

6.

Experimento2: Efeito do pentilenotetrazol na resposta de pulos e corridas induzida pela microinjeção de NMDA na matéria cinzenta periaquedutal dorsal

6.1.

Materiais e Métodos

6.1.1.

Animais

Conforme descrito no experimento 1.

6.1.2.

Equipamento

Foi utilizado o campo aberto com a função de quantificar as respostas de saltos e corridas emitidas pelo animal através da ação do NMDA na MCPD; para elevação da ansiedade no animal foi utilizado o pentilenotetrazol. O comportamento dos animais foi observado através de um sistema de câmera interna, suas imagens passadas e gravadas diretamente no computador. Para microinjeção foi utilizada uma seringa Hamilton de 5.0 µl, tubo de polietileno (PE50 e PE10) para condução do NMDA e uma agulha gengival (13.5mm) para ser introduzida na cânula guia.

6.1.3.

Drogas

Foi utilizado o pentilenotetrazol (*Sigma, USA*). Antes da injeção, o PTZ foi diluído em água destilada e injetado intraperitonalmente (15.0 mg/kg i.p.) e NMDA (*Sigma, St. Louis, USA*).

6.1.4.

Cirurgia

Conforme descrito no Experimento 1.

6.1.5.

Procedimento

Os ratos já submetidos à cirurgia para o implante da cânula, depois de 5 dias de recuperação cirúrgica, foram divididos em 2 subgrupos (Salina – NMDA; PTZ - NMDA) . Um subgrupo de animais foi o grupo controle e recebeu uma solução salina (0,9%), ministrada intraperitonealmente, enquanto o segundo subgrupo também receberia da mesma forma o pentilenotetrazol (PTZ; 15.0 mg/kg i.p.). Os animais, antes do início do experimento, foram colocados em gaiolas habitat individuais para inoculação da droga citada acima (os animais foram injetados com PTZ 5 minutos antes da exposição ao campo aberto). Somente depois deste tempo os mesmos foram colocados no campo aberto e microinjetados com NMDA na MCPD onde permaneceram por 30 min, e seus comportamentos de corridas e saltos verificados.

6.2.

Resultados Comportamentais

-Frequência de corridas

A tabela 2. ilustra os resultados do experimento 2. O teste de *Mann whitney* mostrou diferenças significantes no número de corridas ($U = 21$; $P = 0,001$) entre o grupo Salina-NMDA e grupo PTZ-NMDA. A quantidade de corridas do grupo salina-NMDA foi superior ao do grupo PTZ-NMDA.

-Tempo de corridas

O teste de *Mann whitney* mostrou diferenças significantes no tempo de corrida ($U = 7,5$; $P < 0,001$) entre o grupo Salina-NMDA e grupo PTZ-NMDA. O tempo de corrida do grupo Salina-NMDA foi superior ao do grupo PTZ-NMDA.

-Frequência de pulos

O teste de *Mann whitney* mostrou diferenças significantes no número de pulos ($U = 25$; $P = 0,002$) entre o grupo Salina-NMDA e PTZ-NMDA. O número de pulos do grupo Salina-NMDA foi superior ao do grupo PTZ-NMDA.

Tabela 2. Mediana dos comportamentos de correr e pular de ratos tratados com injeção intracerebral de NMDA (0,3 µl) e pentilenotetrazol intraperitonal (15.0 mg/kg i.p.).

Tratamento	Salina	Pentilenotetrazol
Frequência de corridas		
NMDA Intracerebral	3,0 (0-7)	0,0 (0-4)
Frequência de pulos		
NMDA Intracerebral	5,5 (0-25)	0,0 (0-3)
Tempo gasto correndo (s)		
NMDA Intracerebral	20,0 (0-71)	0,0 (0-6)

6.4.

Análises estatísticas

Uma Análise não paramétrica (Kruskal-Wallis) foi utilizada para detectar diferenças significativas entre as quatro amostras do experimento 1. No caso de diferenças estatisticamente significantes, utilizou-se o teste de Mann-Whitney para comparações *post hoc*. Utilizou-se o teste Mann Whitney para detectar diferenças significativas entre as duas amostras do experimento 2. O nível de significância adotado nos testes foi de $p < 0,05$.