

Prejuízo da extinção da memória de medo induzido por estresse agudo em ratos: papel das projeções neuronais recíprocas entre o complexo basolateral da amígdala e o córtex pré-frontal medial e a importância da sinalização mediada por norepinefrina.

Autores Vitor Augusto Laurino Juliano ¹, Carolina Demarchi Munhoz ¹, Leonardo Santana Novaes ¹

Instituição ¹ ICB - USP - Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo (Av. Prof. Lineu Prestes, 1524 - Butantã, São Paulo - SP, 05508-000)

Resumo

Introdução

O complexo basolateral da amígdala (BLA) e o córtex pré-frontal medial (CPFm; subdivisões infra- e pré-límbicas - IL e PL, respectivamente), com suas projeções neuronais recíprocas (BLA↔CPFm), são fundamentais para a formação e extinção da memória de medo (Psychopharmacology. 236:303, 2019). Ademais, a sinalização norepinefrinérgica intra-BLA desempenha um papel importante na extinção da memória. Previamente, nosso grupo mostrou que o estresse agudo de contenção de 2h leva ao déficit da extinção da memória de medo 10 dias após.

Objetivo

Analisar o efeito tardio do estresse agudo sobre o processo de extinção da memória, bem como sobre a ativação neuronal de estruturas e projeções neuronais (BLA↔CPFm) chave para o processo.

Métodos

Ratos *Wistar* machos receberam injeção do traçador FluoroGold (FG) no BLA ou IL e implantação de cânulas no BLA para injeção do antagonista β -adrenérgico propranolol. Após recuperação, sofreram estresse agudo de contenção por 2h. Após 10 dias, foram submetidos ao condicionamento de medo ao contexto (choque de 0,5mA, 1s de duração) - um grupo adicional recebeu infusão de propranolol ou salina previamente - seguido de 6 reexposições ao contexto (10 min), com intervalos de 24 h. A eutanásia foi realizada por perfusão transcardíaca. A expressão de FosB e cFos foi verificada por imunofluorescência. O comportamento de *freezing* foi utilizado para quantificar a expressão do medo. Foram realizadas análise de variâncias (ANOVA) e teste t *Student*. Todos os procedimentos realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (protocolo 085/2016).

Resultados

O estresse agudo levou ao déficit da extinção da memória aversiva 10 dias após (CON=76,15, n=9; STR=145; , n=10; p=0,045). Houve redução significativa na expressão de FosB nos neurônios do IL ao final do protocolo (CON=75,11; STR=44,00; n=5 p=0,0455). Foi verificada expressiva marcação de FosB na projeção IL→BLA, proporcionalmente maior em animais estressados (63,57% x 49,79%; n=2). Já na projeção PL→BLA, menos densa, houve marcação menos substancial de FosB em animais controles e estressados (11,58% x 11,92%, respectivamente; n=2). No BLA, houve tendência de aumento da expressão de FosB em animais estressados (CON=45,45, n=4; STR=89,93, n=5; p=0,0679), inclusive em neurônios da via BLA→IL (CON=10,2; STR=20,48; p=0,068.). A infusão intra-BLA de propranolol previamente ao treino reverteu o efeito tardio do estresse agudo sobre o comportamento (F1, 33 = 38,22, P<0,0001; interação estresse-tratamento F1, 33 = 23,44, P<0,0001; SAL=89,86%, n =8; SAL-STR=152,2%, n=10; PROP=88,01%, n=8; PROP-STR=95,99%, n=11).

Conclusão

Evidenciamos partes de um possível mecanismo pelo qual o estresse exerce seu efeito tardio sobre a extinção da memória, com participação da atividade dos neurônios do IL e da sinalização mediada por norepinefrina no BLA.

Apoio Financeiro: FAPESP (2020/06914-8, 2019/00908-9 e 2018/19599-3CNPq (120633/2019-1 e 422523/2016-0). CAPES – Código financeiro 001.

Palavras-chaves: Estresse, TEPT, BLA

Alta ansiedade traço em camundongos está associado com prejuízos na extinção no condicionamento aversivo ao contexto

Autores Marcela Verginia de Medeiros ¹, Aldiny Paula de Godoy ¹, Camila Pasquini de Souza ², Bruno Jacson Martynhak ¹

Instituição ¹ UFPR - Departamento de Fisiologia, Universidade Federal do Paraná (Av. Francisco H dos Santos, 100, Curitiba-PR, Brazil.), ² UFPR - Departamento de Farmacologia, Universidade Federal do Paraná (Av. Cel. Francisco H. dos Santos, 100, Curitiba - PR, Brasil)

Resumo

Introdução

O Transtorno do Estresse Pós-Traumático (TEPT) está relacionado com a exposição a um evento traumático. Entretanto, nem todos que sofrem um trauma desenvolvem TEPT. Logo, diferenças individuais são importantes para o desenvolvimento de TEPT. A ansiedade-traço pode ser um dos fatores que geram susceptibilidade. O paradigma exploratório livre (PEL) é uma alternativa de modelo para separar os animais em alta e baixa ansiedade-traço. O condicionamento aversivo ao contexto, apesar de não ser um modelo de TEPT, pode ser utilizado para entender a neurobiologia das memórias aversivas.

Objetivo

Avaliar se diferenças na ansiedade-traço levam a prejuízos na aquisição e extinção da memória aversiva no condicionamento aversivo ao contexto. Investigar os efeitos do diazepam na reversão dessas diferenças.

Métodos

Camundongos Swiss machos adultos foram separados em alta (AAT) e baixa (BAT) ansiedade-traço no PEL. Após, todos os animais passaram pelo condicionamento aversivo ao contexto, seguido pela extinção, teste da extinção e teste de reinstalação. Para avaliar o efeito de ansiolíticos no condicionamento, diazepam (0.25 ou 1 mg/kg, i.p) foi administrado 30 minutos antes do condicionamento ou da extinção. As análises estatísticas foram feitas utilizando o teste t de Student, ANOVA de duas vias e ANOVA de medidas repetidas. Todos os dados estão apresentados como média±dp. Os protocolos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPR (#1224).

Resultados

Não houve diferenças na aquisição do condicionamento (AAT = 73.8%±8.9, BAT = 69.3% ± 90.0; t = 1.76, p = 0.08); porém, animais de AAT apresentaram maior congelamento que BAT na extinção ($F_{4,192} = 4.33$, p = 0,002). AAT também apresentou maior congelamento no teste da extinção (AAT = 45.0% ± 29.6, BAT = 9.72% ± 7.0, t = 5.67, p < 0.0001) e no teste de reinstalação (AAT = 72.3% ± 15.4, BAT = 56.9% ± 6.3, t = 4.58, p < 0.0001) (n = 24-26/grupo). A administração de diazepam antes do condicionamento não alterou o congelamento de nenhum dos grupos na extinção ($F_{2,43} = 2.24$, p = 0.12), no teste da extinção ($F_{2,43} = 0.54$, p = 0.06) e na reinstalação ($F_{2,35} = 0.12$, p = 0.88) em nenhuma das doses (n = 6-11/grupo). A administração de diazepam antes da extinção também não alterou o congelamento de nenhum dos grupos na extinção ($F_{2,41} = 1.58$, p = 0.22), no teste da extinção ($F_{2,41} = 0.47$, p = 0.63), e na reinstalação ($F_{2,41} = 1.42$, p = 0.25) em nenhuma das doses (n = 6-11/grupo).

Conclusão

Animais de AAT apresentaram aumento no comportamento de congelamento durante a extinção, no teste da extinção e na reinstalação. Esse efeito provavelmente não ocorreu apenas a um único momento de alta ansiedade, já que o tratamento com diazepam não preveniu o aumento do congelamento quando administrado antes do condicionamento ou antes da extinção.

Apoio Financeiro

Fundação Araucária.

Palavras-chaves: Ansiedade-traço, Condicionamento aversivo, Diferenças Individuais

Efeitos duradouros da Ayahuasca na conectividade cerebral

Autores Tamires Morett Gama ¹, Lucas Rego Ramos ¹, Orlando Fernandes Junior ¹, Tiago Arruda Sanchez ¹

Instituição ¹ UFRJ - Universidade federal do Rio de Janeiro (R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, 255 - Cidade Universitária da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 21941-617)

Resumo

Introdução

A Ayahuasca é um psicodélico de origem Amazônica e com uma ação principalmente serotoninérgica no cérebro pelo sinergismo de sua composição, que inclui a N,N-Dimethyltryptamina (DMT), que é uma molécula agonista de receptores 5HT_{2A}; a harmina e a harmalina, que são inibidoras da monoamina oxidase A (iMAO-A) e ainda, a Tetrahydroharmina (THH), que é uma inibidora fraca da receptação de serotonina. A ingestão da bebida promove mudanças na atividade cerebral, incluindo áreas envolvidas na percepção visual, emoção e cognição. As evidências recentes indicam que há aumento no fator neurotrófico do cérebro (BDNF), diminuição do volume cerebral na região do cíngulo posterior e alterações de curto prazo na conectividade cerebral em Ayahuasqueiros.

Objetivo

O objetivo deste estudo é avaliar mudanças de longo prazo na conectividade cerebral e no comportamento em Ayahuasqueiros experientes em relação a um grupo controle.

Métodos

Foram recrutados 38 participantes distribuídos em dois grupos: 19 no grupo Ayahuasca e 19 no grupo controle. Ambos fizeram o exame de ressonância magnética funcional e foram instruídos a permanecer em repouso, de olhos fechados e orientados a manter o pensamento livre sem se fixar em único assunto. As imagens de RMf foram avaliadas no software CONN usando o método de análise de componentes independentes (ICA) e análises de inferências baseadas em cluster do ICA por estatísticas paramétricas de teoria de campo aleatório. As escalas psicométricas foram avaliadas no software Prism6 utilizado o teste t de Student para amostras não pareadas. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do local - CAAE (HUCFF-UFRJ): 34772414.9.0000.5257.

Resultados

Na análise de ICA, a rede de saliência (p-FWE<0,001) teve maior conectividade para o grupo Ayahuasca em relação ao grupo controle. Já as redes sensoriomotora (p-FWE=0,05) e dorso atencional (p-FWE<0,001) tiveram menor conectividade para o grupo Ayahuasca em relação ao grupo controle. Nenhuma outra rede identificada nesta análise apresentou diferença entre os grupos. Nas análises psicométricas, o traço de resiliência apresentou maior (p=0,01) para o grupo Ayahuasca (média=43,89; DP=5,64) do que o grupo controle (média= 39,05; DP=5,34), porém, as escalas de afeto positivo (p=0,72), afeto negativo (p=0,56), sintomas de ansiedade (p=0,35) e depressão (p=0,69) não apresentaram diferença entre os grupos.

Conclusão

Observamos uma maior conectividade na rede de saliência para o grupo Ayahuasca, indicando efeitos de longo prazo da Ayahuasca no processamento emocional. Houve também uma diminuição da conectividade nas redes sensoriomotoras e dorso atencionais do grupo Ayahuasca indicando modificações cognitivas. Ademais, observamos nos resultados psicométricos uma média maior de indivíduos com maior traço de resiliência no grupo Ayahuasca em comparação com o grupo controle. Esses resultados corroboram a hipótese do efeito duradouro da Ayahuasca no processamento cognitivo e emocional.

Apoio Financeiro

FAPERJ, CAPES

Palavras-chaves: Ayahuasca, Conectividade, ressonância magnética funcional

O tratamento com Ayahuasca em diferentes momentos da evocação prejudica a reconsolidação da memória de medo

Autores Daiane Momo Daneluz ¹, Maurício Yonamine ², Gabriela Oliveira Silveira ², Cristina Aparecida Jark Stern ¹

Instituição ¹ UFPR - Universidade Federal do Paraná (Departamento de Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil), ² USP - Universidade de São Paulo (Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.)

Resumo

Introdução

Memórias traumáticas desempenham papel chave no Transtorno de Estresse Pós-Traumático. Essas memórias podem ser modificadas com interferências na reconsolidação, evento dependente da evocação e labilização da memória. Evidências sugerem que a ayahuasca (AYA), bebida com ação alucinógena, interfere no processamento de memórias, no entanto, permanece a ser investigado o efeito da AYA na reconsolidação.

Objetivo

Avaliar o efeito da AYA sobre a reconsolidação da memória de medo ao contexto.

Métodos

Foram utilizados Ratos Wistar machos, condicionados ao Contexto A (3 choques de 0,7mA/3s, intervalos de 30s). Para labilização, 24h após condicionamento os animais foram expostos ao Contexto A por 3min (Evocação) sem apresentação do choque. No experimento 1, os animais receberam AYA nas doses de 60, 120 ou 240 mg/Kg diluída em H₂O ou apenas H₂O (VEI) por gavagem (v.o.) 20min antes da Evocação. (composição da AYA: DMT:0,43mg/mL; Tetrahydroharmalina:0,75mg/mL; Harmalina:0,11mg/mL e Harmina:0,70mg/mL). No experimento 2 e 3, grupos independentes receberam as mesmas doses de AYA ou VEI v.o. imediatamente ou 3h após a Evocação. 24h e 7 dias depois foram expostos ao Teste A₁ e Teste A₂. No experimento 4 e 5, 24h após o condicionamento, os animais foram expostos ao Contexto B não-pareado e receberam AYA 60 mg/kg ou VEI v.o. 20min antes ou 3h após, respectivamente. Após 24h foram expostos ao Teste A₁. No experimento 6 os animais receberam AYA 60 ou VEI 20min antes da Evocação e após 24h passaram pela extinção da memória (20min). 24h após receberam um choque de 0,4mA/3s no Contexto C. No dia seguinte foram expostos ao Contexto A para verificar reinstalação da memória. O tempo de congelamento foi avaliado. Os dados foram expressos como média±EPM, analisados por ANOVA com medidas repetidas seguido do poshoc de Newman-Keuls. Todos os procedimentos aprovados pelo comitê de ética local (CEUA 1378).

Resultados

No experimento 1 houve efeito significativo do tratamento [$F(3,40)=8,75$, $P=0,0001$]. A AYA 60 ou 120 reduziu a porcentagem de tempo de congelamento em relação ao VEI no Teste A₁ [AYA 60=24±4,3; AYA 120=33,5±10,2; VEI=58,8±5,9] e no Teste A₂ [AYA 60=6,8±2,2; AYA 120= 10,7±5,5; VEI=37,2±6,7], sem afetar a evocação. No experimento 2 não houve diferença significativa. No experimento 3, foi observada diferença significativa do tratamento [$F(3,27)=7,63$; $P=0,001$]. AYA 60 reduziu a porcentagem de tempo de congelamento no Teste A₁ [AYA 60=23,8±6,5] e no Teste A₂ [AYA 60=4,9±1,6] em relação ao grupo VEI [VEI_{A1}=56,8±8,1; VEI_{A2}=35,1±7,8]. No experimento 4 e 5 não houve diferença significativa. No experimento 6, o grupo AYA 60 não apresentou reinstalação da memória [$F(1,16)=6,06$; $P=0,02$], [VEI=24,4±7,4; AYA 60=3,6±1,4].

Conclusão

O tratamento com AYA reduz a expressão do medo de forma duradoura. Esse efeito é dependente da labilização e não acontece pela facilitação da extinção, sugerindo que a AYA prejudica a reconsolidação da memória de medo ao contexto na fase inicial e tardia desse processo.

Apoio Financeiro

CAPES.

Palavras-chaves: Ayahuasca, Memória de medo, Reconsolidação

PROCESSAMENTO DA MEMÓRIA DE MEDO: DIMORFISMO SEXUAL E CONSOLIDAÇÃO TARDIA NA AMÍGDALA E CÓRTEX PRÉ-FRONTAL MEDIAL.

Autores Lorena Terene Lopes Guerra ¹, João Pedro Parreira Rodrigues ¹, Flávio Afonso Gonçalves Mourão ¹, Grace Schenatto Pereira Moraes ¹

Instituição ¹ UFMG - UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (Avenida Presidente Antônio Carlos, 6.627 Campus UFMG, Pampulha - Belo Horizonte, MG - CEP 31270-901)

Resumo

Introdução

Uma questão essencial no estudo da memória é o que faz com que certas memórias persistam ou sejam esquecidas. O grau de intensidade emocional relacionado ao estímulo é conhecido como tendo um papel nesse processo, porém, como tal variável é processada neuralmente em associação à formação de memórias ainda permanece uma questão em debate.

Objetivo

Este estudo tem como objetivo investigar se a intensidade emocional na aquisição da memória de medo contextual modula a plasticidade na Amígdala e no Córtex Pré-Frontal Medial (mPFC) na janela de consolidação de 12h, além de explorar se a expressão comportamental do medo diverge sexualmente 1 dia e 30 dias após a aquisição da memória.

Métodos

O comportamento de congelamento foi avaliado 1 e 30 dias após o protocolo de medo condicionado ao contexto. Machos e fêmeas C57BL/6, em igual número, exploraram livremente o contexto por 120 segundos, antes de serem expostos ou não a 1 ou 5 choques (US) de 0,7 mA por 2 segundos cada, a depender do grupo: controle (US-; n=14), treino com baixa relevância emocional (1US; n=12) e treino com alta relevância emocional (5US; n=14; intervalo interestímulo=1 min). Tratando-se da plasticidade, machos C57BL/6 foram distribuídos entre os grupos 1US, 5US e naive, e sacrificados após a janela de 12h de consolidação do condicionamento. Por fim, buscamos identificar a expressão de Zif268, um fator de transcrição dependente de atividade, nas regiões Pre-límbica (PL) e Infra-límbica (IL) (1US: n=4; 5US: n=4) e Amígdala Basolateral (BLA) (1US: n=5; 5US: n=5), conhecidas por seu envolvimento na consolidação sistêmica (CEUA-UFMG: 198/2019).

Resultados

Em camundongos machos, a memória de medo mostrou-se presente 1 dia após o condicionamento nos grupos 1US (US- vs. 1US: $p=0,0099$) e 5US (US- vs. 5US: $p<0,0001$). No entanto, apenas no grupo 5US a memória persistiu por 30 dias (US- vs. 5US: $p<0,0001$). Nas fêmeas, por outro lado, apenas o grupo 5US expressou medo condicionado (1d US- vs. 5US: $p=0,0003$; 30d US- vs. 5US: $p=0,0170$). 12h após o treinamento, o grupo 1US mostrou maior expressão de Zif268 no mPFC em comparação ao grupo 5US (Teste t não pareado; $t=4,45$, $df=6$; $p=0,0041$). Sob essa mesma análise, nenhuma diferença significativa foi encontrada na BLA (Teste t não pareado; $t=1,0$, $df=8$; $p=0,35$).

Conclusão

É necessária maior relevância emocional para a formação de memórias de medo em fêmeas do que em machos C57BL/6, o que pode refletir divergências sexuais nos mecanismos de processamento da memória de medo. Além disso, nossos resultados sugerem que a memória de medo contextual de alto valor emocional (5US) está associada a uma plasticidade diminuída no mPFC durante a consolidação sistêmica, provavelmente resultando em modulação diminuída do mPFC sobre outras estruturas. Esse mecanismo pode ser responsável pela persistência de memórias emocionais elevadas por e além de 30 dias.

Apoio Financeiro: FAPEMIG, CNPq, CAPES

Palavras-chaves: Fear memory, Neuroplasticity, Medial Prefrontal Cortex

A inibição da síntese de corticosterona na adolescência afeta as respostas de medo em ratos Wistar adultos

Autores Rodrigo Campos-Cardoso ¹, Julia Lopes Gonzalez ¹, Giovana Vieira Viais Zagatto ², Cláudia Maria Padovan ^{1,2}

Instituição ¹ FMRP-USP - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Ribeirão Preto), ² FFCLRP-USP - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (Ribeirão Preto)

Resumo

Introdução

A adolescência é uma fase de transição em que ocorrem processos plásticos no sistema nervoso central. Dados da literatura apontam para uma janela temporal em que estes processos parecem ser particularmente importantes em roedores, como a conexão do mPFC-PrL com a BLA, ambas importantes para respostas de medo contextual. Este processo de conexão, por sua vez, poderia ser dependente de corticosterona, já que a CORT aumenta a arborização e o número de espinhas dendríticas em neurônios principais da BLA. Desta forma, a inibição da secreção de CORT neste período poderia afetar a conexão entre PrL-BLA, levando a consequências comportamentais durante a vida adulta.

Objetivo

Averiguar se a inibição de síntese de corticosterona aos 30 dias de vida levaria a alterações das respostas de medo contextual na vida adulta e à alteração na ativação neuronal no PrL durante as respostas ao protocolo de medo condicionado ao contexto.

Métodos

30 ratos adolescentes receberam uma injeção de metirapona (50mg/kg) ou salina (2mL/kg) aos 30 dias de vida. Após, foram mantidos no biotério, alojados aos pares, sem nenhuma manipulação por 20 dias. No 20º dia após o tratamento iniciaram o protocolo de condicionamento ao medo contextual. O protocolo consistiu em uma sessão de habituação, uma de condicionamento, um teste e quatro reexposições subsequentes ao contexto, chamadas de extinção, com intervalo de 24h entre cada uma. Em todas as sessões, exceto durante o condicionamento, não foi apresentado nenhum estímulo ao animal, a não ser o contexto. Durante a sessão de condicionamento, os animais receberam seis choques aleatórios (1mA; 30-90s de intervalo). Para a avaliação comportamental, foi contabilizado o tempo de congelamento, caracterizado pela ausência total de movimentos, inclusive das vibrissas. Para a análise da ativação neuronal, foi feito um ensaio de imunistoquímica para a proteína c-fos no mPFC, sendo feita a contagem de células imunopositivas. CEUA USP: 2019.1.1451.59.6.

Resultados

A ANOVA revelou que não houve diferença no tempo de congelamento durante o condicionamento dos animais tratados comparados aos animais controle [DROGA:F=0,25;p>0,05], porém houve aumento do congelamento comparando-se a habituação e o condicionamento [TEMPO:F=129,8;p<0,05]. Durante o teste, porém, foi observado que os animais tratados apresentam menor nível de congelamento comparados aos animais controle [t=3,02; p<0,05]. Já durante a extinção da memória aversiva, a ANOVA revelou que os animais tratados com metirapona apresentaram menor tempo de congelamento quando comparados aos controle [F=4,859;p<0,05], o que demonstra que houve uma facilitação deste processo. Em relação a ativação do mPFC, não foram encontradas diferenças na comparação com os animais controle no córtex PrL (t=0,697; p>0,05) ou no córtex IL (t=1,42; p>0,05).

Conclusão

A metirapona atenuou a expressão e facilitou a extinção do medo ao contexto através de um mecanismo que pode não depender da ativação do mPFC.

Apoio Financeiro

CNPq #164177/2018-3

Fapesp #20/03608-3

Palavras-chaves: eixo HPA, metirapona, c-fos

A atividade da fosfodiesterase 4, 4B e 4D no hipocampo dorsal contribui para a manutenção a longo prazo da memória de medo reativada

Autores Jeferson Machado Batista Sohn ¹, Nathalie Carla Cardoso ¹, Jos Prickaerts ², Cristina Aparecida Jark Stern ¹
Instituição ¹ UFPR - Universidade Federal do Paraná (Av. Cel. Francisco H. dos Santos, 100 - Jardim das Américas, Curitiba - PR), ² UM - Maastricht University (Minderbroedersberg 4-6, 6211 LK Maastricht, Países Baixos)

Resumo

Introdução

Memórias previamente consolidadas podem ser modificadas por eventos dependentes da evocação, como a reconsolidação. A consolidação e reconsolidação compartilham diversos mecanismos moleculares. A sinalização intracelular do AMPc/PKA/BDNF no hipocampo dorsal (HD) é necessária para a consolidação da memória. A fosfodiesterase 4 (FDE4) hidrolisa o AMPc controlando a duração dessa sinalização. Entretanto, o papel da FDE4 na reconsolidação da memória de medo permanece inexplorado.

Objetivo

Avaliar o papel da FDE4 e seus subtipos 4B e 4D na reconsolidação da memória de medo.

Métodos

Foram utilizados Ratos Wistar machos adultos, com e sem o implante de cânulas-guia para o HD, condicionados ao Contexto A (3 choques nas patas de 0,7 mA por 3 s com 30 s de intervalo). 24h após foram submetidos a evocação curta da memória (3 min). Para avaliar o efeito dos tratamentos, os animais foram submetidos aos Testes A₁ e A₂ 1 e 10 dias após, respectivamente. Experimento 1: o inibidor da FDE4, roflumilaste (ROF; 0,01, 0,03, 0,1 ou 0,3 mg/kg) ou veículo (VEI) foram injetados i.p. 5 min após a evocação. No experimento 2, os inibidores de FDE4, FDE4B e FDE4D, ROF (9 ng / 0,5 µL/lado), A33 (1 µM / 0,5 µL/lado), Gebr-32A (1 µM / 0,5 µL/lado), respectivamente, ou VEI foram infundidos bilateralmente no HD 5 min após a evocação. No experimento 3 foram realizados experimentos com omissão do Teste A₁. A ANOVA de medidas repetidas seguida do teste post-hoc de Newman-Keuls foi utilizada. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. do percentual do tempo de congelamento. Todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética local nº 1318.

Resultados

A inibição sistêmica da FDE4 com ROF 0,01, 0,03 e 0,1, mas não 0,3 reduziu o percentual de tempo de congelamento apenas no Teste A₂ ($F_{4,42}=6,79$; $P<0,05$; Teste A₂: VEI=52,9±4,9; ROF0,01=30±9,6; ROF0,03=28,8±3,8; ROF0,1=12,2±3,2; ROF0,3=62,5±6,7; $n=5-14$ /grupo]. A inibição da FDE4 e dos subtipos 4B e 4D no HD também reduziu a porcentagem de tempo de congelamento apenas no Teste A₂, sugerindo a participação desses subtipos de FDE4 no HD nos efeitos observados ($F_{6,54}=5,35$; $P<0,05$; Teste A₂: VEI=53±6; A33=17±1,7; ROF=20,9±6,1; 32A=13,4±4,7; $n=7-9$ /grupo]. Tanto no tratamento sistêmico quanto na infusão no HD, nenhum efeito foi observado no Teste A₁. No entanto, quando o Teste A₁ foi omitido, os efeitos observados no Teste A₂ mediante inibição sistêmica ou intra-HD da FDE4, 4B ou 4D foram abolidos (sistêmico: $F_{4,60}=1,76$; $P=0,15$; Teste A₂: VEI=60,1±5,7; ROF 0,03=42,5±7,3 ROF 0,1=42,5±5,2; $n=10-12$ /grupo; intra-HD: $F_{6,36}=0,41$; $P=0,87$; Teste A₂: VEI=35,3±12,8; A33=42,3±8,8; ROF=41±10; 32A=40,6±11,3; $n=5-6$ /grupo].

Conclusão

A atividade FDE4, 4B e 4D no HD, após evocação e reativação, está envolvida com a manutenção a longo prazo da memória de medo, e não com a reconsolidação. Em conjunto, os resultados sugerem um papel diferente da FDE4 na consolidação e reconsolidação e um possível papel da marcação comportamental nos efeitos encontrados.

Apoio Financeiro

CAPES/NUFFIC

Palavras-chaves: Roflumilaste, Condicionamento de medo ao contexto, Reativação da memória

Imipramina e metirapona facilitam a extinção do medo condicionado ao contexto de ratas em proestro

Autores Julia Lopes Gonzalez ¹, Rodrigo Campos-Cardoso ¹, Giovana Vieira Viais Zagatto ², Cláudia Maria Padovan ^{1,2}
Instituição ¹ FMRP - USP - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP (Av. Bandeirantes, 3900. 14049-900. Ribeirão Preto, São Paulo.), ² FFCLRP - USP - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP (Av. Bandeirantes, 3900. 14049-900. Ribeirão Preto, São Paulo.)

Resumo

Introdução

O medo condicionado ao contexto é um modelo animal utilizado no estudo das bases neurobiológicas dos transtornos de ansiedade, como o transtorno de estresse pós-traumático, e envolve a participação dos sistemas mediados por serotonina e/ou glicocorticoides. Entretanto, esses transtornos prevalecem em mulheres e pouco se sabe sobre os dimorfismos sexuais nesse contexto. Dados da literatura apontam para uma diminuição da expressão de medo em ratas durante o proestro, o que pode demonstrar uma interação entre o estradiol e os sistemas de medo, visto que o pico de estradiol ocorre durante o proestro. Além disso, a interação entre os sistemas serotoninérgico e mediado por glicocorticoides permanece pouco esclarecida, assim como os efeitos da fase do ciclo estral nessas respostas.

Objetivo

Investigar os efeitos da imipramina (IMI; inibidor de recaptção de serotonina e noradrenalina) ou da metirapona (MET; inibidor da síntese de corticosterona) na aquisição e extinção da memória aversiva de ratas em proestro.

Métodos

50 ratas com 50 dias de idade tiveram o ciclo estral determinado, a partir da técnica de lavado vaginal, sendo que apenas ratas com o ciclo regular foram incluídas no estudo. As ratas foram expostas a uma caixa de vai-e-vem (sessão de habituação). 1h, 4h e 23h após receberam o tratamento farmacológico com IMI (15 mg/kg) ou MET (50 mg/kg) ou salina. Após 24 h, as ratas em proestro foram reexpostas à mesma caixa, onde receberam seis choques inescapáveis (1 mA, durante 3 s), com intervalos aleatórios entre 30 e 90 s (condicionamento). Após 24 h, as ratas retornaram à caixa, mas sem a apresentação dos choques (teste), registrando-se o tempo de congelamento, como descrito a seguir. Após o teste, as ratas foram reexpostas à caixa contextual durante 4 dias consecutivos, a cada 24 h, para se avaliar a extinção da memória aversiva. O tempo de congelamento, caracterizado pela ausência total de movimentos, inclusive das vibrissas, foi registrado em cada uma das sessões de teste e de extinção. Todos os procedimentos foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética (Protocolo #2019.1.1451.59.6).

Resultados

Tanto a IMI como a MET diminuíram o tempo de congelamento durante o condicionamento [DROGA:F(2,37)=6,08; $p=0,005$], mas não durante o teste [DROGA:F(2,46)=1,295; $p=0,1707$], quando comparados ao grupo controle. Por outro lado, foi observada uma facilitação da extinção da memória aversiva nos grupos tratados tanto com IMI como com MET [TEMPO: F(2,51)=16,33; $p<0,0001$]; DROGA: F(2,47) = 6,629; $p=0,029$] sem interação entre os fatores [F(8,100) = 1,947; $p=0,011$].

Conclusão

Nossos resultados indicam que a IMI e a MET foram capazes de atenuar a resposta de congelamento de ratas condicionadas durante o proestro, facilitando ainda a extinção da memória de medo contextual, nesse esquema de tratamento. No entanto, mais estudos são necessários para se verificar como se dá a interação com o estradiol.

Apoio Financeiro

CAPES #88887.628536/2021-00

Fapesp #20/039608-3

Palavras-chaves: ciclo estral, serotonina, glicocorticoides

Metirapona atenua a evocação da memória aversiva de ratas em proestro no modelo do medo condicionado ao contexto

Autores Giovana Vieira Viais Zagatto ¹, Rodrigo Campos Cardoso ², Julia Lopes Gonzalez ², Cláudia Maria Padovan ^{1,2}
Instituição ¹ FFCLRP-USP - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (Av. Bandeirantes, 3900 - Vila Monte Alegre, Ribeirão Preto - SP, 14040-900), ² FMRP-USP - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (Av. Bandeirantes, 3900 - Campus da Usp, Ribeirão Preto - SP, 14049-900)

Resumo

Introdução

O modelo do medo condicionado ao contexto é amplamente utilizado em estudos dos transtornos de ansiedade e de estresse pós-traumático e parece envolver os sistemas serotoninérgico e mediado por glicocorticóides. Além disso, evidências na literatura apontam para um possível dimorfismo sexual nas respostas comportamentais nesse modelo, já que fêmeas apresentam menor tempo de congelamento quando comparadas aos machos. Considerando-se o ciclo estral das fêmeas e a interação deste com o sistema serotoninérgico, é possível que as respostas de medo condicionado sejam afetadas. Além disso, dados da literatura apontam para uma interação com o sistema mediado por glicocorticóides nesse modelo, havendo poucos estudos em fêmeas.

Objetivo

Investigar os efeitos do tratamento com imipramina (IMI, inibidor de recaptação de serotonina e noradrenalina) ou metirapona (MET, inibidor da síntese de corticosterona) na evocação da memória aversiva de ratas condicionadas em proestro, no protocolo de medo condicionado ao contexto.

Métodos

Todos os procedimentos foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética (Protocolo #2019.1.1451.59.6). Foram utilizadas 28 ratas, com ciclo estral regular, sendo que as fases foram determinadas através do lavado vaginal diário. O protocolo de medo condicionado consistiu em uma sessão de habituação na caixa contextual durante 10 min no primeiro dia. Após 24h as ratas foram reexpostas à mesma caixa, onde receberam 6 choques nas patas (com intensidade de 1 mA e duração de 3s, em intervalos aleatórios de 30-90s). O condicionamento ocorreu durante a fase de proestro, momento em que há o pico de estradiol. Após 24h as ratas foram testadas, sendo expostas novamente à caixa sem a presença de choques, durante 10 min. O tratamento (via i.p.) com IMI (15mg/kg) ou MET (50mg/kg) diluídas em salina (1ml/kg) foi administrado após a sessão de condicionamento. Foi registrado o tempo de congelamento durante o teste, definido pela ausência de movimentos, inclusive das vibrissas. Para análise estatística foi utilizado teste ANOVA de duas vias.

Resultados

A MET diminuiu o tempo de congelamento quando comparada ao grupo controle ou IMI [F (2,25)=7,881; p=0,0022].

Conclusão

Os dados sugerem que a evocação da memória aversiva envolve a participação de sistemas mediados pela corticosterona.

Apoio Financeiro

Fapesp #20/03608-3

Palavras-chaves: Antidepressivos, Ciclo estral, Corticosterona

Mapas de conectividade funcional da evocação de memórias de medo ao contexto recente e remota em ratos

Autores Moisés dos Santos Corrêa ¹, Gabriel David Vieira Grisanti ¹, Isabelle Anjos Fernandes Franciscatto ¹, Tatiana Suemi Anglas Tarumoto ¹, Paula Ayako Tiba ¹, Tatiana Lima Ferreira ¹, Raquel Vecchio Fornari ¹
Instituição ¹ CMCC/UFABC - Centro de Matemática, Computação e Cognição, Universidade Federal do ABC (Alameda da Universidade, s/nº - São Bernardo do Campo, SP)

Resumo

Introdução

A evocação de memórias contextuais depende da atividade coordenada de um circuito de engrama alocado em diversas regiões cerebrais. Ao longo do tempo há uma reorganização desse engrama - de um circuito dependente do hipocampo para outro que favorece memórias emocionais - a chamada consolidação sistêmica. Ainda existe um debate sobre quais regiões são engajadas durante o processo de consolidação sistêmica em diferentes condições de treino.

Objetivo

Verificar o perfil de ativação e conectividade funcional de regiões relacionadas com a consolidação sistêmica em animais submetidos a um treino fraco ou forte de condicionamento de medo ao contexto, durante a evocação recente (2 dias) ou remota (28 dias).

Métodos

Quantificamos a densidade de Fos de 8 regiões encefálicas de um subconjunto de ratos Wistar machos utilizados em um estudo já publicado. Os ratos foram submetidos a um treino fraco (0,3 mA) ou forte (1,0 mA) de CMC e testados após 2 (recente) ou 28 (remota) dias. No estudo anterior vimos uma aceleração da generalização do medo dependente do tempo na evocação remota do grupo de treino forte (*Psychoneuroendocrinology* 110:104447,2019). No presente estudo comparamos a atividade de Fos das diferentes regiões entre os 4 grupos condicionados e 2 grupos controle, expostos somente ao contexto sem choques, por meio de ANOVAs. Utilizamos correlações de Pearson (r) para verificar associações entre Fos de cada região e o congelamento dos animais durante a sessão de teste. Utilizamos correlações de Spearman (rho) para avaliar a coatividade de Fos entre as diferentes áreas investigadas entre os 6 grupos. As regiões avaliadas foram os córtices insular anterior (aIC), pré-límbico (PL), cingulado anterior (ACC), retrosplenial anterior (aRSC), núcleo basolateral da amígdala (BLA) e 3 subregiões do hipocampo dorsal (CA1, CA3 e Giro Denteado, DG) CEUA-UFABC – 7479070916.

Resultados

Houve um aumento de Fos ($p < 0,05$) no grupo 1.0mA|Remota no aIC (média: $4,54 \pm 0,39$; $N=6$) e PL (PL: $2,64 \pm 0,18$; $N=6$). Valores médios de Fos de outros grupos para aIC encontram-se na faixa entre [1,19;2,62] e do PL na faixa de [1,19;1,65], e não há diferença entre eles ($p > 0,05$). A densidade de Fos no BLA, aIC e PL está associada com maior congelamento no teste remoto ($r=0,56$; $0,53$ e $0,57$; respectivamente; $p < 0,05$ nos 3 testes). A conectividade funcional entre as regiões analisadas foi menor no grupo 1.0mA|Remota (rho médio: $0,23 \pm 0,08$; $p < 0,05$, 28 correlações) do que nos outros grupos (0.3mA|Recente rho: $0,75 \pm 0,04$; 0.3mA|Remota rho: $0,77 \pm 0,03$; 1.0mA|Recente rho: $0,69 \pm 0,05$; 28 correlações cada grupo). No grupo 1.0mA|Remota a redução é especialmente significativa entre o DG do hipocampo e o aRSC com a BLA e ACC.

Conclusão

O aumento da intensidade de treino resulta em diferentes perfis de alocação do engrama e consolidação sistêmica, e esta diferença pode estar associada com o fenômeno da generalização do medo dependente do tempo. Este resultado tem relevância clínica na compreensão de transtornos psiquiátricos.

Apoio Financeiro

FAPESP #2017/24012-9, #2017/03820-0 e CNPQ.

Palavras-chaves: Consolidação sistêmica, c-fos, generalização do medo

A atividade da histona acetiltransferase p300/CBP no córtex pré-límbico é importante para a reconsolidação e persistência da memória de medo

Autores Mariana Furtado Bergmann ¹, Heloísa Victorino Guerra ¹, Ana Maria Raymundi ¹, Jeferson Machado Batista Sohn ¹, Cristina Aparecida Jark Stern ¹

Instituição ¹ UFPR - Universidade Federal do Paraná (Av. Cel. Francisco H. dos Santos, 100 - Jardim das Américas, Curitiba - PR, 81530-000)

Resumo

Introdução

A atividade do córtex pré-frontal medial, em especial do córtex pré-límbico (PL), contribui para a reconsolidação e persistência da memória de medo. O PL é considerado homólogo do córtex cingulado dorsal anterior de primatas e apresenta-se hiperativado em pacientes com o transtorno do estresse pós-traumático. Dentre os mecanismos envolvidos com a reconsolidação, destaca-se a acetilação de histonas e consequente regulação da expressão gênica. Evidências sugerem que a atividade da HAT p300/CBP na amígdala lateral está envolvida com a reconsolidação da memória de medo e de dependência à cocaína, no entanto, não se sabe se a atividade da HAT p300/CBP no córtex PL participa da reconsolidação da memória de medo.

Objetivo

Avaliar o papel da HAT p300/CBP no córtex PL durante a reconsolidação da memória de medo contextual.

Métodos

Ratos Wistar machos (3 meses de idade) com cânulas bilaterais direcionadas ao PL foram submetidos ao protocolo de condicionamento de medo ao contexto, que consistiu na familiarização, condicionamento (3 choques de 0,8 mA/3s) e reativação da memória. Para avaliar o efeito da inibição da HAT, o Teste A₁ e Teste A₂, foram realizados 24h e 7 dias após a reativação. No experimento 1 os ratos foram tratados com veículo (VEI) ou C646 (Inibidor da HAT p300/CBP, 5 ou 50 ng/0,2 µL/lado) imediatamente após a reativação. No experimento 2 e 3 os ratos receberam VEI ou C646 (50 ng/0,2 µL/lado) 1h ou 6h após a reativação, respectivamente. No experimento 4 os animais receberam VEI ou C646 (50 ng/0,2 µL/lado) 1h após a exposição ao contexto neutro (não-reativado). A ANOVA de medidas repetidas seguida pelo teste post-hoc de Newman-Keuls foi usada. Os resultados foram expressos como média±EPM da porcentagem do tempo de congelamento. Os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética local (CEUA#1209).

Resultados

No experimento 1, foi observado um efeito significativo do tratamento ($F_{6,64}=5,15$; $P<0,05$). A infusão de C646 50 no PL imediatamente após a reativação da memória diminuiu significativamente o tempo de congelamento durante o Teste A₂ (VEI: $43,52\pm5,80$; C646 5 ng: $47,72\pm5,65$; C646 50 ng: $24,28\pm9,67$ $n=10-12$ /grupo), mas não durante o Teste A₁, em relação ao controle. No experimento 2, foi observado um efeito significativo do tratamento ($F_{2,46}=9,87$; $P<0,05$). Os animais tratados com C646 50 apresentaram congelamento significativamente menor do que os controles durante o Teste A₁ (VEI: $64,07\pm4,39$; C646 50: $44,32\pm4,15$ $n=12-13$ /grupo) e Teste A₂ (VEI $45,28\pm4,44$; C646 50: $20,60\pm4,60$). Nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos quando o tratamento foi feito 6 h após a reativação, no experimento 3, ou após a exposição ao contexto neutro (não reativado), no experimento 4.

Conclusão

Os dados sugerem que a atividade da HAT p300/CBP no PL após a reativação produz efeitos dependentes do tempo, sendo que imediatamente após está envolvida com a persistência, enquanto que 1h após participa da reconsolidação da memória.

Apoio Financeiro: CAPES.

Palavras-chaves: Reconsolidação, Córtex pré-frontal medial, Acetilação de histonas