

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO - ÁREA DE FARMACOLOGIA - FMRP-USP

Disciplina: **RFA-5709 - NEUROPSICOFARMACOLOGIA I - (3s, 5c)**

Docentes Responsáveis: **Dr. Felipe Vilela Gomes (FVG), Dr. Francisco Silveira Guimarães (FSG)**

Colaboradores: **Dr. Leonardo B. Resstel (LBR), Dra. Alline Cristina Campos (ACC), Dr. Sabrina Francesca Lisboa (SFL), Dra. Amanda Sales (AS), Fabiana Zuelli (FZ)**

Apoio Técnico: **Marcos Antonio de Carvalho**

Período: **11/3/2019 a 27/3/2019**

PROGRAMA

DIA	HORÁRIO	TEMA	DOCENTES	LOCAL
11/3/2019 2ª feira	14:00 – 18:00	T – Introdução ao Curso T – Antipsicóticos	FSG/ FV	SS 2
12/3/2019 3ª feira	8:00-12:00 14:00 - 18:00	PE P – Antipsicóticos	FSG, FV	LD
13/3/2019 4ª feira	8:30 – 12:00	S – Antipsicóticos. Discussão da Prática e Separatas 1 a 4	FSG/ FV	SS 2
14/3/2019 5ª feira	8:30 - 11:00 14:00 -15:00 15:00 -18:00	T – Antidepressivos T- Mecanismos epigenéticos e doenças psiquiátricas PE	FSG AS	SS 2
15/3/2019 6ª feira	8:30 - 11:00 14:00-18:00	P – Efeito da imipramina no nado forçado S – Antidepressivos. Discussão da Prática e Separatas 5 a 8	FSG/FVG	LD SS 2
18/3/2019 2ª feira	8:30 - 12:00 14:00-15:30 16:00-17:00	T – Ansiolíticos T - Mediadores inflamatórios e transtornos psiquiátricos T - Mediadores inflamatórios e esquizofrenia	FSG SFL FZ	SS2 SS2
19/3/2019 3ª feira	14:00 - 17:00	T - Efeito de psicofármacos sobre condicionamento Pavloviano	LBR	SS 2
20/3/2019 4ª feira	8:30 - 12:00 14:00 – 18:00	T - Mecanismos de dependência PE	FSG	SS 2
21/3/2019 5ª feira	8:30-12:00	S – Adicção a drogas. Discussão das Separatas 9 a 12	FSG/ FV	SS 2
22/3/2019 6ª feira	8:30-12:00 14:00 – 18:00	P – Ansiolíticos S – Ansiolíticos. Discussão da Prática e Separatas 13 a 16	FSG/ FV FSG/LBR/FV	LD SS 2
25/3/2019 2ª feira	8:30 - 12:00 14:00-18:00	T - Métodos moleculares empregados em Neuropsicofarmacologia (CRISP, optogenética) PE	ACC	SS 2
26/3/2019 3ª feira	PE	PE		
27/3/2019 4ª feira	14:00-17:00	Avaliação	FSG/ FV	SS 2

LOCAL: Aulas Teóricas e Seminários: Sala Seminários 2 (SS 2) da Pós-Graduação/Farmacologia

Aulas Práticas: Laboratório do Docente (LD), PE: período de estudo

Referências Gerais:

- Graeff, F.G.; Guimarães, F.S. Fundamentos de Psicofarmacologia. 2ª. Edição. Editora Atheneu, São Paulo, 2012.
- Marsden WN. Synaptic plasticity in depression: molecular, cellular and functional correlates. *Progress Neuro-Psychop Biol Psychiatry* 43:168-84, 2013.
- Kapur S. How antipsychotic become anti-‘psychotic’- from dopamine to salience to psychosis. *TIPS* 25:402-406, 2004.
- Racagni G., Popoli M. Cellular and molecular mechanisms in the long-term action of antidepressants *Dialogues Neurosci* 10:385-400, 2008.
- Leonard BE, Maes M. Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression. *Neurosci Biobeh Rev.* 36: 764-785, 2012
- Paparelli A, Di Fiori M, Morrison PD, Murray RM. Drug-induced psychosis: how to avoid star gazing in schizophrenia research by looking at more obvious sources of light. *Frontiers Behav Neurosci* 2011 5:1-9.
- Harmer CI, Duman RS, Cowen PJ. How do antidepressants work? New perspectives for refining future treatment approaches. *Lancet Psychiatry* jan 30, 2017
- Dinan TG, Cryan JF. The microbiom-gut-brain axis in health and disease. *Gastroenterol Clin N Am* 46:77-89, 2017

Referências para os Seminários

1. Carlsson, A.; Lindqvist, M. (1963) Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methyl tyramine and nor-metanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol* 20:140-144.
2. Kelly, P.H.; Seviour, P.W.; Iversen, S.D. (1975) Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus accumbens septi and corpus striatum. *Brain Res.* 94:507-522.
3. Farde L, Wiesel F-A, Halldin C, Sedvall G (1988). Central D2-dopamine receptor occupancy in schizophrenic treated with antipsychotic drugs. *Arch Gen Psychiatry* 45:71-76.
4. Robertson, G.S.; Fibiger, H.C. (1991) Neuroleptics increase c-Fos expression in the forebrain: contrasting effects of haloperidol and clozapine. *Neuroscience* 46:315-328.
5. Glowinski, J.; Axelrod, J. (1964) Inhibition of uptake of tritiated noradrenaline in the intact rat brain by imipramine and structurally related compounds. *Nature* 204:1318-1319.
6. Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, Weisstaub N, Lee J, Duman R, Arancio O, Belzung C, Hen R. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressant. *Science* 2003;301:805-9.
7. Delgado PL, Charney DS, Price LH, Aghajanian GK. (1990) Serotonin function and the mechanism of antidepressant action. *Arch Gen Psychiatry* 47:411-418.
8. Li Naxin, Liu R-J, Dwyer J, Banasr M, Lee B, Son H, Li X-Y, Aghajanian G, Duman RS. Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure. *Biol Psychiatry*, 2011
9. Pettit, H.O.; Etenberg, A.; Bloom, F.E.; Koob, G.F. (1984) Destruction of dopamine in the nucleus accumbens selectively attenuates cocaine but not heroin self-administration in rats. *Psychopharmacology* 84:167-173.
10. Boileau I, Dagher A, Leyton M, Gunn RN, Baker GB, Diksic M, Benkelfat C. Modeling sensitization to stimulants in humans (2006) *Arch Gen Psychiatry* 63:1386-1395.
11. LaPlant Q, Vialou V, Covington HE 3rd, Dumitriu D, Feng J, Warren BL, Maze I, Dietz DM, Watts EL, Iñiguez SD, Koo JW, Mouzon E, Renthal W, Hollis F, Wang H, Noonan MA, Ren Y, Eisch AJ, Bolaños CA, Kabbaj M, Xiao G, Neve RL, Hurd YL, Oosting RS, Fan G, Morrison JH, Nestler EJ. Dnmt3a regulates emotional behavior and spine plasticity in the nucleus accumbens. *Nat Neurosci.* 13(9):1137-43, 2010.
12. Marsicano G, Wotjak C, Azad SC, B et al. (2002) The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. *Nature* 418: 531-534.
13. Squires, R.F.; Braestrup, C. (1977) Benzodiazepine receptors in rat brain. *Nature* 266:732-734.
14. Löw K, Crestani F, Keist R, Benke D, Brüning I, Benson JA, Fritschy JM, Rulicke T, Bluethmann H, Mohler H, Rudolph U. Molecular and neuronal substrate for the selective attenuation of anxiety. *Science* 290:131-134, 2000.
15. Schutz, M.T.B.; de Aguiar, J.C.; Graeff, F.G. (1985) Anti-aversive role of serotonin in the dorsal periaqueductal gray matter. *Psychopharmacology* 85:340-345.

16. Campos AC, 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*. 2013 Jul;16(6):1407-19.

Critérios de avaliação: participação nas práticas e seminários, relatórios das práticas e **prova final** de conhecimentos.

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA
DISCIPLINA: RFA-709 - NEUROPSICOFARMACOLOGIA I

Docente Responsável: Prof.Dr. Francisco Silveira Guimarães (FSG)

Apoio Técnico: Marcos Antonio de Carvalho

Período: 06/3/2017 a 23/3/2017

Roteiro Prático:

1. Efeitos Farmacológicos de antipsicóticos

Animal: 20 ratos machos, 250-300 g

30 camundongos suíços, machos, 20-30 g

Drogas: Solução fisiológica, Solução de apomorfina 3 mg/ml, Solução de haloperidol 0,5 mg/ml, Solução de haloperidol 0,05 mg/ml (para camundongo), Solução de diazepam 0,2 mg/ml

Material: Seringas de 1 ml, Agulhas hipodérmicas, 20 gaiolas de arame, 30 bastões de vidro com suporte de madeira, fita adesiva, 3 Cronômetros

Seqüência: A. Bloqueio da estereotipia por apomorfina

1. Dividir os 20 ratos em dois grupos de 10 animais.
2. Injetar, por via i.p., um grupo com 0,5 mg/kg de haloperidol e outro com volume equivalente de salina.
3. Após 40 min da injeção, administrar em todos os animais 3 mg/kg de apomorfina i.p.
4. Observar os ratos aos 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 e 90 min após a injeção de apomorfina, avaliando o comportamento estereotipado de acordo com a tabela abaixo. Esse comportamento consiste de movimentos repetitivos e ritmados, sem objetivo aparente, como cheirar, morder e verticalizar.

GRAU DE ESTEREOTIPIA

- 0) O animal não apresenta estereotipia
- 1) O animal cheira e movimenta-se pela gaiola
- 2) O animal cheira e lambe as barras da gaiola, movimentando-se
- 3) O animal morde as barras da gaiola, movimentando-se
- 4) O animal morde intensamente as barras da gaiola, sem movimentar-se
- 5) O animal morde intensamente, permanecendo em posição vertical

B. INDUÇÃO DE CATALEPSIA

1. Dividir os 30 camundongos em grupos de 10 animais, colocando-os em caixas separadas.
2. Injetar i.p., um grupo com 0,5 mg/kg (volume: 10 ml/kg) de haloperidol, outro com 2 mg/kg de diazepam, e o terceiro com volume equivalente de salina.
3. Após 40 min das injeções, medir o tempo de catalepsia por um período de 100 min. Para medir a catalepsia, colocar as patas dianteiras dos animais em um bastão de vidro a 4,5 cm da bancada, levando as patas traseiras ao balcão de maneira que o animal fique em posição quase vertical. Anotar o tempo, em segundos, que o animal fica nessa posição. Repetir o processo imediatamente após o animal deixar a posição imposta, até completar três tentativas ou até um tempo máximo de 5 min. Repetir a medida a cada 20 min, até completar 100 min.

Tratamento dos dados

- A- 1. O grau de estereotipia deverá ser representado em gráfico (curvas) comparativo, utilizando a mediana e intervalo interquartil.
- 2. Fazer comparações estatísticas entre a droga e o controle, utilizando teste não paramétrico.
- B- 1. O tempo de catalepsia deverá ser representado em gráficos (LINHAS) comparativo, utilizando média e erro padrão.
- 2. Comparar os dados utilizando teste paramétrico. Caso não ocorra homogeneidade de variâncias, os dados deverão ser transformados em seus respectivos logaritmos, com a adição da constante 1.

Referências

- 1. CA Jones, DJG Watson and KCF Fone. Animal models of schizophrenia Brit J Pharmacol 164:1162-1194, 2011
- 2. Nestler EJ, Hyman SE. Animal models of neuropsychiatric disorders. Nature Neurosc 13: 1161-69, 2010
- 3. Guimarães FS, Moreira FA, Zuardi AW. Medicamentos antipsicóticos. Em: GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. Fundamentos de Psicofarmacologia. 2a. Edição. Editora Atheneu, São Paulo, 2012, pp. 93-1120.

2. Efeito da imipramina no teste do nado forçado

Animal: 16 camundongos suíços machos, 20-25 g

Drogas: solução de imipramina..... 3 mg/ml

Solução veículo

Obs. As soluções serão apresentadas como solução A e B. A identificação das mesmas será realizada ao final do experimento.

Material:

Seringas de 1 ml

Agulhas hipodérmicas

2 recipientes de vidro de 25 cm de altura e 10 cm de diâmetro

Cronômetros

Toalha para secar os animais

Balança para pesar os animais

Seqüência:

1. Injetar i.p. as soluções A (8 animais) ou B (8 animais) no volume de 10 ml/kg e anotar o horário de cada injeção.
2. 30 minutos após a administração de droga, colocar os animais para nadar, individualmente, por 6 minutos nos recipientes de vidro contendo 10 cm de água ($24 \pm 1^\circ\text{C}$).
3. Durante os últimos quatro minutos de nado, anotar o tempo que o animal permanece imóvel na água (i.e., não se debatendo e só fazendo pequenos movimentos para se manter flutuando).
5. Ao final do experimento, quebrar o código para verificar os tratamentos administrados.
6. Apresentar gráficos de barras com a média e EPM do tempo de imobilidade nos dois tratamentos. Comparar os grupos com teste paramétrico.

Referência

1. Nestler EJ, Hyman SE. Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nature Neurosci* 13: 1161-69, 2010
2. Guimarães FS. Medicamentos utilizados no tratamento dos transtornos afetivos. Em: GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. *Fundamentos de Psicofarmacologia*. 2a. Edição. Editora Atheneu, São Paulo, 2012, pp. 121-164.

3. 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 autopolimerizável, 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. Anestésiar 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 autopolimerizável e parafusos de ancoragem.
6. Injetar 0,2 ml I.M. de pentabiótico + antiinflamatório banamine (2,5 mg/kg)
7. Aguardar de 5-7 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 0,2 µl (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 despendido nos braços fechados e abertos. A partir destes dados o programa irá calcular a frequência 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 e calcular, para cada animal, a frequência de entradas e tempo despendido nos braços abertos em relação ao total (100 x aberto/(aberto + fechado)).

6. Tratamento dos dados: Representar através de gráficos de barras as médias (+/- E.P.M.) dos efeitos dos tratamentos nos dois parâmetros acima calculados e no número absoluto de entradas nos braços fechados. Realizar a análise estatística dos dados utilizando teste paramétrico.

Referências

- File, S.E. (1992) Behavioural detection of anxiolytic action. In: Elliott, J.M.; Heal, D.J.; Marsden, C.A. (eds.) Experimental approaches to anxiety and depression. John Wiley, pp.25-44.
- 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.
- Graeff FG, Zangrossi Jr. H. Animal models of anxiety. In: D'haenen H, den Boer JA, Willner P. *Biological Psychiatry*. John Wiley & Sons, 2002. pp.879-893.
- Graeff. Medicamentos antiansiedade. Em: GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. *Fundamentos de Psicofarmacologia*. 2a. Edição. Editora Atheneu, São Paulo, 2012, pp. 165-204.