1997. – 1 aluno
- Santarelli L et al. Requirement of Hippocampal Neurogenesis for the BehavioralEffects of Antidepressants. Science 301: 805-809, 2003- 1 aluno

14:00-17:00: **Período de estudo (para preparo dos seminários)**
5ª feira : (14/12/2017) 8:30-12:00: **Seminário**: apresentação e discussão de separatas (GABA, glutamato, NO, e canabinoides):
- Brandão ML et al. GABA mediation of the antiaversive action of minor tranquilizers. Pharmac Biochem Behav 16:397-402, 1982. – 1 aluno
- Aguiar DC, Guimarães FS. Blockade of NMDA receptors and nitric oxide synthesis in the dorsolateral periaqueductal gray attenuates behavioral and cellular responses of rats exposed to a live predator. J Neurosci Res. 87(11):2418-29, 2009. 1 aluno
- Lisboa SF, Reis DG, da Silva AL, Corrêa FM, Guimarães FS, Resstel LB. Cannabinoid CB1 receptors in the medial prefrontal cortex modulate the expression of contextual fear conditioning. Int J Neuropsychopharmacol. 13(9):1163-73, 2010. 1 aluno
- Campos AC1, Ortega Z, Palazuelos J, Fogaça MV, Aguiar DC, Díaz-Alonso J, Ortega-Gutiérrez S, Vázquez-Villa H, Moreira FA, Guzmán M, Galve-Roperh I, Guimarães FS. The anxiolytic effect of cannabidiol on chronically stressed mice depends on hippocampal neurogenesis: involvement of the endocannabinoid system. Int J Neuropsychopharmacol. 16(6):1407-19, 2013. 1 aluno

5ª. Feira: (15/12/2017) 14:00-17:00: Introdução a modelos clínicos de ansiedade. Serotonina e ansiedade (teórica/prática)
6ª. Feira: (16/12/2017) 8:30-11:00: Seminários (estresse e ansiedade)
- Iwata M, Ota KT, Li XY, Sakaue F, Li N, Dutheil S, Banasr M, Duric V,Yamanashi T, Kaneko K, Rasmussen K, Glasebrook A, Koester A, Song D, Jones KA,Zorn S, Smagin G, Duman RS. Psychological Stress Activates the Inflammasome via Release of Adenosine Triphosphate and Stimulation of the Purinergic Type 2X7 Receptor. Biol Psychiatry. 80(1):12-22, 2016. 2 alunos
- Gárate I, Garcia-Bueno B, Madrigal JL, Caso JR, Alou L, Gomez-Lus ML, Micó JA, Leza JC. Stress-induced neuroinflammation: role of the Toll-like receptor-4 pathway. Biol Psychiatry. 73(1):32-43, 2013. 2 alunos

12:00-....: **avaliação!**

CURSO OPTATIVO: NEUROBIOLOGIA DA ANSIEDADE (RCG 268)

Roteiro Prático: **Injeção intracerebral de drogas e efeito ansiolítico do AP-7 (ácido 2-amino-7-fosfonoheptanoico) microinjetado na substância cinzenta periaquedutal.**

Animal: ratos machos Wistar, 200-250 g
Drogas: tribromoetanol (2,5%), AP-7 (2 nmol/0,2 µl), Pentabiótico, Banamine
Material: Estereotáxico para animais de pequeno porte, Microseringa Hamilton de 10 µl, Polietileno PE-10, Cânula de 12 mm comprimento e 0,7 mm diâmetro externo (feita a partir de agulha calibre 30G), Agulhas hipodérmicas, Agulha de uso odontológico (Mizzi), Acrílico autopolimerisável, Motor tipo Dremel, Labirinto em cruz com 2 braços abertos (50 x 10 cm) em perpendicular com 2 braços de mesma dimensão mas cercados por paredes de 40 cm de altura. O labirinto elevado 50 cm do solo, Salina estéril, Bomba injetora, Cronômetros

Seqüência:
Na primeira parte os animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica pra implantarem unilateralmente cânula na substância cinzenta periaquedutal dorsolateral, seguindo os procedimentos descrito abaixo:
1. Anestesiar o rato com tribromoetanol (10 ml/kg) e fixar ao estereotáxico;
2. Expor cirurgicamente o lambda;
3. Perfurar o crânio 1,9 mm lateral ao lambda;
4. Introduzir a cânula 4 mm em ângulo de 16 graus.;
5. Fixar a cânula ao crânio com auxílio de acrílico autopolimirizável e parafusos de ancoragem.
6. Injetar 0,2 ml I.M. de pentabiótico + antiinflamatório banamine (2,5 mg/kg)
7. Aguardar de5-7 dias para experimentos comportamentais.

Na segunda parte, foram realizados os seguintes passos:
1. Dividir os animais em dois grupos, que receberão, respectivamente, as drogas A ou B.
2. Injetar cada animal com 0,2µl (em 30 s) da droga A ou B.
3. Após a injeção aguardar mais 30 s com a agulha na cânula (para evitar refluxo) e colocar o animal por 10 min em caixa isolada.
4. Ao término deste período colocar o animal por 5 min no labirinto em cruz elevado, com a face voltada para um dos braços fechados. Este experimento foi realizado em 2008 e os animais filmados.
A prática envolverá a análise, pelos alunos, dos resultados obtidos. Para isso será utilizado o programa Anymaze, com o objetivo de registrar o número de entradas e tempo dispendido nos braços fechados e abertos. A partir destes dados o programa irá calcular a freqüência de entradas e tempo despendido nos braços abertos em relação ao total (100 x aberto/(aberto + fechado)).
5. Ao final, quebrar o código do experimento, representar os dados em gráficos de barras e analisar estatisticamente os resultados (o programa fará isso também para vocês)

Referências

Guimarães, F.S.; Carobrez, A.P.; de Aguiar, J.C.; Graeff, F.G. (1991) Anxiolytic effect in the elevated plus-maze of the NMDA receptor antagonist AP7 microinjected into the dorsal periaqueductal grey. Psychopharmacology 103:91-94.