

RESUMO

A memória pode ser definida como a capacidade de armazenar informações ou experiências vivenciadas, embora grande maioria das memórias do nosso cotidiano são esquecidas ao longo do tempo. Sabemos que os processos moleculares e celulares envolvidos nas fases de consolidação, reconsolidação e extinção da memória tem sido bem caracterizados, mas o campo de pesquisa acerca das bases neurobiológicas do esquecimento tem sido negligenciado nos últimos anos. Neste trabalho investigamos o papel da sinalização mediada pelo Ca^{2+} sobre o esquecimento da memória de longa duração

MÉTODOS

Animais: Foram utilizados 216 ratos Wistar machos adultos (300-350g), mantidos em ambiente controlado com temperatura média de 24 C, fotoperíodo de 12h e comida e água *ad libitum*. **Procedimentos comportamentais:** Tarefas de Localização de Objetos (LO) e Reconhecimento de Objetos (RO): 4 sessões de 10 min de habituação na ausência dos objetos; 2 dias consecutivos de treino (cada sessão com 10 min, sendo posicionados dois objetos iguais em cantos opostos); e 1 sessão de teste de 5 min – no LO, é modificada a posição de um dos objetos, e no teste de RO há alteração de um dos objetos que difere em forma e textura. **Drogas:** Memantina (10 ou 20mg/kg, i.p) e MK801 (0,1 mg/kg, 12/12h), antagonistas não-seletivos do receptor NMDA. Inibidor de LVDCCs nimodipina (16mg/mL, i.p). Inibidor da proteína fosfatase calcineurina FK-506 (5mg/kg, s.c). Ifenprodil (1mg/mL), antagonista seletivo da subunidade GluN2B-NMDA (infusão intra-hipocampal unilateral de 0,5µL). **Eletrofisiologia:** Após a indução da LTP, foram registrados os potenciais excitatórios pós-sinápticos durante 180 minutos na região CA1 do hipocampo dorsal *in vivo*, sendo os fármacos (ifenprodil ou veiculo) infundidos 30 min após a indução da LTP.

RESULTADOS

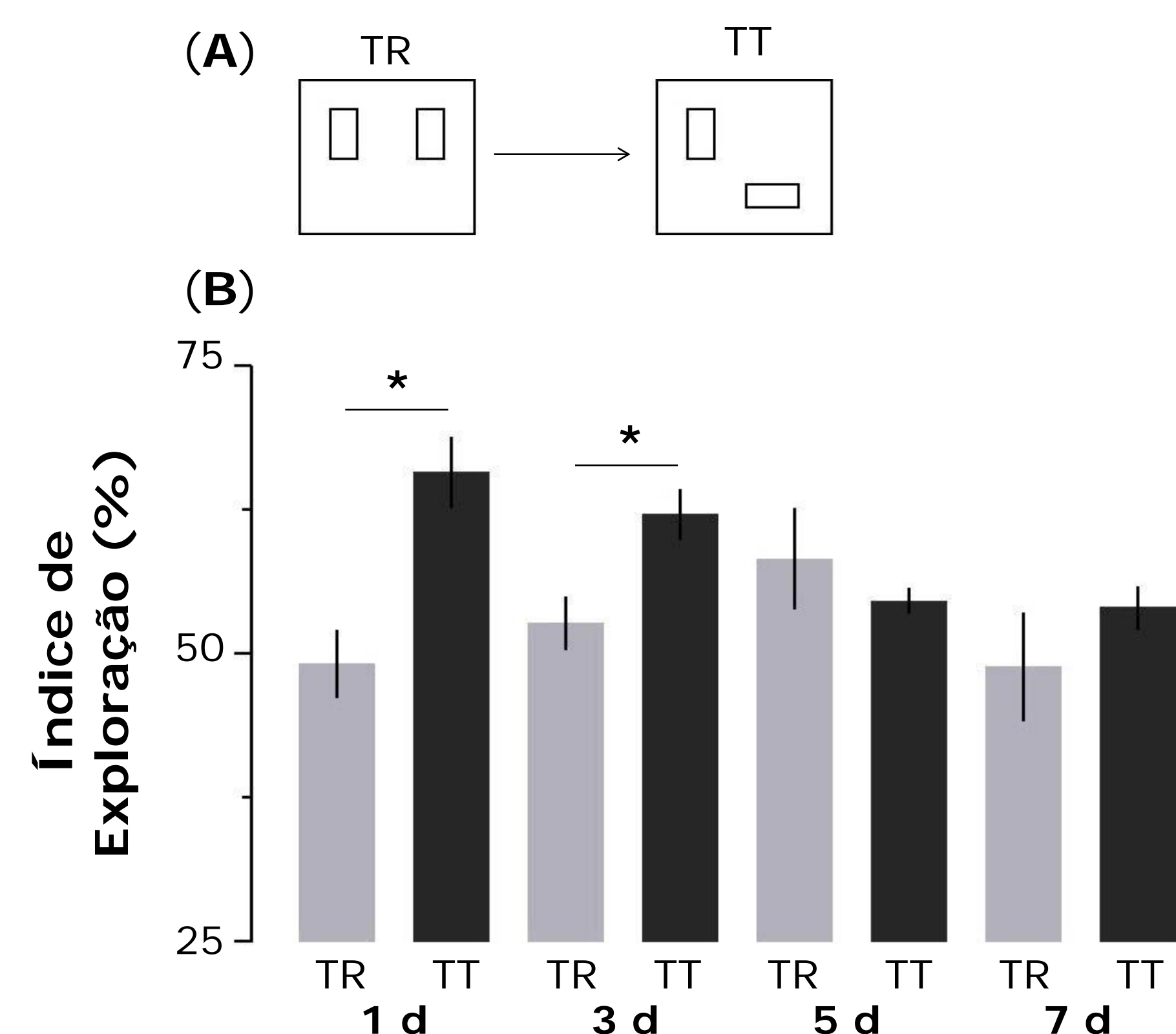


Fig 1. (A) Protocolo experimental da tarefa de Localização de Objetos (LO). (B) Ratos Wistar são capazes de evocar a memória de LO em 1 e 3 dias após o treino, mas não em 5 ou 7. * $P < 0.05$, $n = 6$.

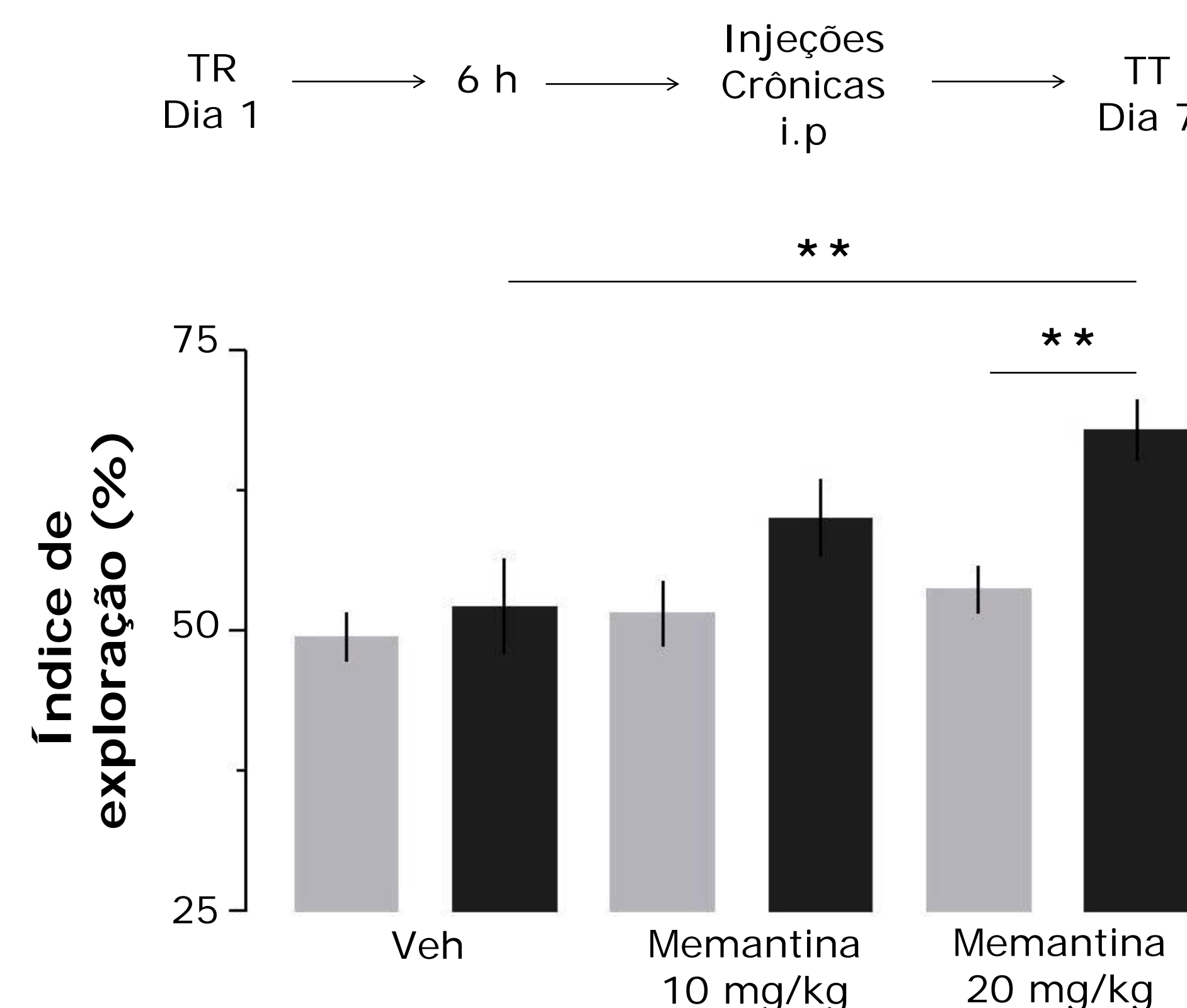


Fig 2. A memantina, um antagonista não-seletivo do receptor NMDA, quando administrado cronicamente, previne o esquecimento da memória de LO testada 7 dias após o treino. ** $P < 0.01$, $n = 6-9$.

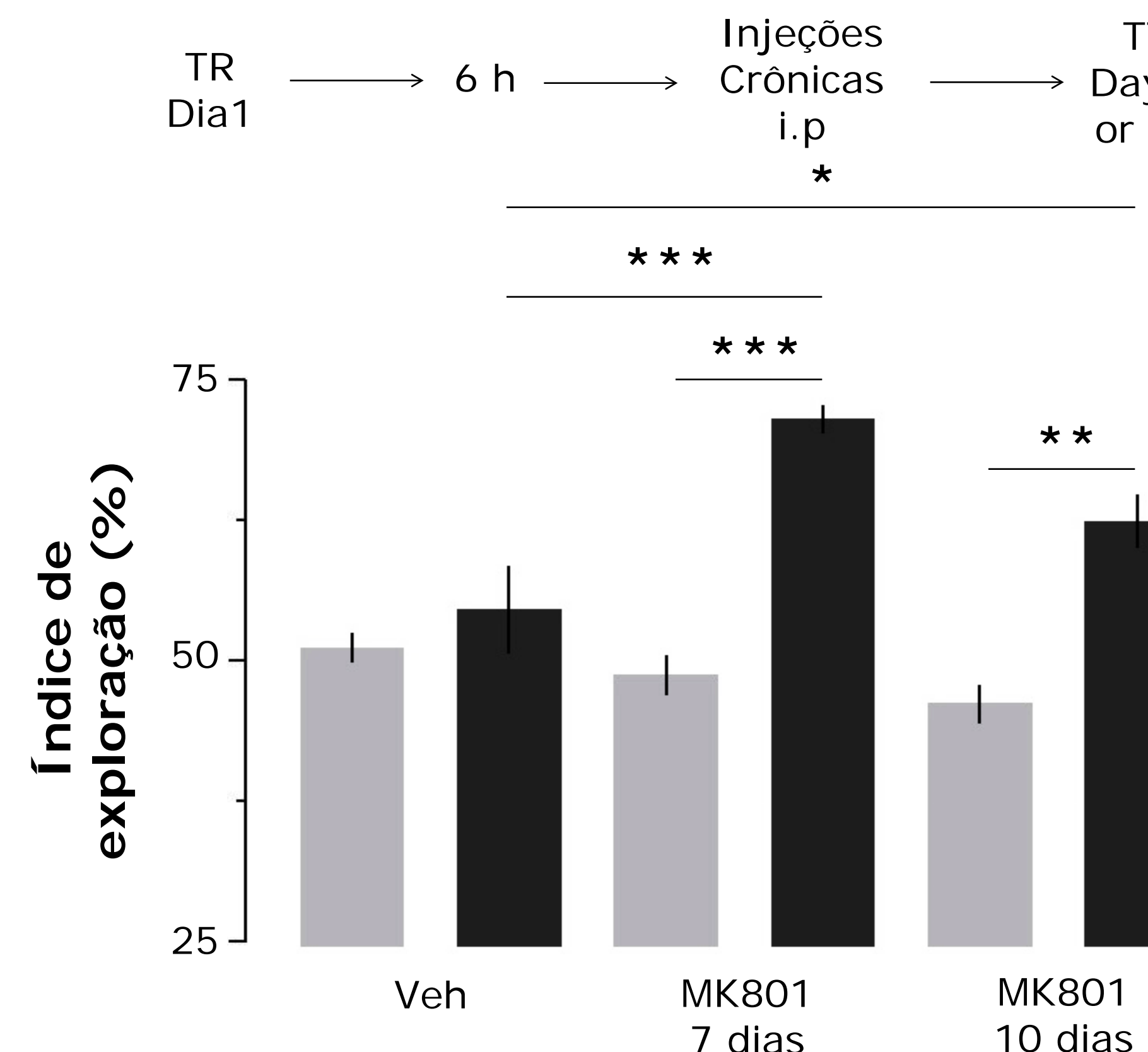


Fig 3. O bloqueio crônico do receptor NMDA usando MK801 previne o esquecimento da memória de LO por 7 e 10 dias após o treino. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, $n = 6-9$.

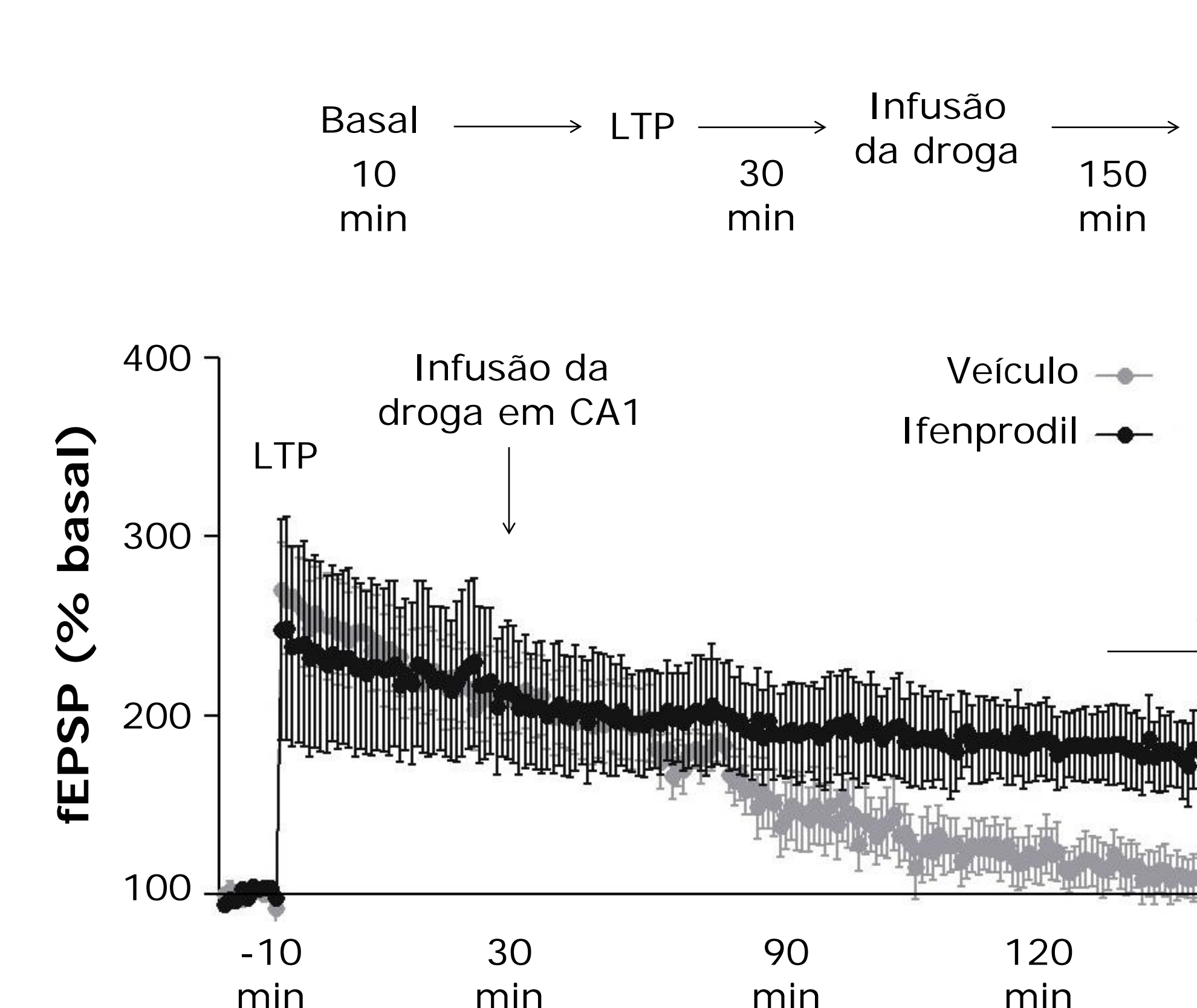


Fig 4. O decaimento da LTP no hipocampo é regulado pelo influxo de Ca^{2+} através da subunidade GluN2B do receptor NMDA. Veículo: $P = 0.98$, Ifenprodil: $P = 0.02$, $n = 4$.

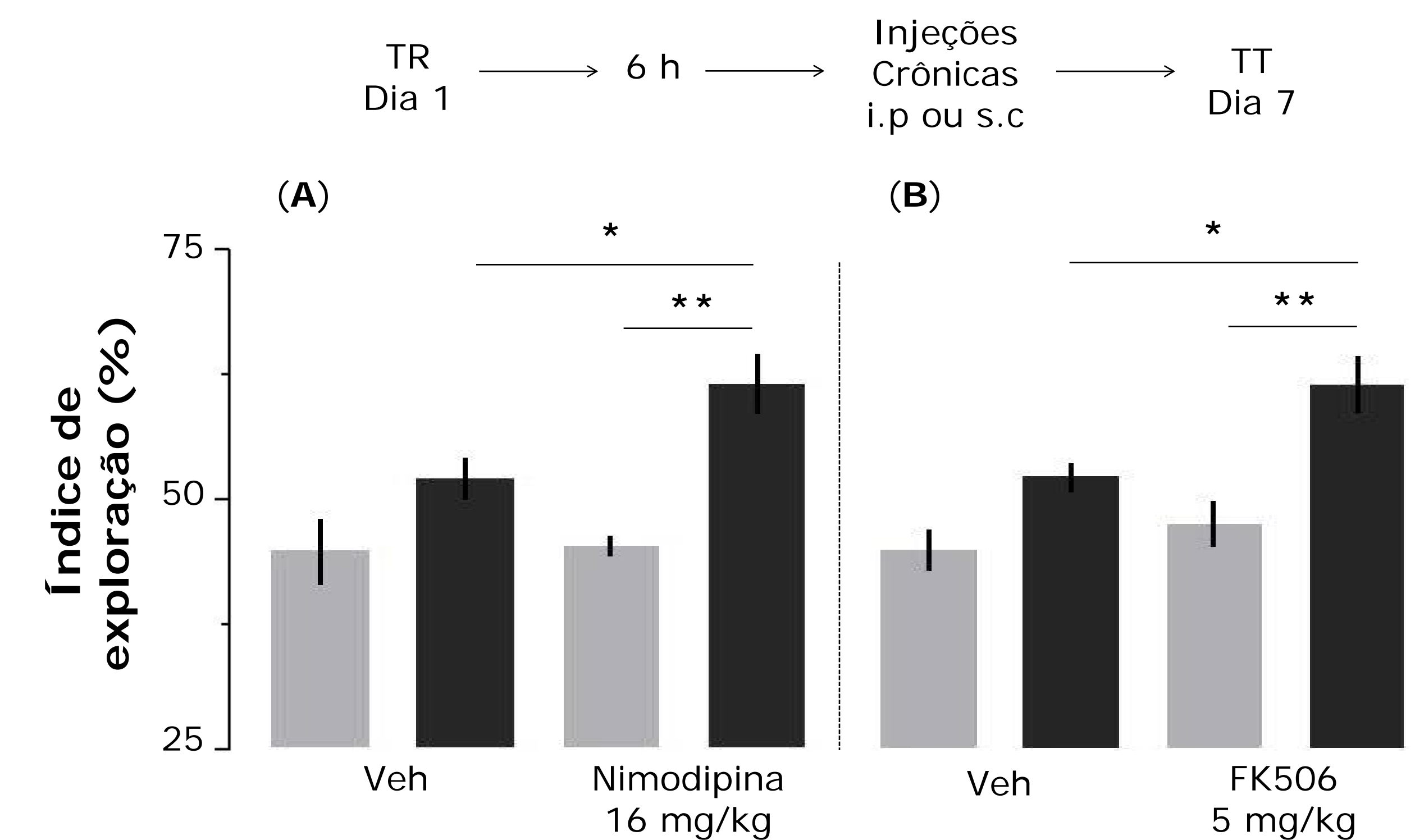


Fig 5. O bloqueio crônico dos (A) canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem do tipo L (LVDCCs) e da (B) proteína fosfatase calcineurina previnem o esquecimento da memória de LO. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, $n = 8-9$.

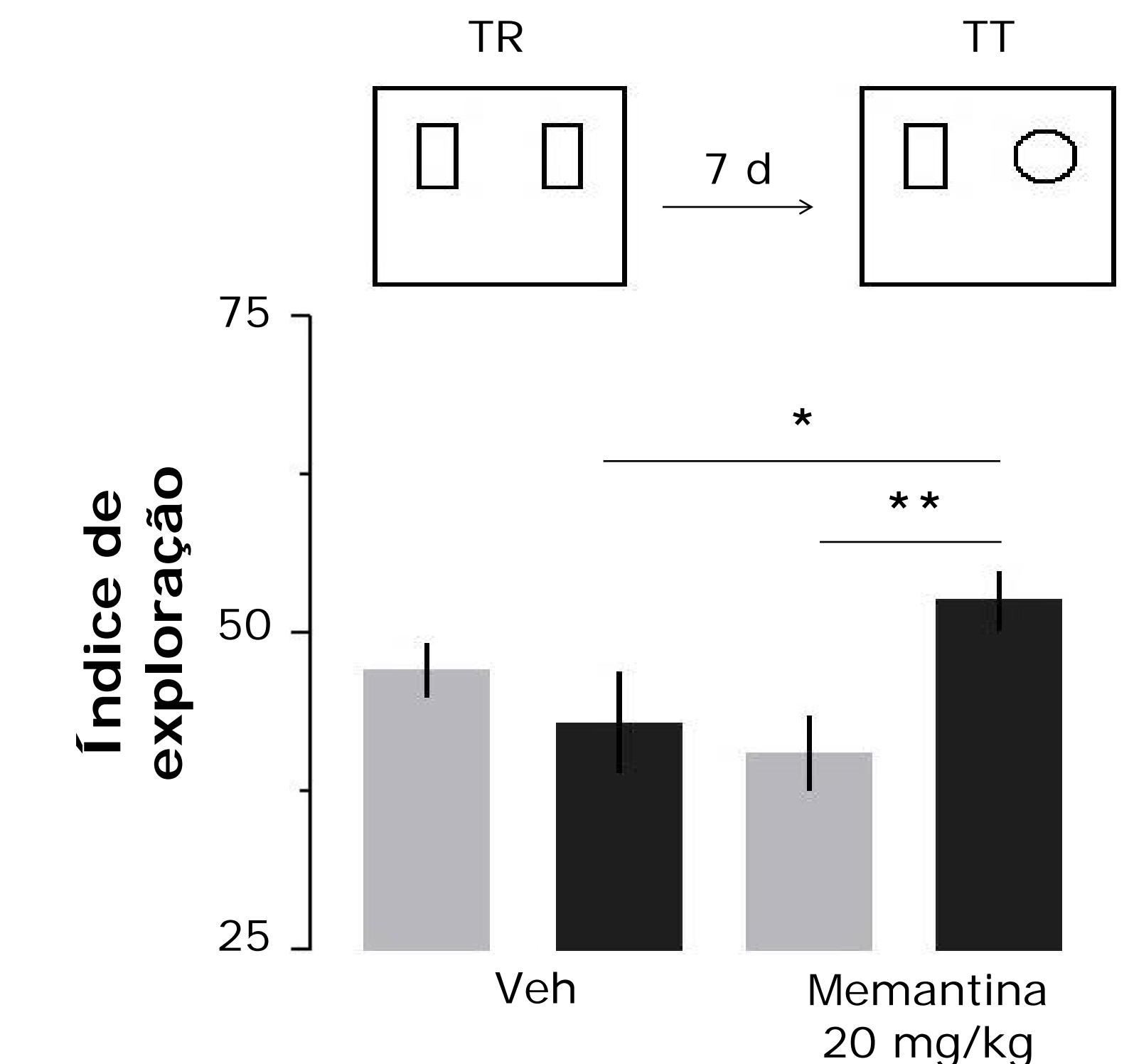


Fig 6. A inibição dos receptores NMDA previne o decaimento da memória de Reconhecimento de Objetos (RO) ao longo do tempo. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, $n = 6-8$.

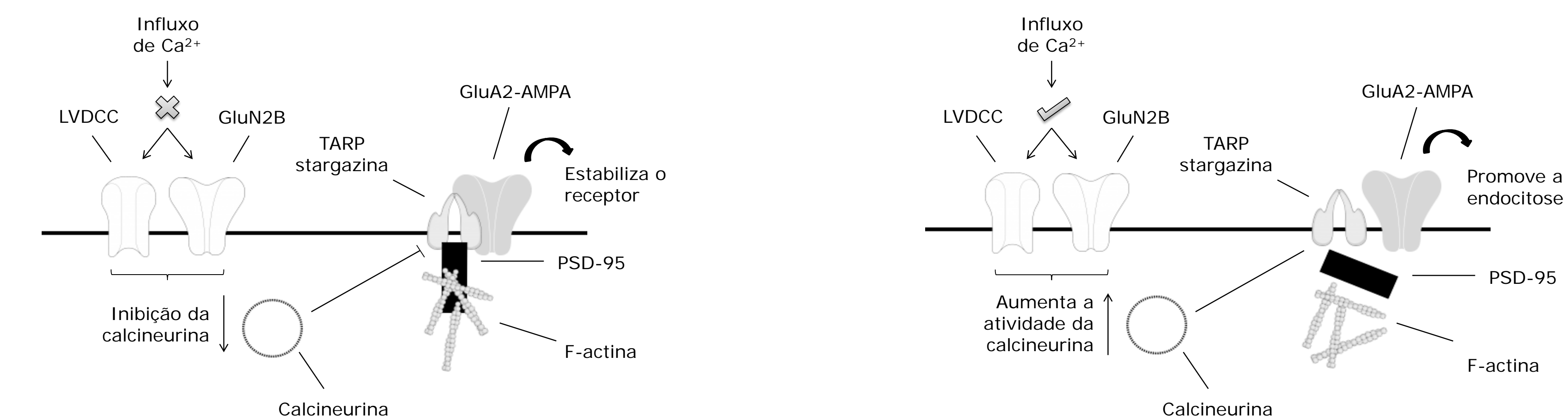


Fig 7. Um modelo teórico proposto para explicar as bases moleculares envolvidas no decaimento da LTP e da memória de longa duração ao longo do tempo. Os receptores GluA2-AMPA, quando estabilizados na densidade pós-sináptica, previnem o decaimento da LTP (painel esquerdo). O processo de desestabilização do complexo TARP-PSD95-Actina mediado pela ação da calcineurina, internaliza (endocita) o receptor GluA2-AMPA, fenômeno que promove a perda da memória (painel direito). Baseado nos nossos resultados, o bloqueio da sinalização mediada pelo influxo de Ca^{2+} via LVDCCs e NMDA após a estabilização (consolidação) da memória, bem como através da inibição da calcineurina, previne o esquecimento da memória de longa duração.

CONCLUSÕES

- O esquecimento de uma memória de longa duração dependente do hipocampo inicia entre os dias 3 e 5 após o aprendizado.
- Após a aquisição da memória, o bloqueio do influxo de Ca^{2+} através dos LVDCCs e dos receptores NMDA previne o esquecimento da memória de LO por 7 ou 10 dias, dependendo do protocolo.
- O mesmo efeito de manutenção da memória espacial foi observado através da inibição crônica da proteína fosfatase calcineurina, que está implicada na desfosforilação da stargazina – necessária para induzir a endocitose dos receptores AMPA em neurônios excitatórios pós-sinápticos.
- A ativação dos receptores NMDA também é necessária para induzir o decaimento da memória de RO, conhecida por ser independente do hipocampo.
- Em condições fisiológicas, o decaimento da LTP na região CA1 do hipocampo dorsal inicia aproximadamente 90 min após o estímulo tetânico, enquanto que o bloqueio da subunidade GluN2B do receptor NMDA (usando ifenprodil) previne a resposta de decaimento.
- A desestabilização do complexo pós-sináptico TARP-PSD95-Actina mediado pela ativação de calcineurina pelo influxo de Ca^{2+} , especificamente através do LVDCCs e do NMDA, deve ser o mecanismo responsável pela endocitose dos receptores AMPA para promover o esquecimento da memória de longa duração.

PRINCIPAIS REFERÊNCIAS

Bosch *et al.* 2014. Structural and molecular remodeling of dendritic spine substructures during long-term potentiation. *Cell* 16:82(2):444-59.
 Chen *et al.* 2011. PSD-95 is required to sustain the molecular organization of the postsynaptic density. *The Journal of Neuroscience* 31(17):6329-38.
 Davis RL 2010. Rac in the act of forgetting. *Cell* 140(4):456-8.
 De Oliveira Alvares L *et al.* 2012. Periodically reactivated context memory retains its precision and dependence on the hippocampus. *Hippocampus* 22(5):1092-5.
 Dong *et al.* 2015. Long-term potentiation decay and memory loss are mediated by AMPA endocytosis. *The Journal of Clinical Investigation* 125(1):234-47.
 Hardt *et al.* 2013. Decay happens: the role of active forgetting in memory. *Trends in Cognitive Sciences* 17(3):111-20.
 Hardt *et al.* 2014. GluA2-dependent AMPA receptor endocytosis and the decay of early and late long-term potentiation: possible mechanisms for forgetting of short- and long-term memories. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 369(1633):20130141.
 Kandel *et al.* 2014. The molecular and systems biology of memory. *Cell* 157(1):163-86.
 Tomita *et al.* 2005. Bidirectional synaptic plasticity regulated by phosphorylation of stargazin-like TARPs. *Neuron* 45(2):269-77.
 Villarreal *et al.* 2002. NMDA receptor antagonists sustain LTP and spatial memory: active processes mediate LTP decay. *Nature Neuroscience* 5(1):48-52.