

CURSO OPTATIVO: NEUROBIOLOGIA DA ANSIEDADE (RCG 268)

Docente responsável: Prof. Francisco Silveira Guimarães

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, Heidelberg, 2010. Pp. 77-96.

Data: 07/12/2020 a 11/12/2020

2ª feira (7/12/2020): 9:00-12:00: Teórico: Introdução: o que é ciência? Neurobiologia das emoções. Função de modelos em ciência. Como apresentar um seminário científico? Como fazer um pôster? Como fazer uma revisão da literatura?

Tarefa: fazer uma revisão da literatura no PubMed

3ª feira (8/12/2020): 09:00-12:00: Teórico: Ansiedade normal vs patológica, modelos animais, os sistemas de defesa

Tarefa: análise do comportamento no labirinto em cruz elevado: Efeitos do AP7 injetado na substância cinzenta

4ª feira (9/12/2020): 09:00-11:00: Discussão da prática. Teórico: Mecanismos neuroplásticos: neurogênese, remodelamento, neuroinflamação, microbiota

Tarefa: Assistir vídeo GloboCiência e responder às escalas de auto-avaliação de ansiedade

5ª feira (10/12/2020): 9:00-12:00: Introdução a modelos clínicos de ansiedade. Serotonina e ansiedade (teórica/prática)

6ª. Feira (11/12/2020): 9:00-13:00: Canabinoides e ansiedade

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 μ l), Pentabiótico, Banamine

Material: Estereotáxico para animais de pequeno porte, Microseringa Hamilton de 10 μ l, 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 λ ;
3. Perfurar o crânio 1,9 mm lateral ao λ ;
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 μ l (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, 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.