

INTRODUÇÃO

As memórias de medo são essenciais para a sobrevivência. A evocação destas memórias em contextos inadequados, no entanto, pode estar relacionada ao desenvolvimento de distúrbios psiquiátricos. Dessa forma, a extinção - uma forma de aprendizado na qual se inibe a evocação de uma memória previamente adquirida através da sobreposição de uma nova memória - pode ser útil para restringir a expressão de memórias de medo às situações adequadas. A hipótese de *synaptic tagging and capture* (STC) sugere que sinapses no hipocampo que estão sob a fase precoce da potenciação de longa duração (LTP) são marcadas molecularmente e, assim, podem capturar proteínas relacionadas à plasticidade (PRPs), produzidas em resposta a outras LTPs, e então passar para a fase tardia de LTP, mais duradoura. A indução de STC pelo comportamento é denominada *behavioral tagging*. Uma vez que estes processos foram demonstrados em diversos tipos de memórias, investigamos se a memória de extinção também está sujeita a *behavioral tagging*.

OBJETIVO

Investigar a ocorrência de *behavioral tagging* no processo de extinção de memória aversiva.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais e cirurgias: Ratos Wistar machos (3 meses de idade, 300-320 g), acondicionados em caixas-moradia com quatro animais, sob um ciclo claro/escuro de 12/12 horas, com comida e água *ad libitum* foram anestesiados com cetamina na dose de 75 mg/kg e xilazina na dose de 10mg/Kg e submetidos à cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas na região CA1 do hipocampo dorsal (CA1; coordenadas AP -4,2mm, LL +/- 3mm e DV -2mm).

Drogas utilizadas: 5,6-dicloro-1-β-D-ribofuranosil-benzimidazol (DRB, 8 ng/lado), inibidor de transcrição gênica; anisomicina (80 µg/lado), inibidor de síntese proteica e rapamicina (5 µg/lado), inibidor da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR, proteína cinase reguladora da síntese proteica).

Protocolos experimentais: para a formação de uma memória aversiva foi utilizada a tarefa comportamental de *Condicionamento Contextual ao Medo (CFC)* (protocolo descrito nas legendas das figuras 1 e 2). Para avaliar o efeito da exposição à novidade os animais foram expostos a um *Campo Aberto (OF)*, uma caixa de madeira pintada de branco de 50cm x 50cm x 40cm com a parede frontal de vidro.

RESULTADOS

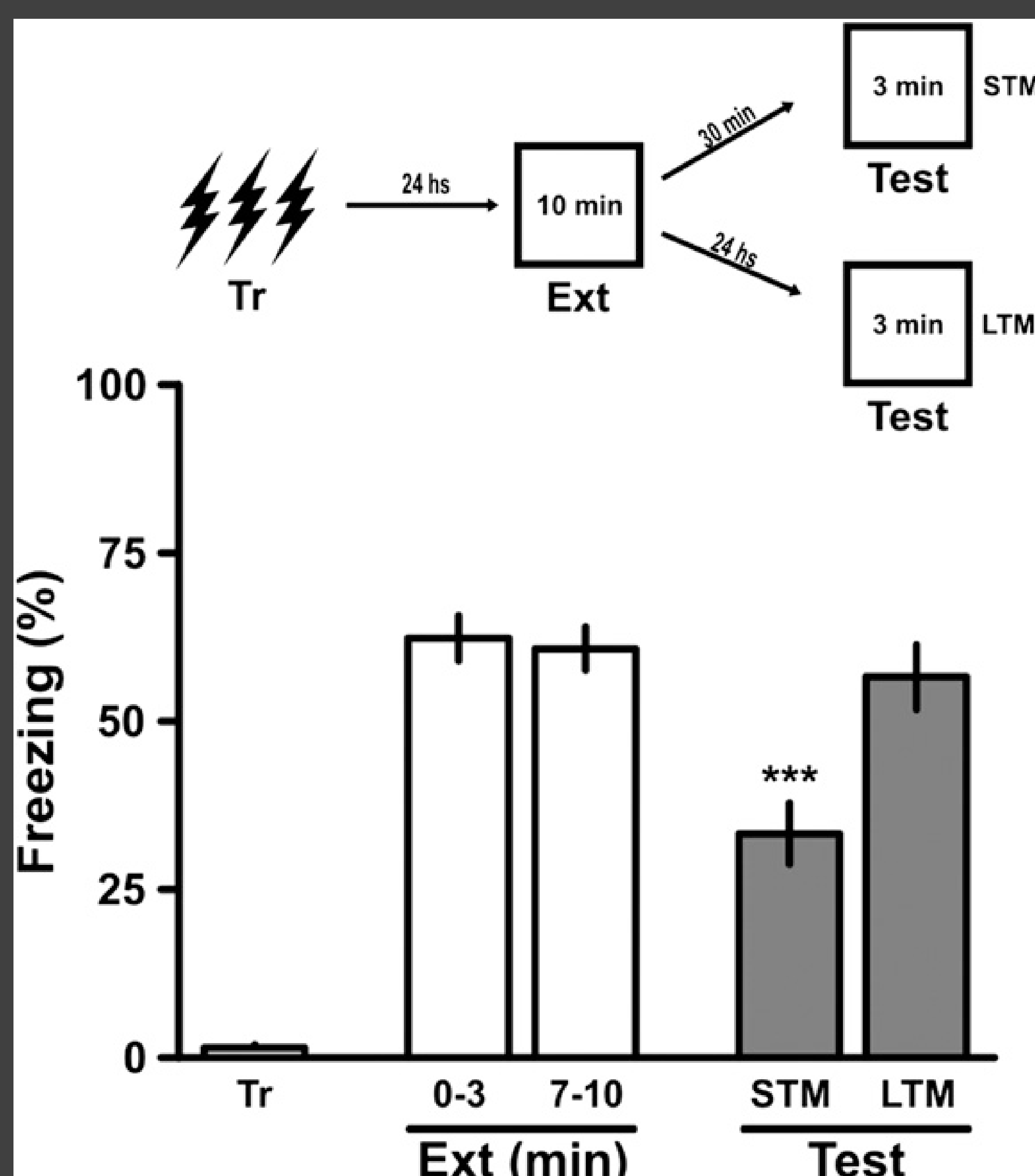


Figura 1 – Sessão fraca de extinção é capaz de formar memória de curta duração mas não de longa. Ratos foram treinados na tarefa de CFC, sendo submetidos a três estímulos elétricos (0,5 mA, 2 s) nas patas, separados por intervalos de 30 s. Depois de 24 h, foram reexpostos ao mesmo aparato para uma sessão fraca de extinção com duração de 10 min, sem estímulo aversivo. Após 30 min (STM) ou 24 h (LTM) foram submetidos a uma sessão de teste com duração de 3 min. Verificou-se que os animais formaram STM, mas não LTM, do aprendizado de extinção. Dados são apresentados como média e erro padrão médio (SEM) da porcentagem de tempo de imobilidade. ***P<0,001 em relação aos 3 últimos minutos da sessão de extinção, ANOVA de uma via seguido de teste de Newman-Keuls. (Acima) Representação esquemática do protocolo comportamental utilizado.

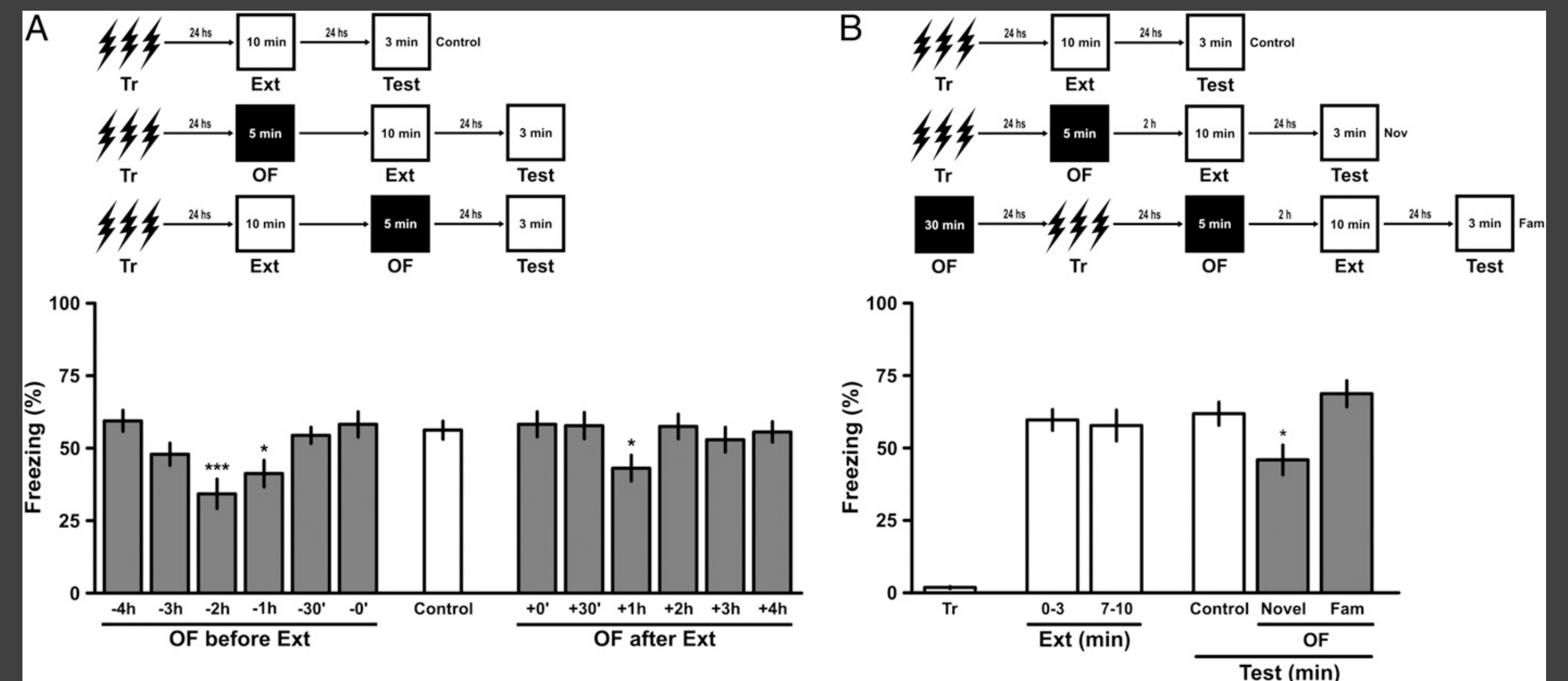


Figura 2 – Novidade apresentada antes ou depois da sessão fraca de extinção induz a formação de LTM. Ratos foram treinados na tarefa de CFC, sendo submetidos a três estímulos elétricos (0,5 mA, 2 s) nas patas, separados por intervalos de 30 s. 24h após, os animais foram expostos (barras acinzentadas) ao OF 0 min a 4h após a sessão fraca de extinção ou não foram expostos ao OF (barra branca). Quando o OF é apresentado 1 h ou 2 h antes ou 1 h depois da extinção o tempo de imobilidade é significativamente reduzido, configurando a formação de memória de longa duração; em outros intervalos de tempo a exposição a novidade não resultou em diferença significativa em relação ao controle. O gráfico B compara o efeito da exposição ao OF em animais nunca expostos a este ambiente e em animais previamente expostos (Fam). Novamente, apenas quando o OF é apresentado pela primeira vez há a indução da formação de LTM para a extinção; a exposição ao OF familiar não causou efeito significativo. Dados são apresentados como média e SEM da porcentagem de tempo de imobilidade. *P<0,05 em relação aos controles ou ao grupo exposto ao OF familiar em ANOVA seguida de teste de Newman-Keuls. n= 11 ou 12 animais por grupo.

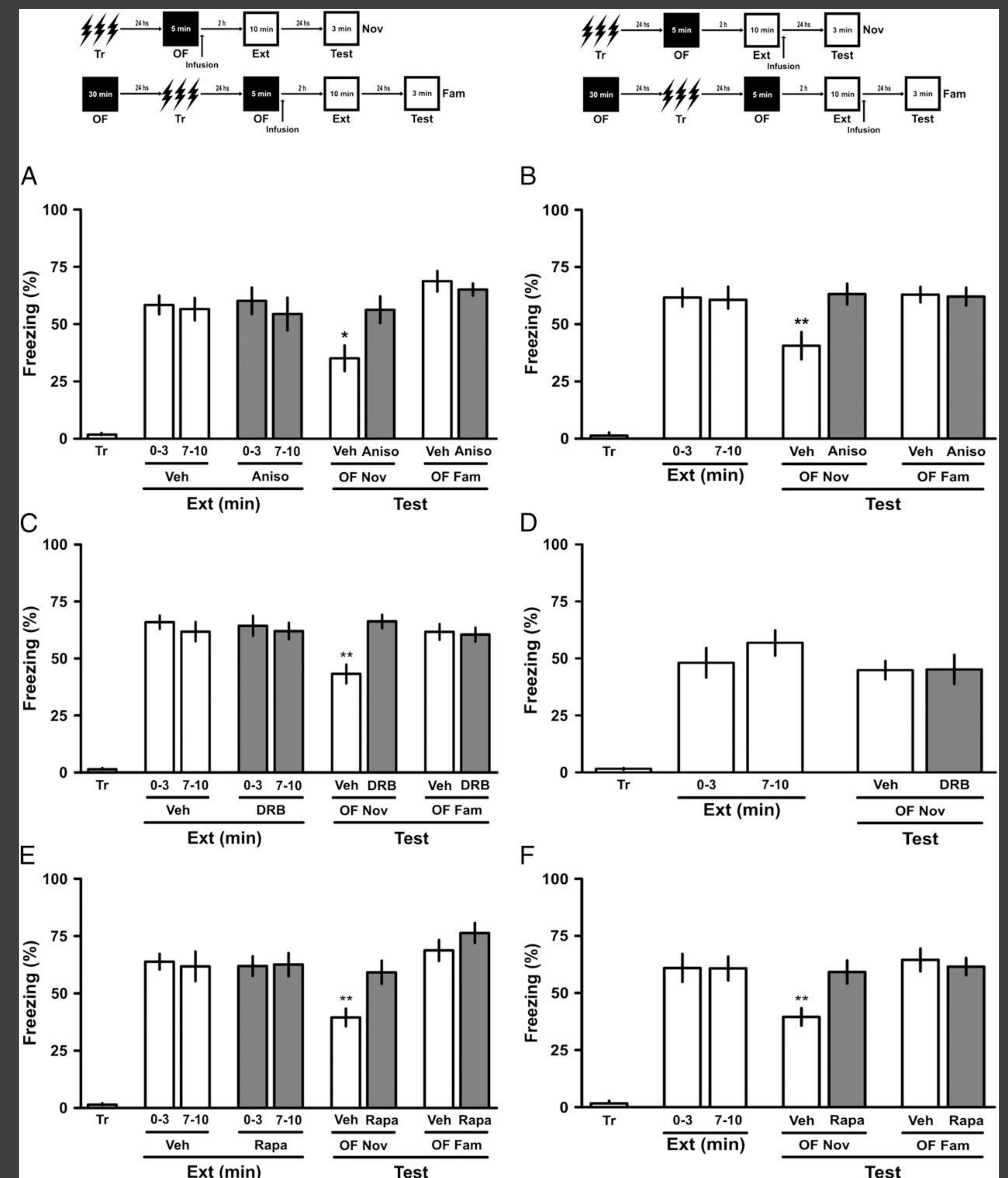


Figura 3 - Inibição da síntese de proteínas no hipocampo bloqueia o efeito facilitatório da exposição à novidade. Ratos com cânulas implantadas na região CA1 do hipocampo foram treinados na tarefa de CFC (como explicado na figura acima). Depois de 24h, foram expostos por 5 min ao OF, ou pela primeira vez (Nov) ou reexpostos (Fam). Immediatamente após a sessão de extinção ou após a exposição ao OF foram infundidas bilateralmente diferentes drogas: veículo (Veh) ou (A e B) anisomicina (Aniso; 80 µg/lado), ou (C e D) DRB (8 ng/lado) ou (E e F) rapamicina (Rapa; 5 µg/lado). No dia seguinte, os animais foram submetidos ao teste. A infusão de anisomicina, rapamicina ou DRB imediatamente após a exposição ao OF ou de anisomicina e rapamicina, mas não DRB, imediatamente após a sessão fraca de extinção bloqueou o efeito de indução da formação de LTM da exposição à novidade. A infusão de qualquer das drogas, tanto após a exposição ao OF quanto após a sessão fraca de extinção, nos animais expostos ao OF Fam não causou efeito significativo em relação aos veículos. *P<0,05 em relação a todos os grupos nos testes, ANOVA seguida de teste de Newman-Keuls. Dados são apresentados como média ± SEM da porcentagem de tempo de imobilidade. n= 11 ou 12 animais por grupo. (Acima) Representação esquemática do protocolo comportamental utilizado.

CONCLUSÃO

A exposição a uma novidade é capaz de induzir a extinção de memória aversiva, e esse efeito parece ser devido ao processo de *synaptic tagging and capture*. Propomos que a extinção fraca marca sinapses hipocâmpicas, e essa marcação leva à captura de proteínas relacionadas à plasticidade produzidas por LTPs geradas pela exposição à novidade em outras sinapses do hipocampo, deste modo caracterizando o processo de STC.

APOIO FINANCEIRO