

## 1. Introdução

Chamamos de memória a capacidade de um organismo adquirir, consolidar e evocar informações, sendo estas fases controladas por diferentes mecanismos neurobiológicos e com características próprias (Fig. 1). A Potenciação de Longa Duração (LTP) é um modelo de plasticidade sináptica que pode ser induzido por Estimulação de Alta Frequência (HFS) em neurônios pré-sinápticos, levando à potencialização das sinapses através de modificações pós-sinápticas e sendo um importante mecanismo celular que fundamenta a formação de memórias. Dentre o complexo, numeroso e ainda pouco conhecido conjunto de mecanismos neuromoduladores da memória, destaca-se o Sistema Endocanabinoide, cuja composição é de moléculas sinalizadoras (endocanabinoides), enzimas de síntese e degradação dessas moléculas, receptores de membrana e transportadores específicos (Fig. 2). Os receptores canabinoides são metabotrópicos de ação inibitória, sendo os receptores CB1 encontrados majoritariamente no terminal pré-sináptico e ativados por sinalização retrógrada através de endocanabinoides, sintetizados e liberados pelo neurônio pós-sináptico. Apesar de muitos estudos explorarem o papel da modulação endocanabinoide sobre a memória e plasticidade sináptica, pouco se sabe sobre o papel dos níveis fisiológicos dos endocanabinoides, como a anandamida, sobre estes processos. Os dados presentes na literatura são baseados, principalmente, em estudos com agentes farmacológicos com ação direta no receptor CB1, como agonistas e antagonistas. O objetivo desse trabalho foi estudar o Sistema Endocanabinoide através dos efeitos do AM404, um inibidor da recaptação de anandamida, sobre a consolidação da memória sobre a indução da LTP.

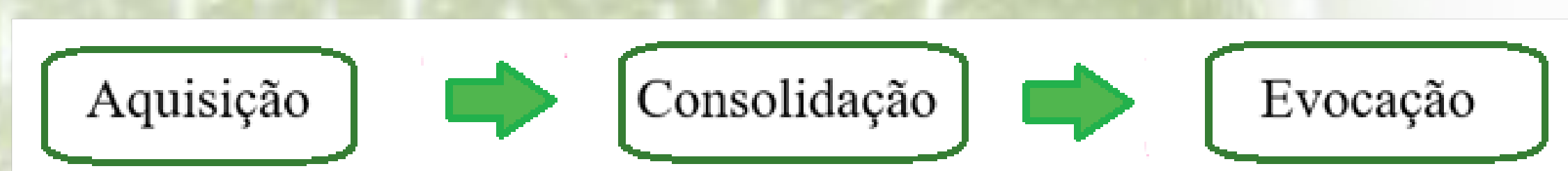


Figura 1: fases da memória. Adaptado de Quillfeldt, 2005.

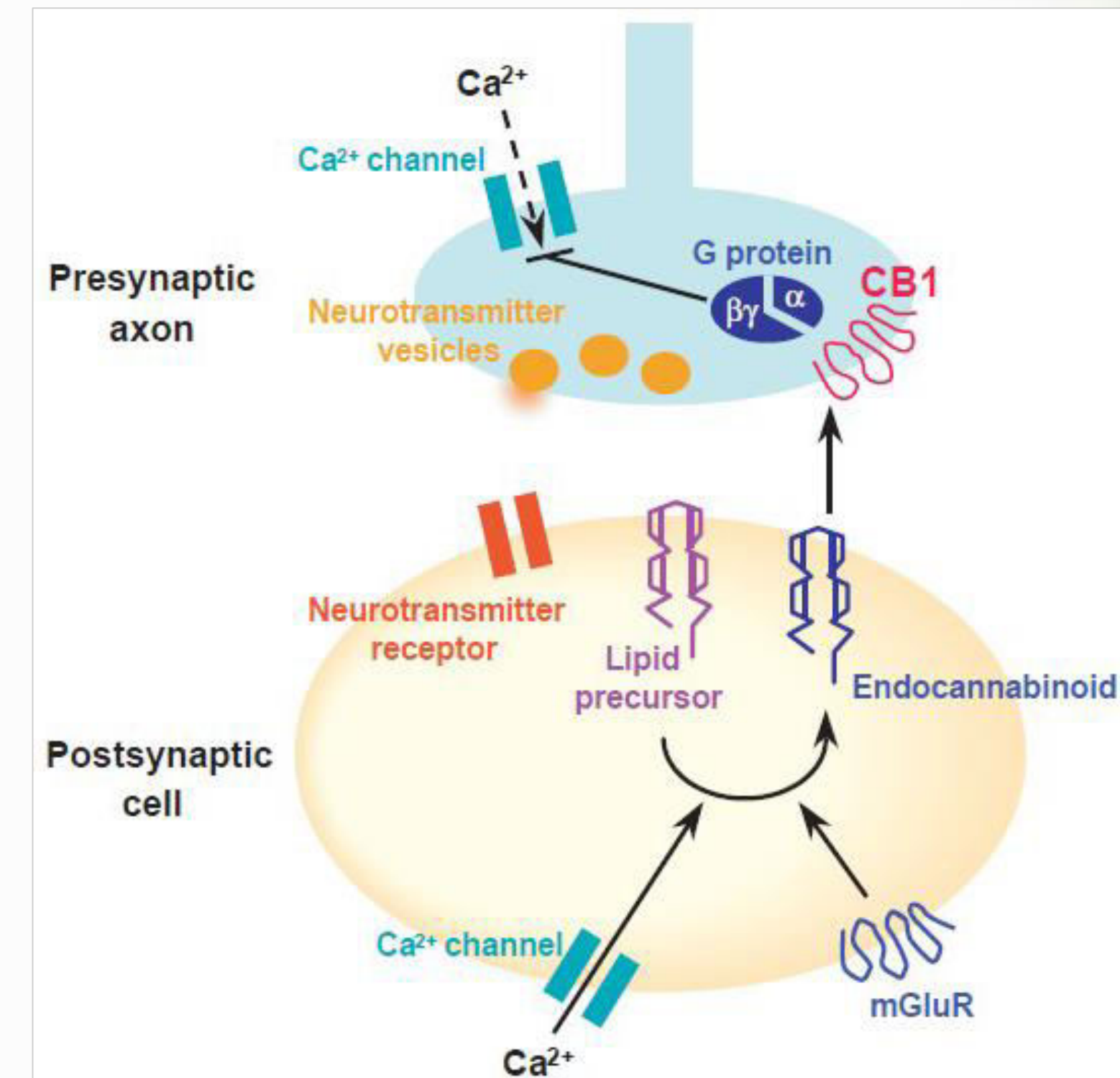


Figura 2: ilustração da sinalização retrógrada realizada pelo Sistema Endocanabinoide. A síntese de endocanabinoides ocorre a partir de lipídios de membrana devido entrada de cálcio na célula pós-sináptica. Depois de produzidos, os endocanabinoides, são difundidos até a região sináptica e se ligam nos receptores canabinoides, CB1, regulando a entrada de cálcio na célula pré-sináptica e modulando a secreção de neurotransmissores contidos nas vesículas sinápticas. Os transportadores não estão representados. Wilson & Nicoll 2002.

## 2. Metodologia

Ratos Wistar machos foram submetidos à cirurgia estereotáxica para a implantação bilateral de cânulas na região CA1 do hipocampo dorsal e posteriormente ao Condicionamento Aversivo ao Contexto (CAC) com choques de 0,5 mA ou 0,7 mA. O teste foi realizado 48 horas após o treino e variável experimental utilizada como índice de medo foi o tempo gasto em *freezing*, que consiste na ausência de movimentos visíveis, exceto os da respiração. O AM404 (55ng/0,5µL), foi administrado através de uma bomba de infusão, imediatamente após. Para o procedimento de eletrofisiologia *in vivo*, os animais foram anestesiados e receberam estímulos com pulsos pareados seguidos de Estimulação de Alta Frequência (HFS) na via *Colateral de Schaffer* do hipocampo dorsal. O AM404, o CP55,940 (agonista CB1) e o veículo foram administrados intra-CA1 15 minutos antes da HFS e os Potenciais Excitatórios Pós-Sinápticos (PEPS) foram registrados por 80 minutos.

### 3.2 Efeito do AM404 sobre a consolidação da memória no CAC com choque de 0,5 mA

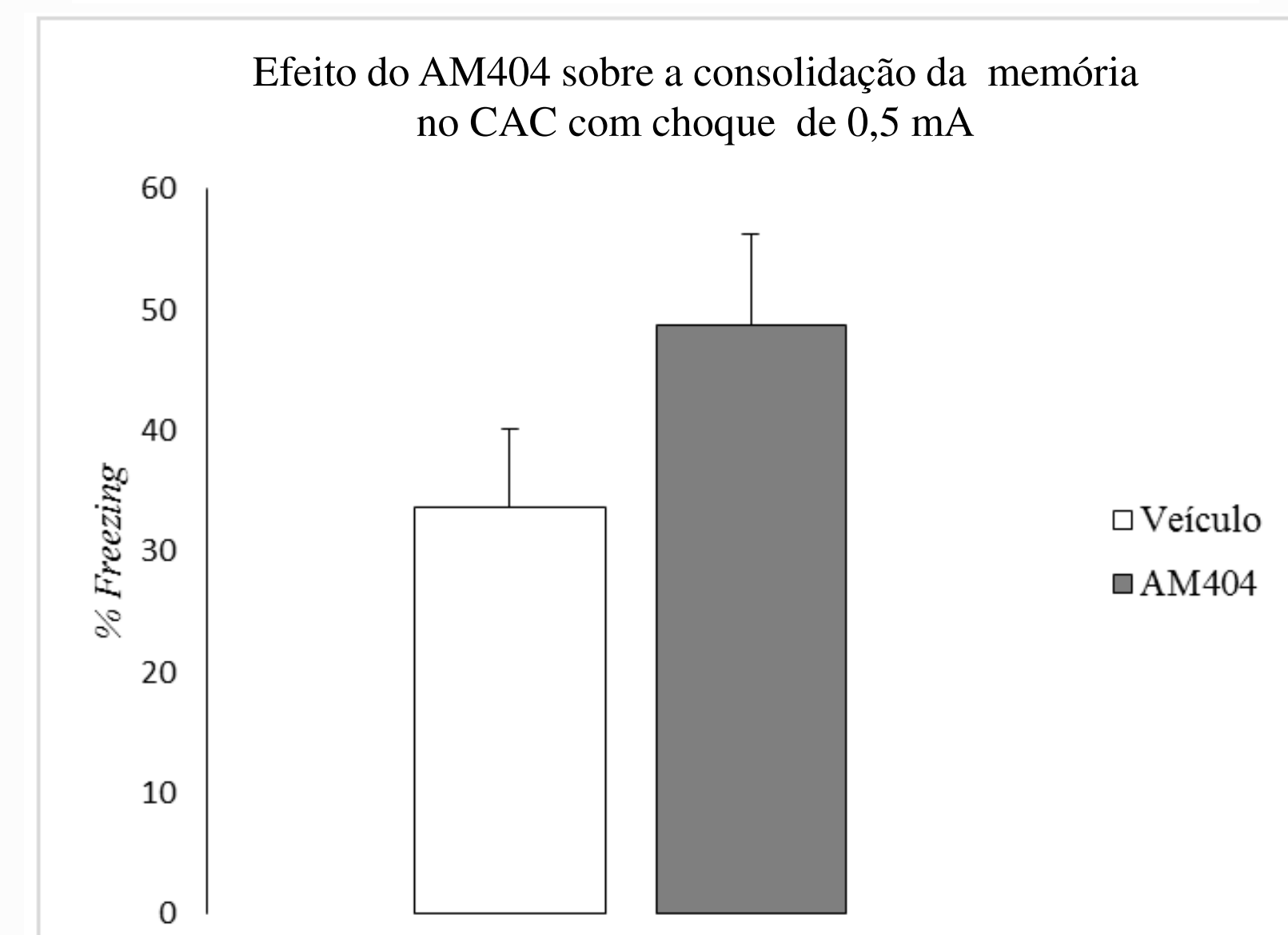
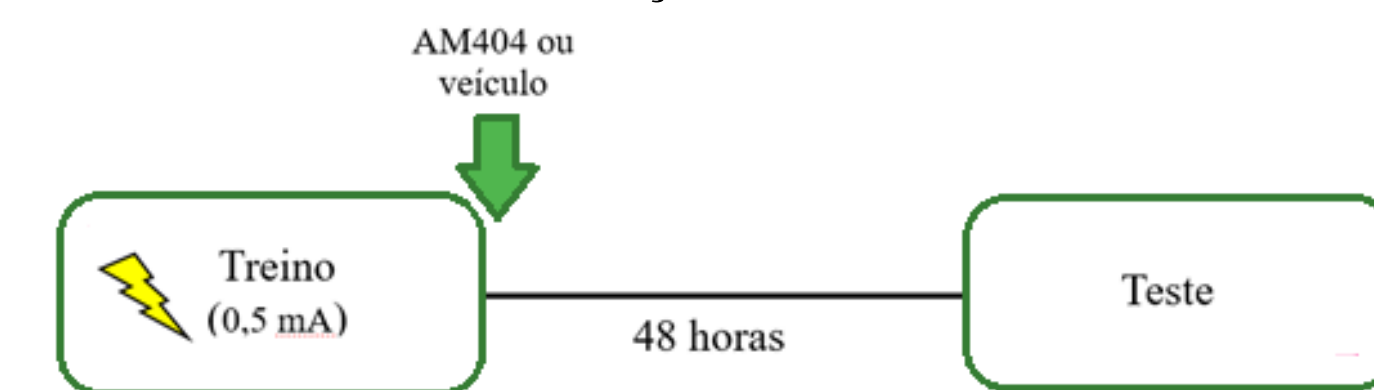


Figura 4: efeito do fármaco AM404 55 ng/0,5 µL infundido bilateralmente no hipocampo sobre a consolidação da memória na tarefa de Condicionamento Aversivo ao Contexto com choque de 0,5 mA. O teste foi realizado 48 horas após o treino. O diagrama acima corresponde ao desenho experimental. Os dados estão expressos como média e desvio padrão. N = 11 e 8 respectivamente.

## 3. Resultados

### 3.1 Efeito do AM404 sobre a consolidação da memória no CAC com choque de 0,7 mA

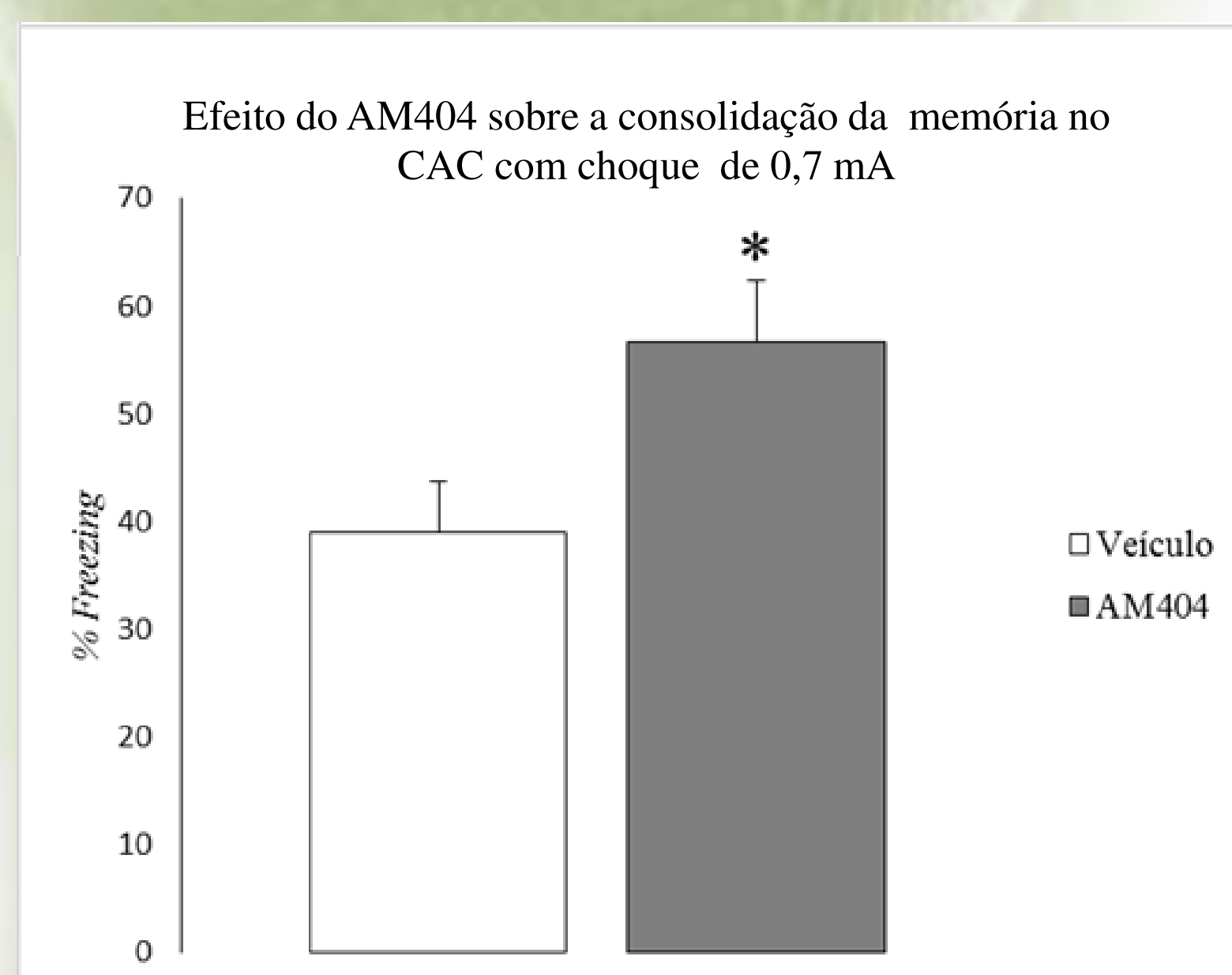
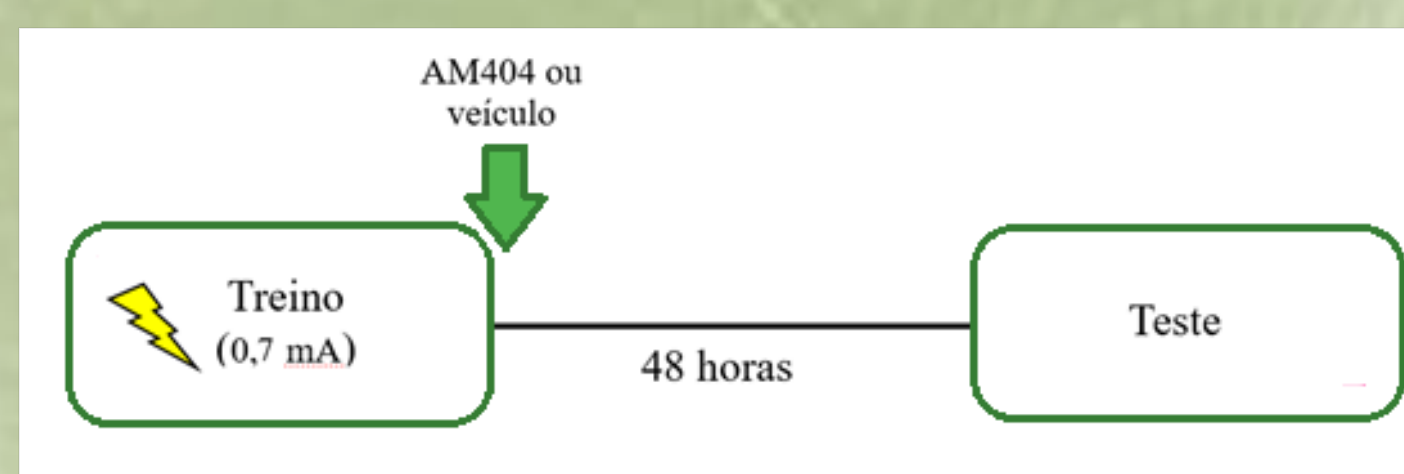


Figura 3: efeito do fármaco AM404 55 ng/0,5 µL infundido bilateralmente no hipocampo sobre a consolidação da memória na tarefa de Condicionamento Aversivo ao Contexto com choque de 0,7 mA. O teste foi realizado 48 horas após o treino. O diagrama acima corresponde ao desenho experimental. Os dados estão expressos como média e desvio padrão. \*Diferença significativa entre os grupos (teste t para amostras independentes, P<0,05) com n = 11 e 9 respectivamente.

### 3.3 Efeito do AM404 e do CP55,940 sobre a indução de LTP

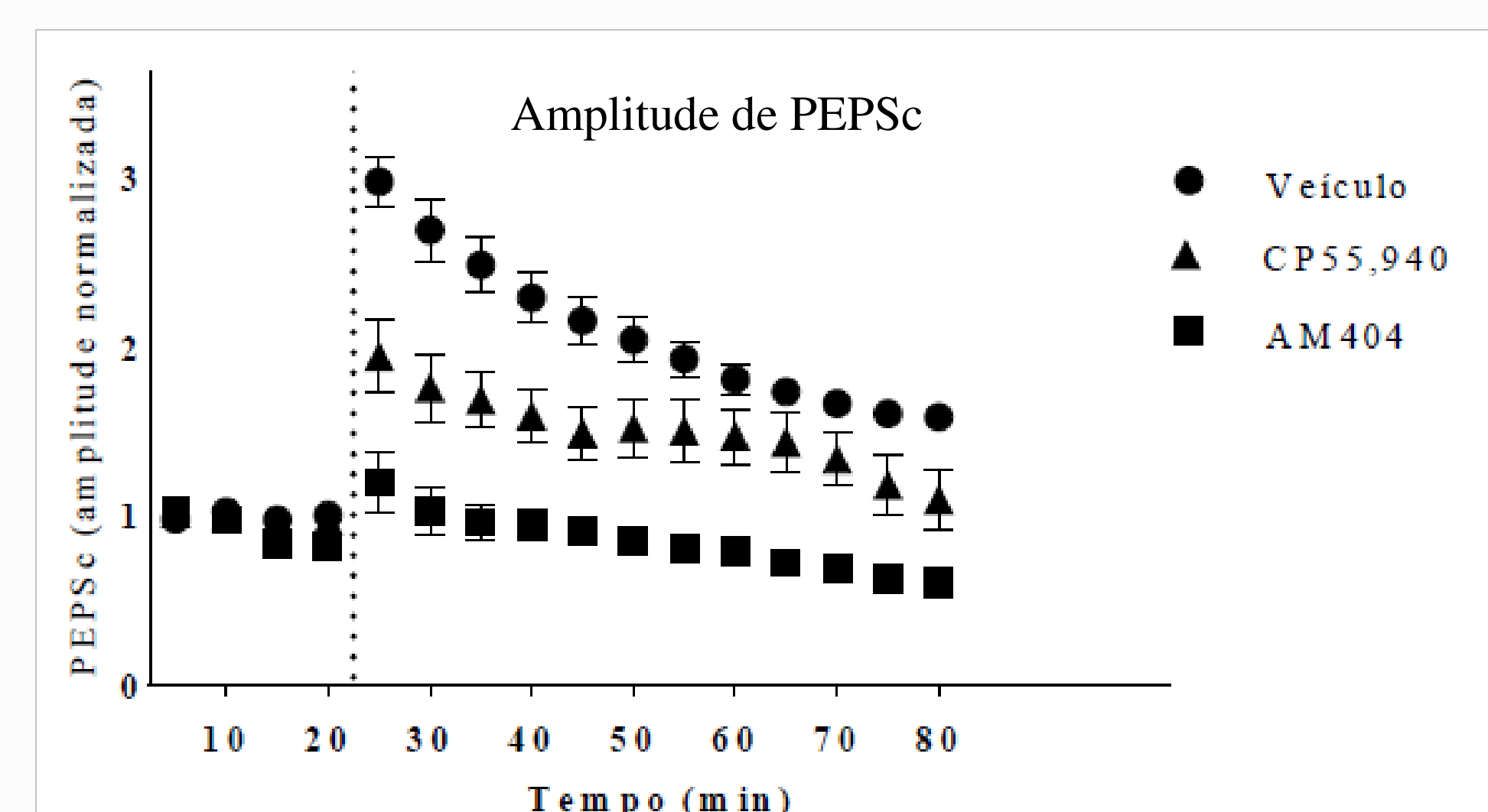


Figura 5: registro da amplitude dos PEPS ao longo do tempo mostrando o efeito da infusão intra-hipocampal 15 minutos antes da HFS de AM404 55 ng/0,5 µL e 2,5µg/µL do agonista CB1 CP55,940. Cada ponto representa a média e o desvio padrão dos registros normalizados de cada grupo. N = 5, 5 e 3.

## 4. Discussão

Os dados sugerem que o nível de aversividade da tarefa é um fator relevante para a sinalização endocanabinoide sobre a consolidação da memória e que inibir a recaptação de anandamida não é suficiente para tornar a memória sensível à facilitação quando a tarefa é menos aversiva. Tendo em vista que a HFS mimetiza um aprendizado e que a LTP caracteriza o estado eletrofisiológico em nível celular que corresponde a um traço de memória, os dados comportamentais e eletrofisiológicos são inconsistentes, provavelmente devido ao desenho experimental. A inibição da recaptação de anandamida impediu a indução da LTP, enquanto que a ativação direta do receptor CB1 apenas a atenuou. Esta diferença pode ser devido à diversidade de alvos moleculares da anandamida, como o receptor TRPV1.

## 5. Referências

- Wilson, R.; Nicoll, R. Endocannabinoid Signaling in the Brain. *Science*, v. 296, n. 5568, p. 678-682, 2002.
- Quillfeldt, J. Behavioral Methods to Study Learning and Memory in Rats. In: *Animal Models as Tools in Ethical Biomedical Research*. 1. ed. p. 340-383, 2005.
- McGaugh, J. Memory--a Century of Consolidation. *Science*, v. 287, n. 5451, p. 248-251, 2000.
- Izquierdo, I.; Medina, J. Correlation between the Pharmacology of Long-Term Potentiation and the Pharmacology of Memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 63, n. 1, p. 19-32, 1995.
- Pamplona, F.; Takahashi, R. WIN 55212-2 impairs contextual fear conditioning through the activation of CB1 cannabinoid receptors. *Neuroscience Letters*, v. 397, n. 1-2, p. 88-92, 2006.
- De Oliveira Alvares, L. et al. Stress response recruits the hippocampal endocannabinoid system for the modulation of fear memory. *Learning & Memory*, v. 17, n. 4, p. 202-209, 2010.
- De Oliveira Alvares, L. et al. Amnesic effect of intrahippocampal AM251, a CB1-selective blocker, in the inhibitory avoidance, but not in the open field habituation task, in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 83, n. 2, p. 119-124, 2005.