

INTRODUÇÃO

O Núcleo do Trato Solitário (NTS), localizado no tronco encefálico, recebe informações e estímulos diversos da periferia. Projeções do NTS se dirigem ao Núcleo Paragigantocelular (PGi), formado por neurônios glutamatérgicos e colinérgicos. O PGi envia projeções densas ao Locus Coeruleus (LC), núcleo que contém o maior número de corpos neuronais noradrenérgicos do SNC, e este envia projeções noradrenérgicas dirigidas ao hipocampo e amígdala. Já foi demonstrado que as estruturas NTS, PGi, LC, Hipocampo e Amígdala são essenciais para a consolidação de memórias aversivas.

OBJETIVO

Verificar a participação da via NTS-PGi-LC-Hipocampo na consolidação da memória de reconhecimento de objetos.

MATERIAIS E MÉTODOS

ANIMAIS E CIRURGIA

- Ratos Wistar machos (300-330g);
- Ciclo claro/escuro de 12/12 horas;
- Comida e água *ad libitum*;
- 4 animais por caixa moradia;
- Anestesia com ketamina 75mg/Kg e Xilazina 10mg/Kg;
- Cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas nas seguintes regiões alvo do estudo: NTS, PGi, LC, região CA1 do hipocampo dorsal, amígdala central (CNT AMY) e basolateral (BSL AMY). As coordenadas foram utilizadas segundo o Atlas de Paxinos e Watson.

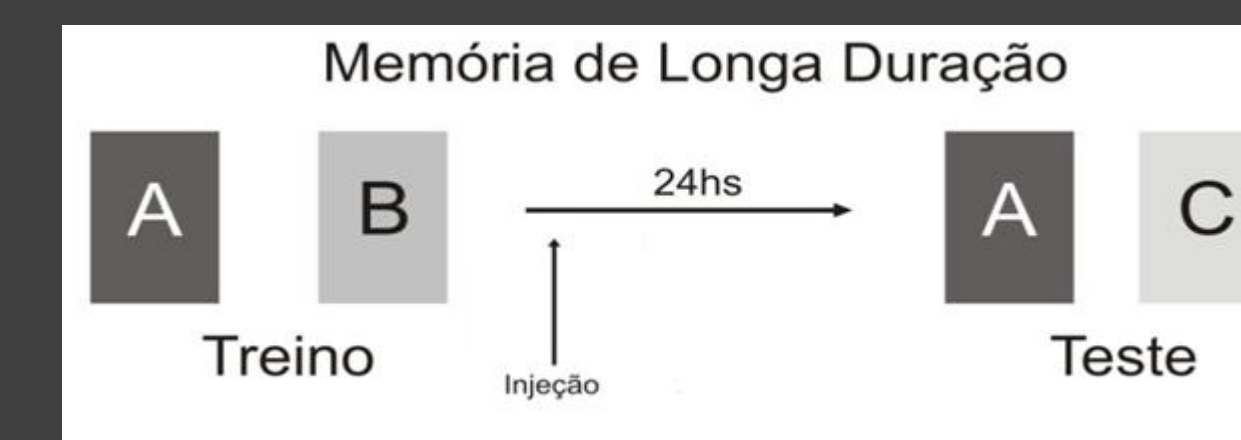
INFUSÃO DE FÁRMACOS

Drogas utilizadas:

- Muscimol (agonista dos receptores GABAérgicos tipo A);
- Timolol (antagonista dos receptores β_1 e β_2 noradrenérgicos);
- NMDA (agonista específico do receptor NMDA do glutamato);
- Noradrenalina (neurotransmissor do Sistema Nervoso Central).

PROTOCOLO DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS

- Baseia-se na curiosidade natural de ratos quanto a objetos/estímulos novos.
- Habituação: Ratos foram colocados individualmente em uma caixa retangular para exploração por 20 min, durante 4 dias consecutivos.
- Dia 1/Treino: 24 horas após o último dia de habituação, os animais foram expostos a 2 objetos distintos (A e B), em que se avaliou o tempo de exploração de cada objeto durante 5 minutos (Fig 1). As infusões foram feitas imediatamente, 3 horas ou 6 horas após a sessão de treino.
- Dia 2/Teste: 24 horas após a sessão de treino, os animais foram expostos a um objeto familiar (A) e um objeto novo (C) e novamente se avaliou o tempo de exploração de cada objeto, durante 5 minutos (Fig 1).



Desenho esquemático do protocolo de reconhecimento de objetos

RESULTADOS

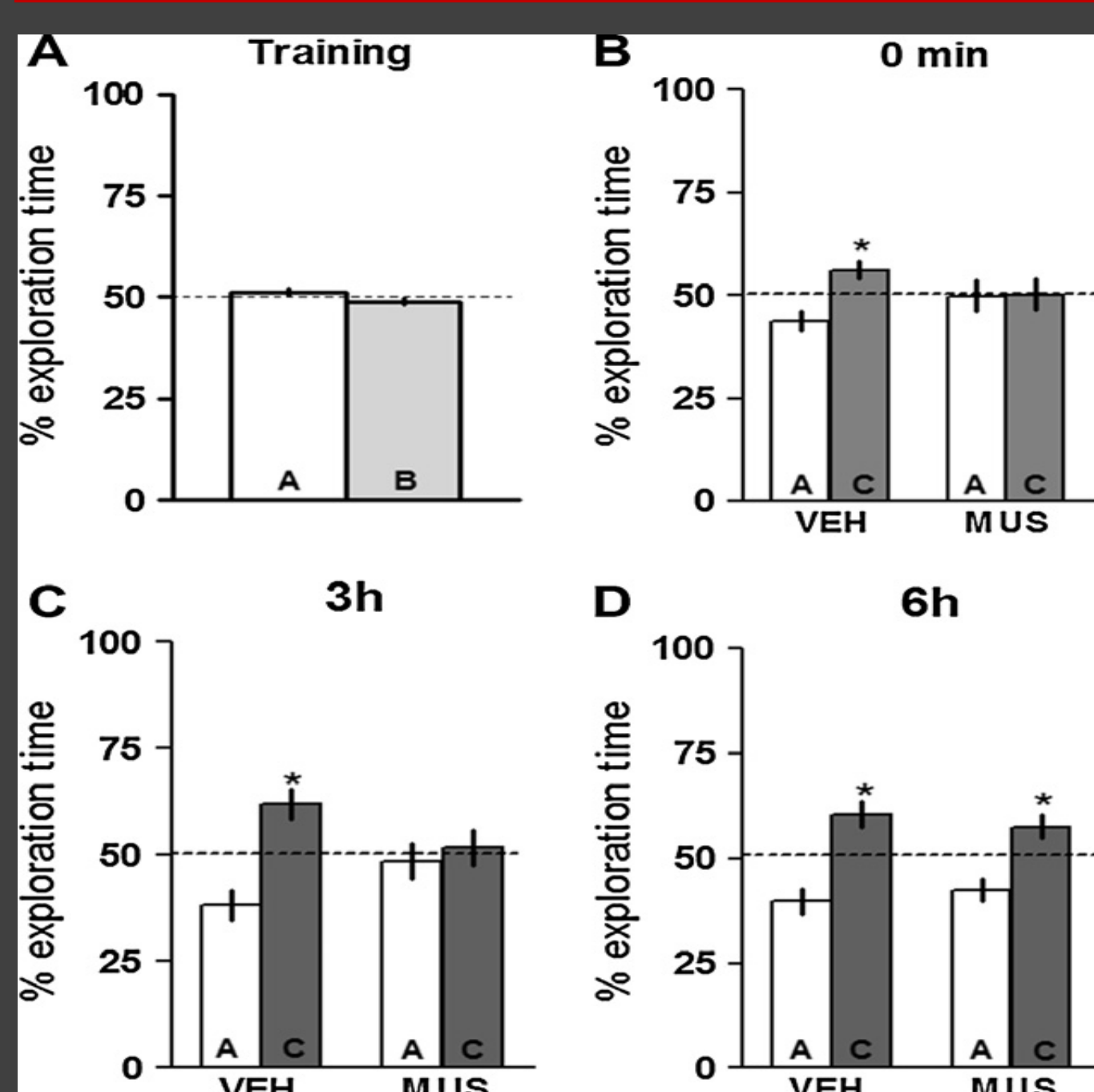


FIG. 1. Inibição do NTS com muscimol 0 min e 3 h, mas não 6h depois da formação, prejudica a consolidação da memória de reconhecimento. 1A: Na sessão de treino (dia 1), os ratos foram expostos a dois objetos diferentes (A e B) durante 5 min e imediatamente, 3 horas ou 6 horas após, receberam infusões bilaterais de 0,5 (ul/lado) de salina (veículo) ou muscimol (0,01 ug/ul) no NTS. Na sessão de teste (dia 2), os animais que receberam MUS 0 min (1B), 3 h (1C) e 6 h (1D) foram expostos a um objeto familiar(A) e um novo (C) durante 5 min para avaliar a consolidação da memória. Os dados (média \pm EPM) são apresentados como percentagem do tempo total de exploração (n = 9-12).

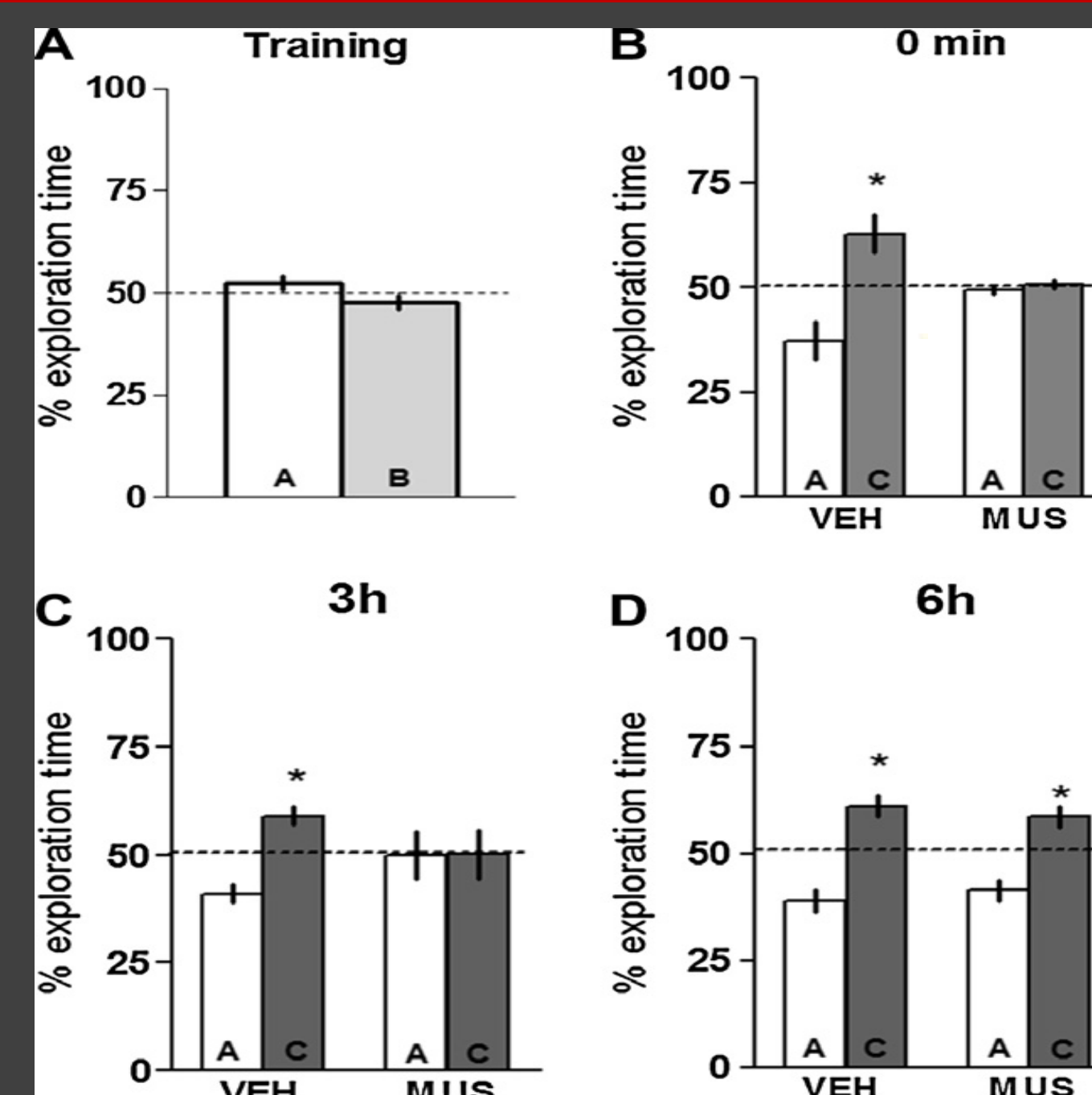


FIG. 2. Inibição do PGi com muscimol 0 min e 3 h, mas não 6h depois da formação, prejudica a consolidação da memória de reconhecimento. 1A: Na sessão de treino (dia 1), os ratos foram expostos a dois objetos diferentes (A e B) durante 5 min e imediatamente, 3 horas ou 6 horas após, receberam infusões bilaterais de 0,5 (ul/lado) de salina (veículo) ou muscimol (0,01 ug/ul) no PGi. Na sessão de teste (dia 2), os animais que receberam MUS 0 min (1B), 3 h (1C) e 6 h (1D) foram expostos a um objeto familiar(A) e um novo (C) durante 5 min para avaliar a consolidação da memória. Os dados (média \pm EPM) são apresentados como percentagem do tempo total de exploração (n = 9-12).

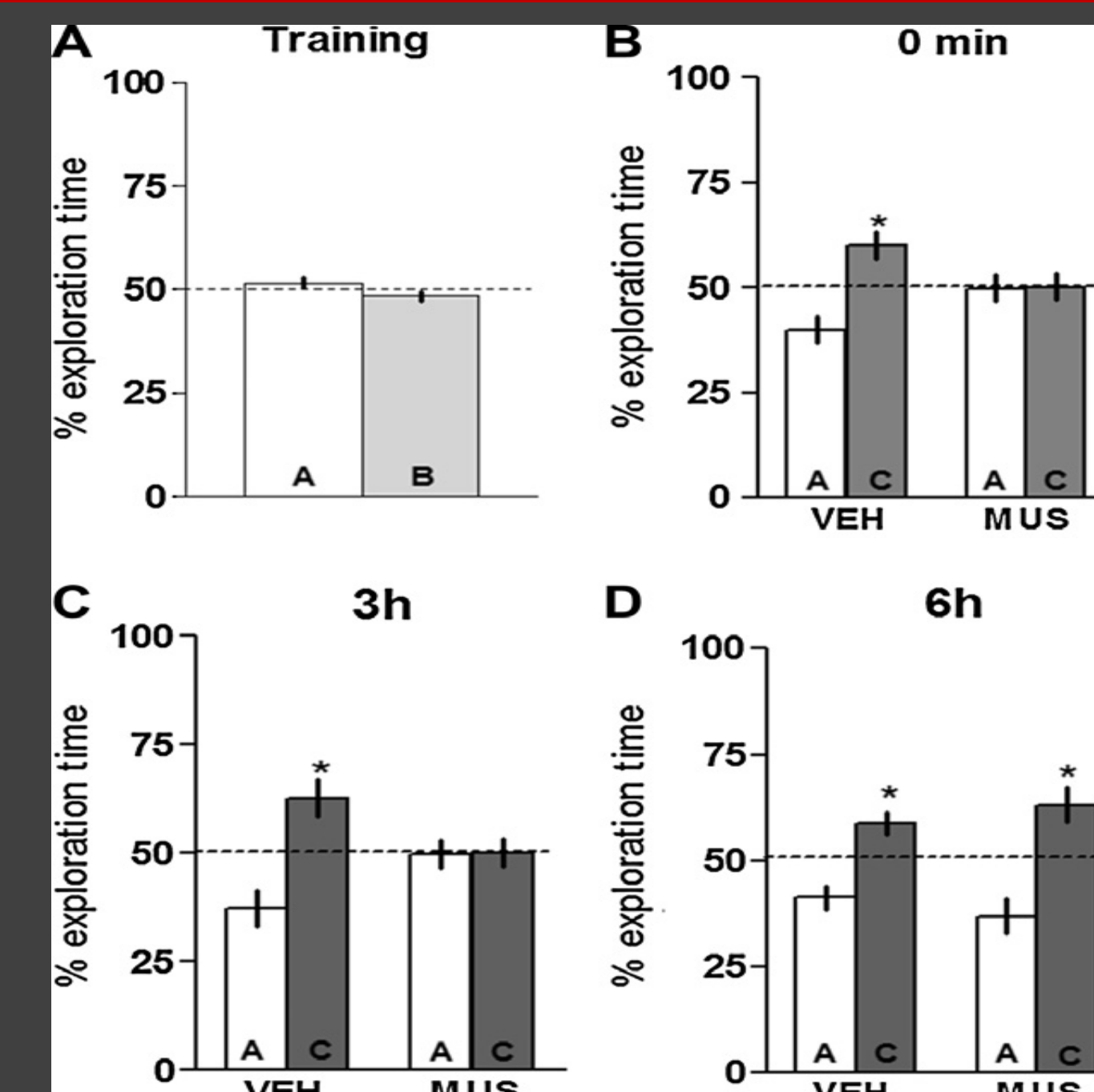


FIG. 3. Inibição do LC com muscimol 0 min e 3 h, mas não 6h depois da formação, prejudica a consolidação da memória de reconhecimento. 1A: Na sessão de treino (dia 1), os ratos foram expostos a dois objetos diferentes (A e B) durante 5 min e imediatamente, 3 horas ou 6 horas após, receberam infusões bilaterais de 0,25 (ul/lado) de salina (veículo) ou muscimol (0,02 ug/ul) no LC. Na sessão de teste (dia 2), os animais que receberam MUS 0 min (1B), 3 h (1C) e 6 h (1D) foram expostos a um objeto familiar(A) e um novo (C) durante 5 min para avaliar a consolidação da memória. Os dados (média \pm EPM) são apresentados como percentagem do tempo total de exploração (n = 9-12).

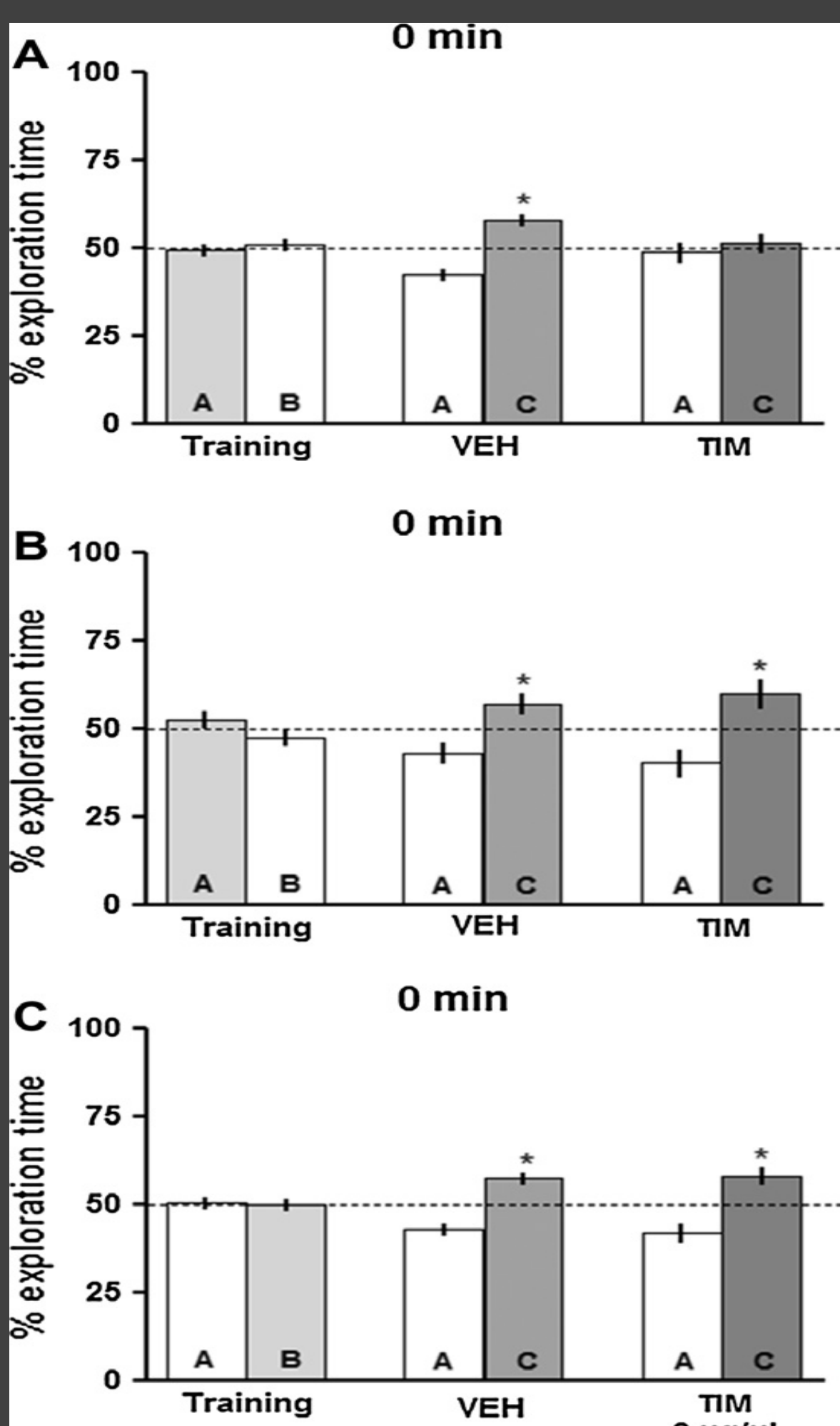


FIG. 4. A infusão do antagonista beta-adrenérgico timolol na região CA1 do hipocampo dorsal (4A), mas não na amígdala basolateral (BSL AMY; 4B) e central (CNT AMY; 4C) 0 min após o treino prejudica a consolidação da memória de reconhecimento de objetos. Na sessão de treino (dia 1), os ratos foram expostos a dois objetos diferentes (A e B) durante 5 min e, imediatamente após esse receberam infusões bilaterais (1 ul/ lado em CA1 e 0,5 ul/lado em BSL e CNT AMY) de salina (veículo) ou timolol (TIM; 1 ug/ ul para CA1 e 2 ug/ul para BSL e CNT AMY). Na sessão de teste (dia 2), os animais foram expostos a um objeto familiar (A) e um novo (C) durante 5 min para avaliar a consolidação da memória. Os dados (média \pm EPM) são apresentados como percentagem do tempo total de exploração (n = 9-12).

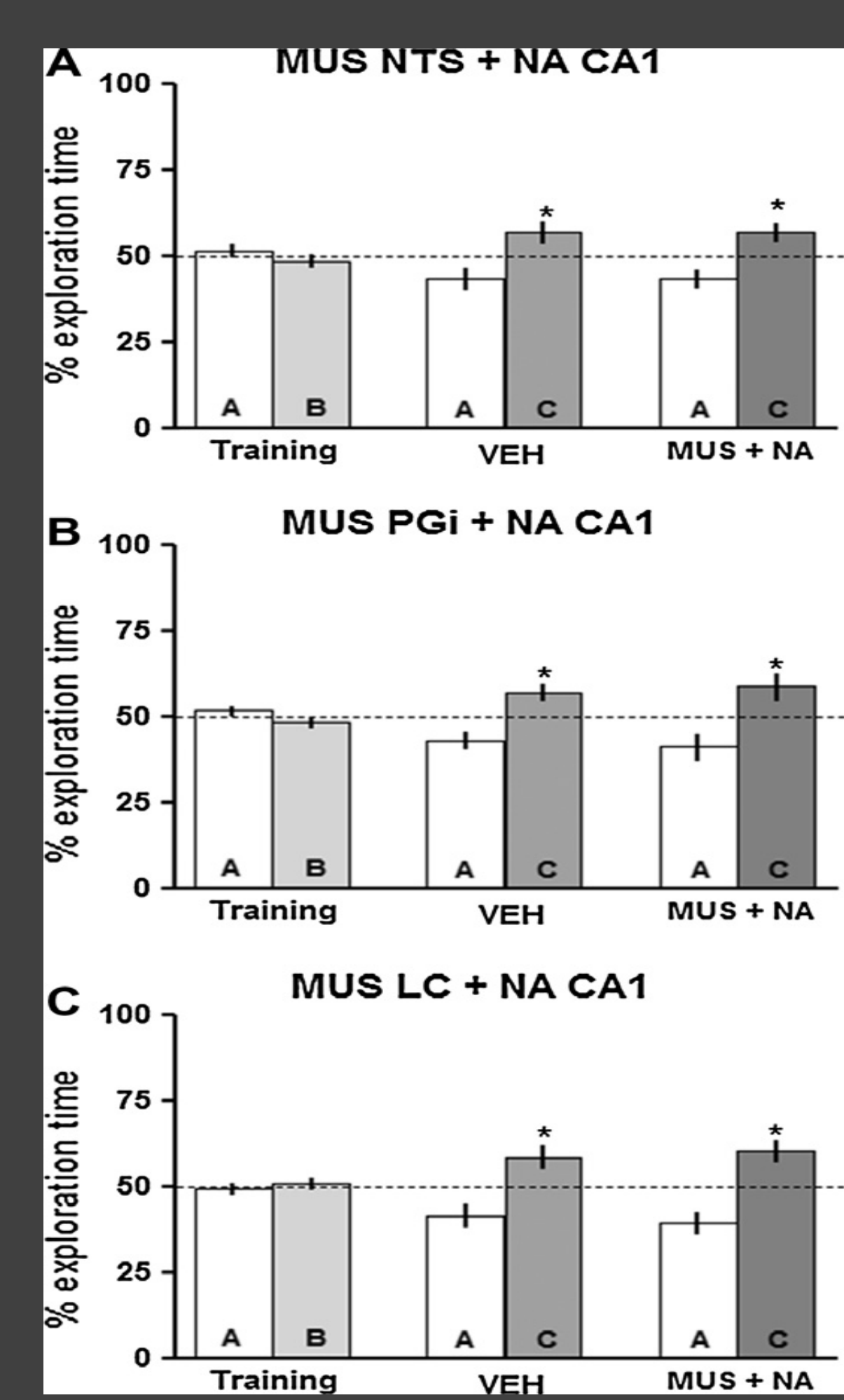


FIG. 5. A infusão de noradrenalina na região CA1 do hipocampo dorsal imediatamente após a infusão de muscimol no NTS (5A), PGi (5B) e LC (5C) reverte o efeito amnésico do muscimol na consolidação da memória de reconhecimento de objetos. Na sessão de treino (dia 1), os ratos foram expostos a dois objetos diferentes (A e B) durante 5 min e imediatamente depois receberam infusões bilaterais de salina (veículo) ou muscimol no NTS, PGi ou LC + noradrenalina em CA1 (MUS: 0,01 ug/ul, 0,5 ul/lado para NTS e PGi; 0,02 ug/ul, 0,25 ul/lado para LC; NA: 1 ug/ul, 1 ul/lado para CA1). Na sessão de teste (dia 2), os animais foram expostos ao objeto familiar (A) e um novo (C) durante cinco minutos para avaliar a consolidação da memória. Os dados (média \pm EPM) são apresentados como percentagem do tempo total de exploração (n = 9-12).

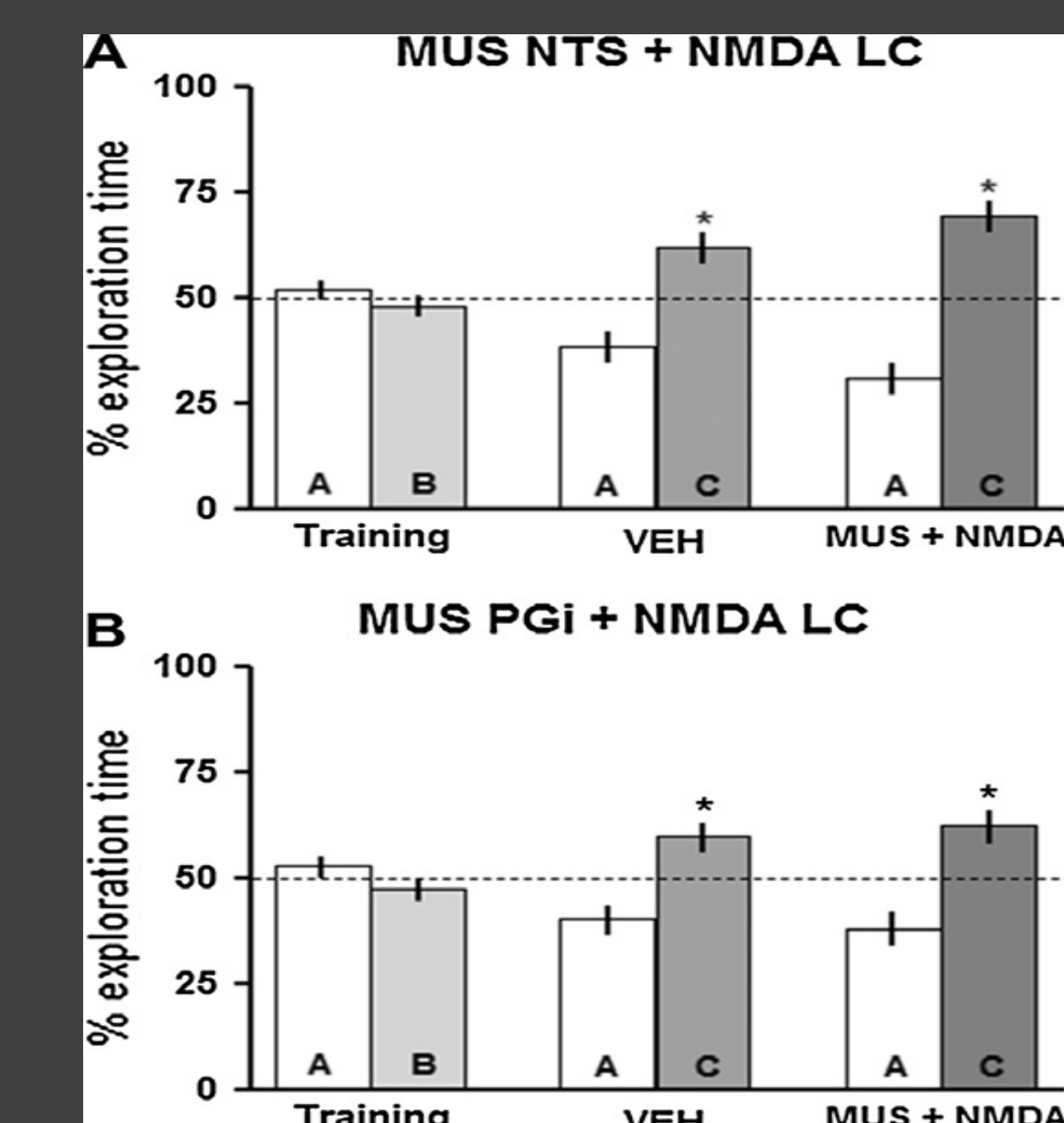


FIG. 6. A infusão de NMDA no LC imediatamente após a infusão de muscimol no NTS (6A) e PGi (6B) reverte o efeito amnésico do muscimol na tarefa de reconhecimento de objetos. Na sessão de treino (dia 1), os ratos foram expostos a dois objetos diferentes (A e B) durante 5 min e, imediatamente após, receberam infusões bilaterais de salina (veículo) ou muscimol no NTS ou PGi + NMDA em LC (MUS: 0,01 ug/ul, 0,5 ul/lado para NTS e PGi; NMDA: 0,01 ug/ul, 0,25 ul/lado para LC). Na sessão de teste (dia 2), os animais foram expostos a um objeto familiar (A) e um novo (C) durante cinco minutos para avaliar a consolidação da memória. Os dados (média \pm EPM) são apresentados como percentagem do tempo total de exploração (n = 9-12).

CONCLUSÃO

A via NTS-PGi-LC-CA1 participa da consolidação da memória de reconhecimento de objetos.

APOIO FINANCEIRO