

MARIA SOCORRO DOS SANTOS AGUIAR

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO PERIFÉRICA DE SUBSTÂNCIA P  
SOBRE A RETENÇÃO DA APRENDIZAGEM DE DIFERENTES  
RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS EM RATO

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Departamento de Psicologia e Educação,  
Setor de Psicobiologia, da Faculdade de  
Filosofia, Ciências e Letras de  
Ribeirão Preto da Universidade de São  
Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz

Ribeirão Preto

1991

Ao meu pai e à minha mãe, que mesmo sem possuir a compreensão do que seja o "ensino superior" trabalharam toda uma vida para que eu frequentasse uma Universidade.

Ao Marcelo, pai da Helena.

## AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Doutor Carlos Alberto Bezerra Tomáz, por iniciarme na carreira científica através de uma excelente orientação.
- Ao Professor Doutor Sílvio Morato de Carvalho, pela orientação nos momentos finais deste trabalho e pelas opiniões e sugestões ao longo do curso.
- Ao muito especial colega **Paul**, pelos "ensinamentos" sobre a farmacologia da Substância P.
- Ao Jorge, por ter conseguido ser meu assistente técnico durante três anos.
- A Inês, Lúcia, Denise e Silvânia, pela atenção e disposição em ajudar com que sempre me dispensaram.
- Enfim, agradeço à todos os colegas da Psicobiologia com quem, sem dúvida, passei momentos bastante agradáveis neste período. E em especial, muito especial, àqueles que souberam me conhecer, se deixaram conhecer por mim e se tornaram verdadeiros amigos.

## SUMÁRIO

### I- INTRODUÇÃO

- 1.1. As Bases Neurobiológicas da Aprendizagem e Memória.....01
- 1.2. Neuropeptídeos e Comportamento.....13
- 1.3. O Neuropeptídeo Substância P: Seus Efeitos Sobre os Processos de Aprendizagem e Memória.....18

### I. OBJETIVO .....26

### III. MATERIAIS E MÉTODOS

- 3.1. Sujeitos.....27
- 3.2. Equipamentos
  - 3.2.1. Caixa Experimental.....27
  - 3.2.1. Campo Aberto.....29
- 3.3. Droga.....30
- 3.4. Caixas de Choque.....30
- 3.5. Ambiente Experimental.....30
- 3.6. Procedimento Experimental
  - 3.6.1. Habituação à Caixa Experimental.....30
  - 3.6.2. Treino.....31
  - 3.6.3. Teste.....31
- 3.7. Análise Estatística.....34

### IV. RESULTADOS

- 4.1. Teste de Geotaxia Negativa.....35
- 4.2. Teste de Alcova.....35
- 4.3. Teste de Plataforma.....35

4.4. Teste de Habituação.....	36
4.5. Teste de Procurar Água.....	36

<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>45</b>
-----------------------	-----------

<b>RESUMO.....</b>	<b>59</b>
--------------------	-----------

<b>SUMMARY.....</b>	<b>60</b>
---------------------	-----------

<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>61</b>
--	-----------

Quando uma pessoa ata um nó no lenço para ajudá-la a lembrar de algo, ela está, essencialmente, contruindo o processo de memorização, fazendo com que um objeto externo relembre-a de algo; ela transforma o processo de lembrança em uma atividade externa. Esse fato, por si só, é suficiente para demonstrar a característica fundamental das formas superiores de comportamento. Na forma elementar alguma coisa é lembrada; na forma superior os seres humanos lembram alguma coisa. No primeiro caso, graças à ocorrência simultânea de dois estímulos que afetam o organismo, um elo temporário é formado; no segundo caso, os seres humanos, por si mesmos, criam um elo temporário, através de uma combinação artificial de estímulos. A verdadeira essência da memória humana está no fato de os seres humanos serem capazes de lembrar ativamente com a ajuda de signos. Assim, a característica básica do comportamento humano é que os próprios homens influenciam sua relação com o ambiente e, através desse ambiente, pessoalmente modificam seu comportamento, colocando-o sob seu controle. Esse é o aspecto fundamental e característico que distingue a memória humana da memória animal.

L. S. Vygotsky, A Formação Social da Mente

## I - INTRODUÇÃO

## 1.1. AS BASES NEUROBIOLÓGICAS DA APRENDIZAGEM E MEMÓRIA

A idéia de que o cérebro cumpre um papel nos processos de aprendizagem e memória foi incluída nas especulações de diversos cientistas, desde René Descartes e Franz Joseph Galls. Um grande fator de estimulação para os estudos sobre a relação comportamento/cérebro na aprendizagem foi os trabalhos dos pioneiros da Psicologia Fisiológica, Ivan Pavlov, em 1927, e Karl Lashley, em 1929 (Tulving, 1987). Embora os termos aprendizagem e memória sejam comumente usados como se eles se referissem a um único processo, a biologia moderna e os estudos comportamentais dos últimos tempos indicam que cada termo abrange uma família de diferentes processos. A aprendizagem refere-se aos processos através dos quais os organismos adquirem novos conhecimentos sobre os eventos do mundo, e memória refere-se aos processos através dos quais nós retemos tais conhecimentos. Esse potencial para aprender e reter informações não é fixado através da espécie animal, mas paralelo à complexidade do sistema nervoso central (SNC) dos organismos (Morris *et al.*, 1988).

Segundo Hebb (1949), a base da aprendizagem é o traço de memória e este se encontra em alguma via estrutural e estática. Esse traço mnemônico começaria a consolidar-se com o passar do tempo, sendo que inicialmente ele se apresentaria em um estado frágil e instável, passando depois a um estado sólido e estável. Assim, Hebb levantou a hipótese de um traço dual de memória, propondo que os últimos traços de memória são produzidos pela atividade de um traço de memória a curto prazo,

ou temporal, o que leva à hipótese de uma possível base de consolidação (McGaugh, 1989).

O ponto de vista defendido por Hebb com respeito a uma possível via estrutural é estática para o traço de memória, reflete o pensamento localizacionista sobre o modo de ação do SNC nos mamíferos, na época em que os pesquisadores buscavam o "circuito" da aprendizagem e memória e seu armazenamento. No início do século, por exemplo, Pavlov (1927) sugeria que as estruturas neocorticais do cérebro dos mamíferos eram essenciais para a ocorrência da aprendizagem. Ele desenvolveu essa hipótese com base nos resultados de experimentos nos quais ele removia, cirurgicamente, todo o neocórtex de cães e propunha que a aprendizagem envolveria fortes conexões que ligariam uma parte do córtex à outra, havendo, assim, um prejuízo na retenção da tarefa treinada por esses animais.

Essa idéia veio se contrapor a uma outra, defendida por Lashley (1938), o qual introduziu uma nova abordagem sobre o funcionamento do SNC. Ao contrário de Hebb e Pavlov, Lashley defendia que a discriminação aprendida não se baseia na excitação de algumas células nervosas em particular, porém, é determinada unicamente por um padrão de excitação sensorial. Tal idéia sugere que o traço mnemônico, a mudança neural que é induzida pela experiência e que constitui a "memória", não representa uma mudança estrutural.

Para comprovar o ponto de vista de Hebb e Pavlov, Lashley (1963) realizou diversos experimentos com labirinto e discriminação de brilho, com ratos que sofreram ablações

neocorticais. Após treinar os animais em uma dessas tarefas, o autor fez uma ou mais ablações, em diferentes locais do neocortex, para cada rato. Os resultados obtidos demonstraram que as lesões não prejudicaram o desempenho dos animais quando expostos novamente às tarefas. Nos animais em que a aprendizagem foi prejudicada, isso não se deu de forma seletiva, uma vez que o déficit na aprendizagem foi correlacionado com déficits em outros comportamentos. Com isso, Lashley concluiu que os traços de memória seriam os últimos padrões da atividade reverberatória, sem um local fixo; ao contrário do que afirmou Pavlov, "o processo de aprendizagem e a sua retenção não são dependentes de alguma mudança estrutural localizada no córtex cerebral" (Lashley, 1963,). Trabalhos recentes têm corroborado essa conclusão. Por exemplo, Tomaz & Huston (Tomaz, 1987), realizaram experimentos utilizando ratos com lesões extensas do telencéfalo, em uma tarefa de esquiva inibitória, utilizando o paradigma de geotaxia negativa (Stäubli & Huston, 1979a), cujos resultados sugerem que a aprendizagem para esse tipo de tarefa é possível mesmo na ausência de todas as estruturas telencefálicas, e que seu armazenamento deve ocorrer a um nível subtelencefálico.

As idéias de Lashley e Hebb influenciaram profundamente as pesquisas e teorias sobre a psicologia fisiológica. Embora ambos tenham expressado um amplo interesse nas bases biológicas do comportamento, com relação a fisiologia da aprendizagem e memória suas contribuições são fundamentais. As pesquisas modernas sobre as bases neurofisiológicas da memória tiveram, provavelmente, como ponto de partida a postulação de Hebb (1949) de que "a atividade de um determinado neurônio causaria

alterações na atividade de outros neurônios que a ele estivessem vinculados quer por conexões sinápticas quer por uma simples vizinhança" (citado em Izquierdo, 1988a). As questões que foram levantadas tanto por Hebb quanto por Lashley, permanecem o centro de muitas pesquisas atuais: podem os sistemas neurais envolvidos nos mecanismos de aprendizagem ser localizados? Como são estabelecidas as memórias? Memórias recentes e memórias antigas têm bases diferentes? Qual a natureza das mudanças sinápticas que, presumivelmente, estão por trás dos traços de memórias? (McGaugh, 1983a).

Um completo conhecimento sobre os mecanismos da aprendizagem e memória dariam respostas a essas questões e as outras mais complexas, como por exemplo, são todas as experiências sensoriais armazenadas na memória, ou somente algumas são selecionadas para o armazenamento? Se existe essa seleção, qual a base para isso e quais os mecanismos que estão por trás dessa seleção? (Mc Gaugh, 1983a). Embora não existam, ainda, respostas para muitas dessas perguntas, dados de pesquisas recentes têm fornecido resultados promissores com respeito à localização e aos processos sinápticos da memória. É evidente que o registro, armazenamento e a evocação de memórias dependem de alterações a nível neuronal. Na maioria dos casos não sabemos que alterações são essas, nem quais os circuitos aí envolvidos. Na verdade, os circuitos ou vias envolvidos foram determinados em detalhes só em alguns casos específicos de memórias relativamente simples, e não há nenhuma evidência de que os mecanismos e os circuitos envolvidos em qualquer uma dessas

memórias sirvam também para outras. Pelo contrário, a lógica e a maioria das evidências indicam que há uma variedade muito grande de circuitos e mecanismos para a aquisição, processamento e evocação dos diversos tipos de memória.

No molusco **Aplysia**, foi estabelecido de forma bastante precisa os circuitos envolvidos na aquisição de várias formas simples de aprendizado motor: habituação e sensibilização de uma resposta de retração a um estímulo sensitivo e condicionamento clássico dessa resposta (Hawkins & Kandel, 1984 - citados em Izquierdo, 1988a); os resultados desse trabalho sugerem que a habituação é devida a uma diminuição da liberação de neurotransmissores, e a sensibilização e o condicionamento são acompanhados de um aumento da liberação de neurotransmissores, em sinapses ganglionares bem definidas. Em mamíferos, foi estabelecido através de estudos neurofisiológicos bastante controlados, envolvendo registros elétricos e criteriosas lesões circunscritas, a via do reflexo condicionado clássico de piscar o olho diante de um estímulo auditivo, no coelho, após pareamentos com um jato leve de ar nas pálpebras, assim como o sítio onde aparentemente se armazena essa resposta, que pelos resultados é subcortico-mesencefálico e inclui o cerebelo (Thompson *et al*, 1984, citado em Izquierdo, 1988a).

Resultados como esses melhoram as perspectivas das pesquisas sobre a neurobiologia da aprendizagem e memória, aumentando as chances de se encontrar respostas definitivas sobre as questões concernentes à localização dos neurônios envolvidos nos processos de memória, assim como os mecanismos detalhados desses processos a nível sináptico. Porém, "sejam quais forem, em

última análise, as bases anatômicas, bioquímicas e fisiológicas das memórias nos moluscos, não há nenhuma razão para se pensar que devam ser idênticas às aquelas da aquisição, registro, armazenamento ou evocação em mamíferos. Os sistemas sensoriais, interneuronais e motores são outros, tanto do ponto de vista anatômico (outros circuitos, outras conexões), como bioquímico (outros neurotransmissores, outros sistemas neuromoduladores)” (Izquierdo, 1988a).

Existem dois processos fundamentais com relação aos mecanismos da memória: o processo de **construção** e o processo de **reconstrução**. A construção é o processo da **consolidação**, que pode ser utilizada tanto para indicar um processo de solidificação, ou fortalecimento, representação da memória recém adquirida, como para indicar um processo combinatório de várias partes em um todo, da informação adquirida antes e depois do evento. Isso implica em dois pontos de vista diferentes sobre o que seja a consolidação. O primeiro, consolidação como fortalecimento, tem uma tradição mais longa, iniciada com Miller & Pilzecker (1900), Hebb (1949) e Gerard (1949) e tem sido altamente utilizado na investigação de mecanismos neurobiológicos da representação ou armazenamento de informações.

O segundo ponto de vista, consolidação como um processo combinatório, tem sido baseado, principalmente, em estudos das alterações cognitivas introduzidas por informações apresentadas posteriormente a eventos, em humanos; esse ponto de vista tem sido fortalecido pela descoberta da dependência de estado induzida por tratamentos após o treino, oferecendo novas

perspectivas para a compreensão e o tratamento da síndrome amnésica humana. Na verdade, evidências sugerem que os dois tipos de consolidação são mutuamente complementares (para revisão ver Izquierdo, 1988a, 1989).

O processo de reconstrução é a base da **evocação**, que é o único meio de se saber se uma determinada memória existe. Esse processo envolve os processos de consolidação semelhantes àqueles do momento da construção. Se for exposta ao sujeito uma parte da informação a ser evocada, esta evocação será facilitada, daí o processo de evocação ser visto como uma reconstrução da consolidação no momento do restabelecimento, e pode ser obtido utilizando-se material cognitivo ("**priming**"), ou estímulos neurohumorais, como a injeção de  $\beta$ -endorfina, ou a presumível liberação de  $\beta$ -endorfina por uma experiência nova interpolada. Esse efeito pode ser observado em animais com síndrome amnésica induzida por choque eletroconvulsivo, em humanos com amnésia de natureza orgânica e não orgânica. Aliás, a síndrome amnésica humana tem sido largamente explicada como um déficit do restabelecimento. Assim, é possível que a estimulação do restabelecimento por **priming** ou drogas, através da "reconstrução da consolidação", possa ser utilizada no tratamento da síndrome amnésica humana (Izquierdo, 1988a, 1988b).

Já é sabido que as memórias adquiridas podem vir a ser alteradas. Isso pode ocorrer por diversos fatores, como por exemplo, a evocação. Segundo Platão, e, muitos séculos depois, Bacon e depois Borges consideraram que recordar é sinônimo de inventar ou de aprender; como se fazer vir algo à memória fosse semelhante a incorporar a mesma pela primeira vez. Assim,

possivelmente, cada vez que nos lembramos de um evento, não nos lembramos realmente dele, porém, da última vez que o recordamos (citados em Izquierdo, 1988a). Porém, as memórias podem ser alteradas por diversos outros motivos, como a patologia, a administração de drogas e etc.

É sabido, também, que as memórias são muito mais suscetíveis de serem modificadas nos primeiros minutos ou horas após sua aquisição, do que em qualquer outro momento posterior. Inúmeros tratamentos administrados imediatamente ou logo após a aquisição de determinado comportamento, ou uma informação apresentada após algum evento, são capazes de alterar as memórias recém adquiridas; esses mesmos tratamentos, quando administrados ou apresentados algumas horas depois se mostram ineficazes. Essa dependência do tempo varia bastante com as tarefas, os experimentos a serem memorizados e com o tratamento ou informação ministrados "a posteriori". Essa suscetibilidade inicial das memórias à alteração, sugere que as memórias levam um certo tempo para serem consolidadas (para revisão ver Izquierdo, 1988a). O que está a favor da hipótese de Hebb sobre um traço dual de memória, cujo início seria frágil e instável e com o passar do tempo se fortaleceria e se consolidaria.

Têm-se verificado progressos com relação ao conhecimento dos sistemas fisiológicos envolvidos na formação de memórias. Cada vez são maiores as evidências de que o armazenamento da memória é regulado por sistemas cerebrais que não estão envolvidos em sítios de armazenamento, assim como por sistemas hormonais que são ativados pelas experiências. As pesquisas

feitas sobre o processo de consolidação da memória têm tentado determinar as bases dos efeitos de diversos tratamentos que influenciam o processo de armazenamento da memória. Assim, os primeiros estudos sobre a consolidação da memória examinaram os efeitos amnésicos da estimulação elétrica cerebral, assim como houve uma tentativa de determinar os efeitos da inibição da síntese de proteína cerebral. Porém, mais recentemente, as pesquisas nesse sentido têm se desenvolvido sob uma perspectiva diferente (McGaugh, 1983a).

Tratamentos logo após uma memória ser adquirida, alteram facilmente a retenção e isto sugere que a consolidação da memória pode ser influenciada por consequências fisiológicas não específicas das experiências passadas pelo organismo por ocasião do treino. A fragilidade da memória recente, ou seja, sua maior suscetibilidade em ser alterada, provê uma base para modulação endógena do armazenamento de memória e as influências moduladoras servem, então, para selecionar experiências para o armazenamento. Assim, Gold & McGaugh (1975) apontam três grandes razões para se preferir o uso do paradigma de tratamento após o treino: Primeiro: é óbvio que tratamentos que atuam por ocasião da treino, podem afetar diretamente o desempenho por diversas razões não relacionadas ao armazenamento da informação, não sendo possível afirmar com confiança se os resultados são produtos de um efeito direto do tratamento ou um efeito apenas desse tratamento; com o uso do tratamento após o treino é possível se chegar a essa conclusão, uma vez que o animal não se encontra sob o efeito do tratamento durante o treino. Segundo: as influências do tratamento após o treino, são maiores no período de tempo

em que se presume que as memórias estejam sendo armazenadas ou consolidadas, o que implica em uma maior capacidade para influenciar no armazenamento. Terceiro: como é conhecido que os sistemas hormonais são influenciados pelo treino, a influência de um tratamento após o treino é maior no período de tempo em que os hormônios normalmente têm uma maior oportunidade para atuarem sobre os processos de armazenamento da memória (citados em McGaugh, 1983b).

Porém, é preciso ter cuidado na interpretação de resultados de experimentos que utilizam tratamento após o treino, uma vez que existem evidências de que, sob certas condições, esses tratamentos podem induzir uma dependência de estado. Isto é, pode ser que a informação seja armazenada em um determinado estado cerebral, induzido pelo tratamento, e é, então, menos acessível sob outras condições cerebrais. Tem sido sugerido, também, que tratamentos após o treino podem atuar como reforçadores positivos ou punição, ou atuar simplesmente alterando a percepção do animal a respeito da intensidade do estímulo motivacional (ex. choque), utilizado na hora do treino (Carey, 1987). Entretanto, o fato de que tratamentos com drogas após o treino podem facilitar uma aprendizagem latente e o condicionamento sensorial (ex. a aprendizagem na ausência de reforçadores ou punições), argumentam fortemente contra essa interpretação (ver McGaugh, 1989).

Através de inúmeras pesquisas chegou-se à suposição básica de que os processos de armazenamento de memória são modulados pela ação de sistemas endógenos que são ativados por

ocasião de uma experiência de aprendizagem. Dessa forma, existem evidências de que a retenção pode ser modulada pela administração de hormônios e neuromoduladores que normalmente são liberados pela experiência, comparados àqueles utilizados no treino, assim como parece que a retenção pode ser alterada por tratamentos que alteram o funcionamento desses sistemas. Além do mais, sistemas hormonais influenciam o armazenamento da memória através da influência sobre os sistemas neuromoduladores, em regiões específicas do cérebro. Assim, as pesquisas sobre os processos de aprendizagem e memória têm verificado a implicação de uma variedade de sistemas hormonais, neuromoduladores e neurotransmissores.

Dados recentes têm sido adicionados às primeiras evidências que indicam que a memória pode ser influenciada - tanto de forma facilitadora quanto de forma prejudicial - por tratamentos após o treino e que afetam sistemas monoaminérgicos, colinérgicos e aminoácidos inibitórios, assim como o sistema peptidérgico. Isso leva a uma questão fundamental que é, se os efeitos moduladores da memória, por tratamentos que afetam sistemas hormonais e sistemas de neurotransmissão, refletem a operação dos processos que estão normalmente envolvidos no armazenamento da memória. Sabendo-se da complexidade dos sistemas cerebrais, não é, talvez, surpresa, que o armazenamento da memória seja suscetível aos tratamentos, afetando essa variedade de sistemas. E o que se verifica é que esses sistemas funcionam de forma interativa e convergente (McGaugh, 1989).

Estudos dos efeitos de sistemas hormonais e de neurotransmissão podem levar a um número de questões teóricas e conceituais: são estes efeitos dose e tempo dependentes? São estes efeitos específicos da tarefa ou são comuns a uma variedade de tarefas de treino e procedimento? Podem estes efeitos serem facilmente descritos para uma interpretação alternativa? São estes efeitos iniciados periférica ou centralmente? Como e onde os hormônios atuam no cérebro para modular os processos neurobiológicos sob o armazenamento da memória? Há evidências convíctas de que os sistemas hormonais e transmissores estão envolvidos na região do armazenamento da memória? (McGaugh, 1989).

## 1.2. NEUROPEPTÍDEOS E COMPORTAMENTO

Nas últimas décadas, um extenso número de peptídeos têm sido demonstrado no SNC dos vertebrados. Alguns deles já foram demonstrados em tecidos não neuronais de vertebrados e em espécies invertebradas, nos quais eles podem servir como elementos primitivos da comunicação intracelular, antes do desenvolvimento dos sistemas endócrinos e neuronais. Nos vertebrados, esses peptídeos parecem possuir papéis neurotransmissores ou neuromoduladores, e é sugerido seu envolvimento na regulação de um número de sistemas homeostáticos, embora os mecanismos de sua ação ainda não estejam completamente esclarecidos (Krieger, 1983).

Até recentemente, as monoaminas epinefrina, norepinefrina, dopamina e serotonina, a acetilcolina e os aminoácidos, tais como a glicina, a glutamina, e o ácido amino butírico, eram as únicas substâncias reconhecidas como neurotransmissores. Porém, ultimamente tem havido um interesse cada vez maior em se investigar um possível papel de neurotransmissores ou neuromoduladores aos peptídeos. A Substância P foi o primeiro peptídeo a ser quimicamente caracterizado como um possível neurotransmissor; no entanto, os candidatos a neurotransmissor aumentam rapidamente, já sendo possível relacionar centenas deles. Existem alguns que merecem destaque quanto a esse papel, como é o caso do Peptídeo Intestinal Vasoativo (VIP), a Colecistocinina (CCK), o Glucagon, o ACTH, a Substância P (SP), a Neurotensina, as Encefalinas, a Insulina, a Bradicinina e a Angiotensina (Krieger, 1983; Snyder,

1980).

Além de cumprir um papel fundamental do ponto de vista neurofisiológico, esses peptídeos têm demonstrado cumprir uma ação bastante relevante do ponto de vista comportamental. Diversos trabalhos têm demonstrado que a administração de neuropeptídeos, tanto periférica quanto centralmente, pode afetar uma diversidade de sistemas comportamentais, tais como o alimentar, a reação à dor, o controle de temperatura e pressão sanguínea, desordens psiquiátricas e os mecanismos de aprendizagem e memória (Krieger, 1983).

Com relação à participação dessas substâncias nos processos de aprendizagem e memória, existem inúmeras evidências experimentais. Por exemplo, estudos feitos com ratos hipofisectomizados demonstram um prejuízo na aquisição do comportamento de esquiva ativa na caixa de vai-e-vem. Esse quadro é revertido após o tratamento com ACTH, alfa e beta MSH e vasopressina. Esses dados levam à suposição de que os hormônios do complexo pituitário-hipotalâmico seriam as moléculas precursoras dessas substâncias. Outros exemplos que demonstram a participação desses neuropeptídeos nos processos de memória foram obtidos através de experimentos com ratos portadores de um defeito genético congênito na síntese da vasopressina, os quais apresentam uma menor capacidade para manter o comportamento aprendido de esquiva ativa e inibitória; e os experimentos nos quais a desglicinamida 9-lisina 8-vasopressina (DG-LVP) (2,4,5) reverteu o quadro amnésico induzido por puromicina, em camundongos (De Wied, 1977).

Foi verificado que a ação de peptídeos relacionados com o ACTH e a vasopressina é basicamente diferente, com respeito à duração do efeito. A curva temporal de efeitos comportamentais é curta e longa, respectivamente. Segundo De Wied (1977), uma explicação para essa diferença entre ACTH, vasopressina e peptídeos relacionados seria um aumento temporário no nível de motivação.

Um grande número de hormônios peptídicos parece provir de moléculas precursoras, cujos hormônios originários são clivados enzimaticamente. Resultados experimentais mostram que o ACTH 4-7 é tão ativo quanto a molécula de ACTH, na aquisição e extinção de determinados comportamentos, e que fragmentos N-terminais da vasopressina afetam a consolidação de respostas fisiológicas e comportamentais, através de uma ação direta do SNC e/ou periférico.

Existem, ainda, evidências de que os neuropeptídeos estão envolvidos na gênese das doenças neurológicas degenerativas, as quais apresentam sérias perturbações na capacidade de aquisição, consolidação e evocação de comportamentos aprendidos, como é o caso do **Mal de Alzheimer**, onde parece haver um decréscimo na concentração de somatostatina do córtex cerebral; e na **Coréia de Huntington**, onde as concentrações de CCK-8, SP e encefalina parecem estar diminuídas nos gânglios basais, enquanto que as concentrações de somatostatina estão aumentadas (Krieger, 1983).

Dentre os neuropeptídeos com atividade opióide, as encefalinas e a B-endorfina estão entre os mais claramente envolvidos nos processos de memória. Inúmeras pesquisas relatam que a met-encefalina possui um papel facilitador quando injetada

por via intraperitoneal, em ratos, em testes em um labirinto complexo (Kastin *et al*, 1976). Este peptídeo é capaz, também, de produzir efeitos amnésicos, segundo os dados de experimentos realizados por Izquierdo & Dias (1981) e Izquierdo *et al* (1981), em testes de esquiva ativa na caixa de vai-e-vem, com ratos e camundongos. Izquierdo (1980) demonstrou, também, que a  $\beta$ -endorfina influencia o processo de memória para determinadas tarefas comportamentais em ratos, como a esquiva ativa na caixa de vai-e-vem e a habituação de uma resposta de levantar (rearing) a um determinado tom. O autor verificou que esse peptídeo não tem efeito sobre a aquisição da resposta (administração pré treino), no entanto, quando administrada antes da sessão de teste (administração pré teste) ela facilita o restabelecimento (evocação) de ambas as tarefas. Nesse trabalho, Izquierdo (1979) demonstra, ainda, que o antagonista opióide, a naloxona, é capaz de facilitar a retenção (administração após o treino) dessas duas tarefas, causando um efeito amnésico quando administrada antes do treino (efeito sobre a aquisição) e não apresenta nenhum efeito sobre o restabelecimento (administração pré teste) dessas respostas. Tais resultados, seriam, segundo Izquierdo (1979, 1980), consequências de diferentes canais existentes para os sistemas de armazenamento e restabelecimento de informações.

Esses resultados são consistentes com a hipótese de que essas duas formas de aprendizagem são dependentes do estado sobre a liberação de  $\beta$ -endorfina (e provavelmente de outros neuropeptídeos), que essa substância é liberada durante durante o treino em quantidade suficiente para essa proposta e que existe

um mecanismo amnésico fisiológico mediado por peptídeos opióides. Além do mais, tais resultados são consistentes com observações prévias de que a  $\beta$ -endorfina é liberada no cérebro do rato durante o treino, porém não durante a sessão de teste dessas duas tarefas. Isso leva à suposição de que a dependência de estado e os efeitos amnésicos compreendem um mecanismo único, ao invés de dois mecanismos separados.

Tem sido demonstrado que, em ratos, a retenção de uma esQUIVA inibitória é facilitada por injeções centrais de naloxona na amígdala, após o treino; e a administração de levorfanol, que é um agonista opióide, no mesmo local, resulta em prejuízo da retenção dessa mesma tarefa, sendo que esse efeito é bloqueado pela administração concorrente de naloxona. Os resultados de estudos com a morfina são menos consistentes. Enquanto que alguns experimentos mostram que a morfina, administrada após o treino, prejudica a retenção, outros têm relatado que injeções intracerebro-ventricular (i.c.v.) ou sistêmicas, facilitam a retenção. Os estudos que relatam o efeito facilitador geralmente são aqueles que utilizaram doses mais altas. Tais resultados levam à suposição de que os efeitos dos antagonistas e agonistas opióides dependem tanto da dose quanto das condições experimentais utilizadas (McGaugh, 1983b).

### 1.3. SUBSTÂNCIA P: SEUS EFEITOS SOBRE OS PROCESSOS DE APRENDIZAGEM E MEMÓRIA

A Substância P (SP) é um neuropeptídeo, pertencente à família das taquicininas, constituída por uma cadeia de onze aminoácidos **H-ARG-PRO-LYS-PRO-GLN-GLN-PHE-PHE-GLY-LEU-MET-NH<sub>2</sub>**, possuindo diversos efeitos farmacológicos e comportamentais e alguns deles relacionados aos mecanismos de aprendizagem e memória.

A descoberta da SP ocorreu com o trabalho realizado por von Euler & Gaddum (1931), através de bioensaio em extratos de cérebro e intestino equinos. Seu isolamento e caracterização como um undecapeptídeo foi realizado 40 anos depois, por Chang & Leeman (1970). Com isto, foi possível a utilização de técnicas altamente específicas de imunohistoquímica e radioimunoensaio, as quais permitiram um mapeamento detalhado da distribuição desse peptídeo no SNC e periférico dos mamíferos e, conseqüentemente, estudos mais refinados sobre seu modo de ação.

Inúmeras pesquisas demonstram que esse neuropeptídeo parece cumprir um papel tanto de neuromodulador quanto de neurotransmissor do SNC do mamífero. Essa suposição baseia-se no fato de a SP possuir algumas das características de um neurotransmissor, como por exemplo sua larga, porém seletiva, distribuição no SNC tanto do rato quanto do homem; é encontrada em vesículas de terminais axônicos, assim como em corpos celulares; pode ser liberada em fatias cerebrais e sinaptossomas através de uma estimulação induzida, sendo que tal processo é dependente de cálcio (Shults *et al*, 1984).

Muitos investigadores têm demonstrado que a administração central da SP pode modificar a aprendizagem e a retenção de determinados comportamentos em ratos e camundongos. Uma alta densidade de SP encontrada em áreas cerebrais parece estar relacionada aos mecanismos da memória, uma vez que são verificados efeitos amnésicos ou hiperamnésicos causados por estimulação elétrica pós-treino, dessas áreas. O seu envolvimento em alguns tipos de processos da memória é sugerido por uma série de estudos demonstrando que a SP, quando administrada após o treino, interfere na aprendizagem de um teste de esQUIVA inibitória, dependendo do sítio cerebral na qual ela foi injetada, o que leva a crer que seu efeito está subordinado ao sítio de injeção no SNC.

Huston & Stäubli (1978) demonstraram que a injeção de SP na substância negra (SN) prejudica a retenção de um teste de esQUIVA inibitória em ratos, observando-se um quadro amnésico retrógrado; enquanto que no hipotálamo lateral/feixe prosencefálico medial (HL/FPM) e no núcleo medial do septo (NMS), Huston & Stäubli (1979b) verificaram uma facilitação da mesma. Stäubli & Huston (1985) verificaram, também, efeitos similares quando utilizaram o paradigma de preferência por lugar em um labirinto em T modificado. Segundo esses autores, esses resultados levam à hipótese de que os efeitos da SP no processo de armazenamento da aprendizagem estão subordinados as propriedades aversivas ou recompensadoras de determinadas regiões cerebrais, paralelamente à sua dependência de sítios com efeitos facilitadores ou prejudiciais à memória.

Curiosamente, efeitos similares foram encontrados através da estimulação elétrica dessas regiões cerebrais, após o treino (Berman & Kesner, 1976; Destrade & Jaffard, 1978; Huston et al, 1977). Isso pode significar que a SP facilita ou prejudica a aprendizagem de uma determinada resposta mimetizando a ação recompensadora ou punitiva dessas áreas cerebrais, ou seja, no HL/FPM e septo os efeitos facilitadores da estimulação elétrica podem ser devidos à liberação da SP, ou alternativamente, os efeitos da SP podem ser devidos à essa ação facilitadora ou prejudicial dessas estruturas. Essa idéia fortalece a hipótese de que a SP pode ter efeitos reforçadores, punitivos, assim como neutros ou indefinidos, dependendo do sítio de injeção (assim como da dose) no SNC. A conclusão seria a de que, em determinadas estruturas prosencefálicas, a SP cumpre um papel na mediação do reforçamento positivo, enquanto que em outras regiões, como o complexo amigdalóide e SN, ela parece ter um papel de mediador da punição. Isso está de acordo com a idéia defendida por Huston et al (1977), em sua Teoria Central do Reforço, de que reforçadores positivos, após o treino, levam a uma facilitação e melhor consolidação da aprendizagem, enquanto estímulos aversivos são capazes de interromper o processo de consolidação, levando a uma inibição, ou prejuízo, da aprendizagem.

Recentemente, diversos autores têm demonstrado que o núcleo basal magnocelular (NBMC) é outra região cerebral que parece está relacionada ao processo de aprendizagem e memória e, ao mesmo tempo, à SP: ele possui uma alta densidade de fibras nervosas que são imunorreativas à SP (Ljungdahl et al, 1978),

assim como terminais que contêm SP ( Bolam et al, 1986). Dados da literatura sobre a administração de SP diretamente nessa região têm corroborado a hipótese de que esse neuropeptídeo tem um papel mediador na aprendizagem e memória. Tem sido verificado um efeito facilitador da SP, para diversas topografias de respostas, quando administrada após treino, em regiões cerebrais reconhecidas como possuindo propriedades reforçadoras, como é o caso do NBMC. Assim, Kaffetzopoulos et al (1986), utilizando o paradigma de esquiva inibitória de geotaxia negativa, demonstraram um efeito facilitador da SP, quando administrada diretamente na região do NBMC; Holzhäuer et al (1988), obtiveram resultados semelhantes com a utilização do teste de preferência por lugar; e Nagel & Huston (1988) obtiveram resultados que replicam aqueles acima citados, utilizando o paradigma de esquiva inibitória do tipo plataforma.

Sobre os efeitos da administração periférica da SP nos processos de aprendizagem e memória existem poucos trabalhos. O primeiro trabalho conhecido que relata esses efeitos foi realizado por Hecht et al (1979), e os dados demonstram que a administração intraperitoneal de 250 e 500 µg/Kg de SP, antes do treino, tem um efeito prejudicial na aprendizagem de uma tarefa de esquiva inibitória. Segundo Schlesinger et al (1983a), o fato de a administração ter sido antes do treino dificulta concluir se a SP agiu de forma direta na aprendizagem. Esses resultados poderiam ser devidos, também, aos efeitos da SP em desempenhos variáveis não específicos.

Além disso, o fato de o animal não ter recebido a droga antes do teste pode ter implicado no fenômeno descrito por Overton (1984) como "aprendizagem dependente do estado", ou seja, o animal no momento do treino estava sob um determinado estado fisiológico causado pela droga, e no momento do teste não havia esse estado. Isto significa que quando determinadas respostas comportamentais são aprendidas e o animal está sob a influência da ação central de uma droga, essas respostas são mais eficientemente evocadas quando as mesmas condições geradas pela droga são restabelecidas; e o restabelecimento da memória é prejudicado durante testes conduzidos sem drogas ou quando o animal está sob ação de drogas diferentes daquela utilizada nos treinos.

Sobre esse assunto existem inúmeros experimentos, como aqueles realizados por Izquierdo (1980a, 1980b), demonstrando que existem determinados efeitos de drogas sobre o restabelecimento da memória. Nesses experimentos o autor mostra que o peptídeo opiáceo B-endorfina, quando administrado antes do treino, prejudica a retenção de duas tarefas comportamentais, a esquivativa na caixa de vai-e-vem e a habituação a um tom, enquanto que sua administração antes do teste leva à facilitação das mesmas tarefas. Esses resultados tornam consistente a hipótese de que as formas de aprendizagem envolvidas nessas tarefas são dependentes do estado de liberação da B-endorfina. São coerentes, ainda, com observações anteriores de que a  $\beta$ -endorfina é liberada no cérebro do rato durante o treino, situação de novidade para o animal, mas não durante a sessão de teste dessas duas tarefas (Izquierdo, 1980).

Entretanto, um outro trabalho (Wetzel e Matthies, 1982) sobre a administração periférica de SP, por via intraperitoneal mostra uma facilitação da retenção de um teste de discriminação de brilho, motivada por choque, em ratos, quando a SP foi administrada imediatamente após o treino, constituído de trinta tentativas, em uma dose de 250 µg/Kg; porém, quando administrada trinta minutos antes do treino, não foi verificado nenhum efeito para essa mesma tarefa. Por sua vez, Schlesinger *et al* (1983) e Pellemounter *et al* (1984, 1985) demonstraram que a administração subcutânea de SP imediatamente após o treino facilita a retenção de uma tarefa de esquivas inibitória em camundongos, quando a dose foi de 1 µg/Kg, enquanto que doses mais altas ou mais baixas (0.46, 2.15 e 4.64 ng/kg) implicaram em um menor ou nenhum efeito. Schlesinger (1983) demonstrou, ainda, que a administração subcutânea de SP reverte o quadro amnésico causado por cicloheximida e choque eletroconvulsivo.

Tomaz & Huston (1986) realizaram experimentos para testar a influência da administração intraperitoneal de SP na aprendizagem da tarefa de esquivas inibitória do tipo geotaxia negativa, em uma única tentativa, em ratos. Foram feitos três experimentos. No primeiro os animais receberam injeções de SP nas doses de 0.5, 5.0, 50, 100, 250 e 500 µg/Kg, ou veículo, administrada imediatamente após o treino. No segundo experimento os animais receberam injeções de SP nas doses de 1.0, 50.0, 250.0 µg/Kg, ou veículo, imediatamente após o treino. O terceiro experimento foi feito com o objetivo de verificar se a influência da SP nos dois primeiros experimentos foi devido a uma ação a longo prazo no desempenho do animal durante o teste realizado 24

horas após o treino. Para tanto, a SP ou o veículo foram administrados imediatamente após o treino ou 5 horas depois. A dose utilizada foi de 50 µg/Kg, isso porque foi nessa dose que a SP facilitou o desempenho dos animais nos dois experimentos anteriores.

Os resultados obtidos pelos experimentadores foram os seguintes: no primeiro e no segundo experimentos, os animais que receberam a dose de 50.0 µg/Kg de SP mostraram uma facilitação significativa no desempenho da aprendizagem do teste de esQUIVA inibitória, quando testados 24 hs após o treino; os resultados obtidos no terceiro experimento demonstraram que, ao contrário da injeção imediatamente após o treino, a administração de 50.0 µg/Kg de SP 5 horas depois do treino, não implica em uma facilitação da retenção da aprendizagem. Isto sugere que os efeitos facilitadores da SP não foram devidos a uma ação a longo prazo. Esses dados estão de acordo com aqueles obtidos por Schlesinger *et al* (1983b), onde camundongos tratados com SP antes do treino, 2 horas após o treino ou 1 hora antes do teste, não produziram reversão no quadro amnésico causado pela cicloheximida. Esses resultados sugerem que a SP afeta os processos de retenção da aprendizagem provavelmente pela facilitação dos processos de consolidação da aprendizagem e não através da evocação da memória, sendo esse efeito, portanto, tempo-dependente.

A importância maior desses resultados é a demonstração de que a administração periférica de SP, imediatamente após o treino, facilitou a retenção da aprendizagem da tarefa de

geotaxia negativa, em uma única tentativa. É interessante notar que somente a dose de 50 $\mu$ g/Kg de SP teve efeito facilitador para essa tarefa, sendo que as outras doses utilizadas não demonstraram efeito significativo. Porém, resultados semelhantes a esses foram obtidos com uma dose diferente, por Wetzel & Matthies (1982); onde eles demonstraram que a administração imediatamente após o treino de 250 $\mu$ g/Kg de SP facilita a aprendizagem de discriminação em ratos. Apesar das doses efetivas serem diferentes nos dois experimentos, ambos mostram um efeito facilitador da SP. Tais resultados também são coerentes com aqueles relatados por Schlesinger *et al* (1983a) e Pellemounter *et al* (1984, 1985), quando demonstraram um efeito facilitador da aprendizagem com a administração periférica da SP em camundongos.

## II- OBJETIVO

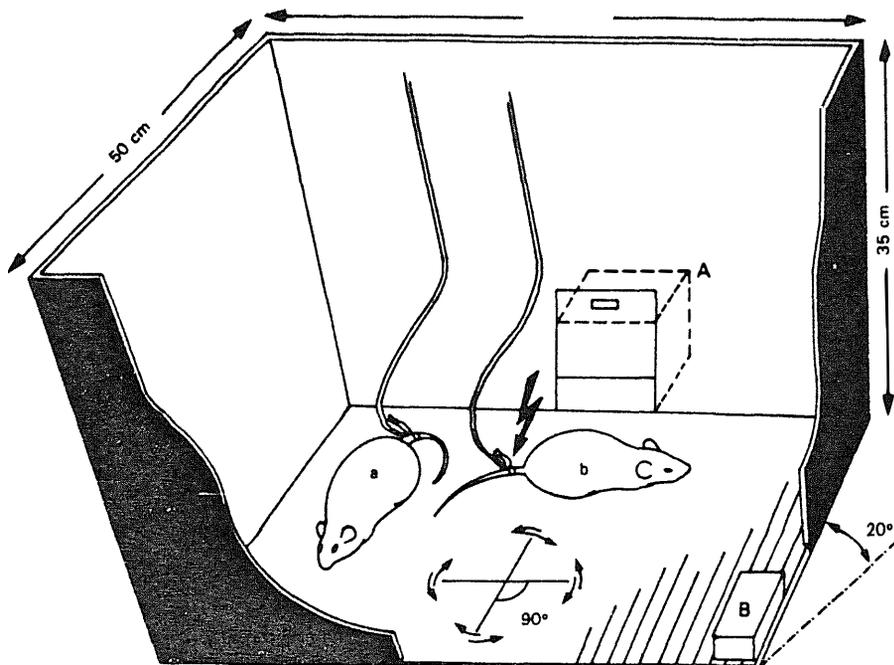
O objetivo deste trabalho, foi procurar estudar os efeitos da SP administrada periféricamente, por via intraperitoneal, utilizando diferentes tarefas comportamentais, a fim de ser constatado se, da mesma forma que com administração central, esses efeitos não seriam dependentes da tarefa. Assim, primeiramente será repetido o experimento de Tomaz & Huston (1986), com o uso do paradigma de esquiva inibitória de geotaxia negativa e em seguida, procurar-se-á verificar os resultados utilizando outros paradigmas de esquiva inibitória, usando os modelos de plataforma e alcova. Em um segundo momento, procurar-se-á verificar se os efeitos encontrados com o uso da esquiva inibitória seriam obtidos, também, com o uso de uma tarefa cuja aprendizagem não envolve reforçadores positivos nem negativos. Para tanto, utilizar-se-á o paradigma de habituação. Finalmente, tentar-se-á verificar os efeitos da SP efeitos na presença de uma tarefa apetitivamente motivada, isso porque, segundo a Teoria Central do Reforço (Huston et al, 1977), reforçadores positivos levam a uma facilitação da aprendizagem e à sua melhor consolidação; para isso, utilizou-se o paradigma procurando água, em que se requer do animal que este encontre um estímulo claramente reforçador, a água, e 24 horas depois se verifica o tempo que o animal leva para reencontrar esse estímulo.

### III- MATERIAIS E MÉTODOS

**3.1.Sujeitos:** Foram utilizados ratos Wistar machos, com peso entre 180 e 200 gramas no momento do experimento, fornecidos pelo Biotério Central da USP-Ribeirão Preto. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, no biotério do setor de Psicobiologia, com ração e água "ad libitum".

### **3.2.Equipamentos :**

**3.2.1.** O primeiro equipamento utilizado foi construído e padronizado para medir três tipos diferentes de esquivas inibitórias: alcova, geotaxia negativa e plataforma (Tomaz *et al.*, 1987) e consistiu de uma caixa com placas de alumínio medindo 50 x 50 cm com 35 cm de altura e sem teto. O assoalho da caixa consistiu de barras de cobre paralelas, distantes 09 mm uma da outra, por meio das quais podia ser liberado um choque elétrico. Acoplado a esta caixa, por um mecanismo de encaixe, havia uma caixa menor, feita de acrílico cinza fosco, medindo 16 x 12 cm com 12 cm de altura e que era separada da caixa maior por uma porta tipo guilhotina também de acrílico. Esta caixa menor foi utilizada para o teste de alcova. Este aparelho podia ser inclinado em ângulo variável através de um elevador (**Fig.1**).



A = Alcova  
 B = Plataforma  
 C = Eletrodo

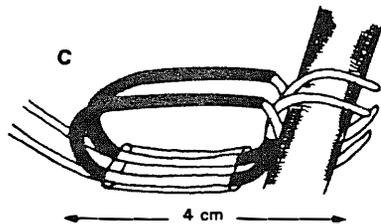


Fig.1. Reproduzido de Tomaz *et al* (1987).

No teste de geotaxia negativa, o choque foi liberado na cauda do animal. Para tanto foi utilizado um eletrodo de metal na forma de uma pinça, que foi conectado ao estímulo elétrico através de uma tomada. Para o teste da plataforma, um bloco de madeira de 15 x 11 cm com 6 cm de altura, revestido de um material impermeável, foi colocado sobre as grades do assoalho em uma das extremidades da caixa.

3.2.2. O segundo equipamento utilizado foi um campo aberto, que consistiu de uma base de fórmica branca (82 x 82cm), marcada de modo que dois círculos concêntricos de 72cm e 42cm de diâmetro, respectivamente, tinham seu centro coincidente ao da base. O círculo menor foi dividido em quatro partes iguais e o espaço entre ele e o maior em oito partes iguais. Um cilindro de PVC cristal, de 60cm de altura e 72cm de diâmetro, foi colocado sobre o círculo externo (Fig.2).

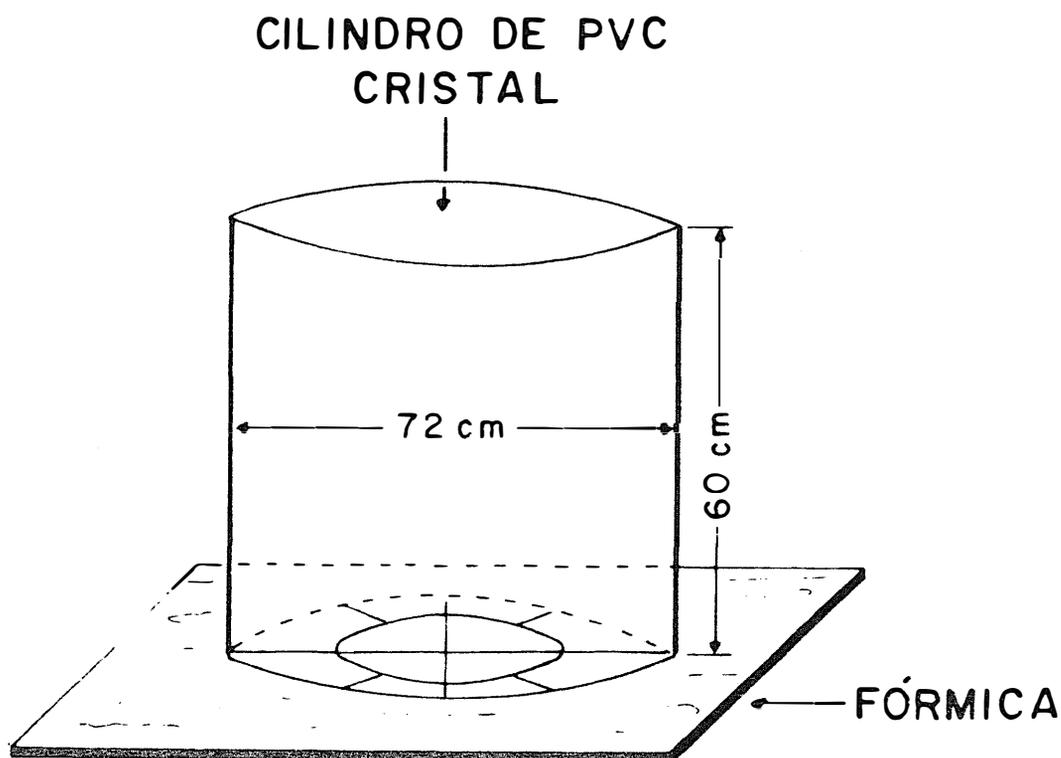


Fig.2. Desenho esquemático do campo aberto.

**3.3.DROGA:** A SP (Sigma, E.U.A.) foi dissolvida em ácido acético 0.01 N com salina 0.9%, e este veículo foi usado para todas as injeções controle. Para as tarefas de esquia inibitória, a SP foi injetada por via intraperitoneal na dose de 50 $\mu$ g/kg no volume de 2.0 ml/kg (0.2/100 gr). Para as tarefas no campo aberto (habituação e procurar água) foram utilizadas diferentes doses de SP: 0.5, 1.0, 5.0, 50, 100 e 250  $\mu$ g/kg, no volume de 2.0/kg (0.2/100gr).

E importante salientar que para a administração da droga foi utilizado o procedimento cego, ou seja, o experimentador não sabia se estava injetando a droga ou o veículo. O código só foi revelado após o término dos experimentos.

**3.4.CAIXAS DE CHOQUE :** Modelo Albarsch e Modelo Grason-Stadler.

**3.5.AMBIENTE EXPERIMENTAL:** Todos os experimentos foram realizados em uma sala pequena, medindo 2.0 X 2.4 m, iluminada por uma luz fluorescente localizada no teto. Não havia ruído de fundo nem controle de temperatura ambiente.

**3.6.PROCEDIMENTO:** Para as tarefas de esquia inibitória o procedimento consistiu em três fases: habituação à caixa experimental, treino e teste.

**3.6.1.Habituação à caixa experimental:** No primeiro dia os animais foram colocados na caixa experimental e lá permaneceram por um período de cinco minutos.

**3.6.2.Treino:** No segundo dia foram realizadas duas tentativas de respostas, com intervalos de 5 minutos entre si. Nessas tentativas foram registrados dois valores-controles, C1 e C2. Na segunda tentativa o animal recebeu o estímulo aversivo, que consistiu de um choque elétrico de 1 mA durante 1 segundo.

O tempo limite observado para todas as tentativas foi de 300 segundos (5 minutos).

**3.6.3.Teste:** A fase de teste foi realizada 24 horas após o treino, e consistiu da mesma situação deste, só que não havia apresentação do choque.

Em todos os tipos de esquiva foi igual o procedimento para todos os animais, com a administração da droga (SP ou veículo) imediatamente após a segunda tentativa (C2).

Todos os testes foram realizados entre 10:0 e 14:00 horas. E para cada um deles houve um grupo controle que recebeu apenas o veículo diluente da SP.

Para cada modelo experimental de esquiva inibitória foram seguidos os seguintes passos:

**Geotaxia negativa:** Primeiro foi conectado o eletrodo à cauda do animal, e este foi colocado no centro da caixa maior, com a cabeça voltada para baixo. Esta caixa foi inclinada num ângulo de 20 graus em relação à superfície de uma mesa onde a mesma foi colocada. Durante a segunda tentativa (C2), foi registrado a latência do animal em girar sobre as patas traseiras até que sua posição atingisse, no mínimo, um ângulo de 90 graus em qualquer direção (esquerda ou direita) com relação ao eixo

longitudinal cauda-cabeça. Contingente à resposta de geotaxia negativa, o animal recebia o choque elétrico na cauda. Logo em seguida o animal foi removido da caixa experimental, retirado o eletrodo da cauda, administrada a injeção de SP e recolocado na gaiola viveiro.

**Alcova:** O animal foi colocado na caixa maior, depois de cinco segundos foi aberta a porta que separa esta da caixa menor e foi medido o tempo que o animal levava para entrar totalmente na caixa menor. Em sua segunda tentativa (C2), imediatamente após ter entrado na caixa menor, o animal recebeu o choque elétrico nas patas e logo em seguida foi retirado da situação experimental, recebeu a injeção de SP ou veículo e foi recolocado na gaiola viveiro.

**Plataforma:** O animal foi colocado sobre o bloco de madeira com a cabeça dirigida para o centro da caixa. Logo após o animal ter descido da plataforma, com as quatro patas, em sua segunda tentativa (C2), recebeu o choque elétrico nas patas e em seguida foi retirado, recebeu a injeção de SP ou veículo e foi recolocado na gaiola viveiro.

Para os modelos experimentais de habituação e procurando água o procedimento consistiu de treino e teste, sendo seguidos os seguintes passos:

**Habituação:** Na sessão de treino, o animal foi colocado no centro do campo aberto e deixado livre para explorar o ambiente. Nessa sessão, foi registrado o número de levantamentos (LE), que consistiu do animal ficar erguido sobre as duas patas

traseiras, durante dois minutos. Logo em seguida o animal foi retirado da situação experimental, recebeu a injeção de SP ou veículo foi colocado na gaiola viveiro. A sessão de teste foi realizada 24 horas após o treino e consistiu da mesma situação deste, porém, sem administração da droga. A diferença entre o número de LE no treino e no teste foi tomada como medida de memória (habituação).

**Procurando Água:** Para esse teste, um bebedouro de vidro contendo água foi acoplado, através de um suporte de arame, à parede de acrílico do campo aberto, de forma que apenas o bico ficava na parte interna deste. O bebedouro utilizado foi similar àquele que o animal usava em sua gaiola viveiro. É importante salientar que no ambiente experimental existiam determinados estímulos que poderiam servir de dicas espaciais ao animal, como por exemplo, a lâmpada fluorescente que se encontrava em cima do campo aberto, a mesa com o aparato experimental número 1 (já descrito anteriormente), que ficava à esquerda do campo aberto e uma bancada de mármore e a cadeira onde sentava o experimentador, que ficavam à direita do campo aberto. Na sessão de treino, o animal privado de água por um período de 24 horas, foi colocado no campo aberto com a cabeça voltada em direção contrária ao local onde se encontrava o bebedouro. Foi medido, então, o tempo que o animal levou para encontrar a água. Logo em seguida, o mesmo foi retirado do ambiente experimental, recebeu a injeção de SP ou veículo e voltou para sua gaiola viveiro. Vinte e quatro horas depois foi realizada a sessão de teste, onde o animal passou pela mesma situação do treino, exceto que não recebeu

injeção. A diferença entre treino e teste do tempo levado para encontrar o bebedouro foi tomada como medida de memória. Tal procedimento foi baseado naquele utilizado por Netto et al (1986).

### **3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA:**

Com o objetivo de se comparar a média das latências, durante o teste de retenção, entre os diferentes grupos, foi utilizado o teste **U de Mann-Whitney** para amostras independentes e não balanceadas. Foi estabelecido como nível de significância 5% (alfa= 0.05). Os parâmetros avaliados foram expressos nas figuras como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.).

#### **IV- RESULTADOS**

**4.1. Teste de Geotaxia Negativa:** A SP foi injetada imediatamente após o treino, na dose de 50 µg/kg; os animais controle foram injetados com o veículo diluente, no mesmo volume da solução de SP. O grupo que recebeu SP apresentou um melhor desempenho na aprendizagem da esquiva inibitória para a resposta de geotaxia negativa, quando testado 24 horas após o treino. Os resultados desse modelo estão indicados na Figura 3. O número de animais utilizados em cada grupo foi 10.

**4.2. TESTE DE ALCOVA:** A SP foi injetada imediatamente após o treino, na dose de 50 µg/kg; os animais que foram utilizados como controle, receberam a administração do veículo diluente no mesmo volume da solução de SP. O fato dos animais do grupo controle terem demonstrado um desempenho semelhante ao grupo experimental (efeito de teto) não torna possível a constatação de uma possível facilitação da SP para a aprendizagem nesse modelo. Os resultados dessa tarefa encontram-se indicados na Figura 4. O número de animais utilizados em cada grupo foi 10.

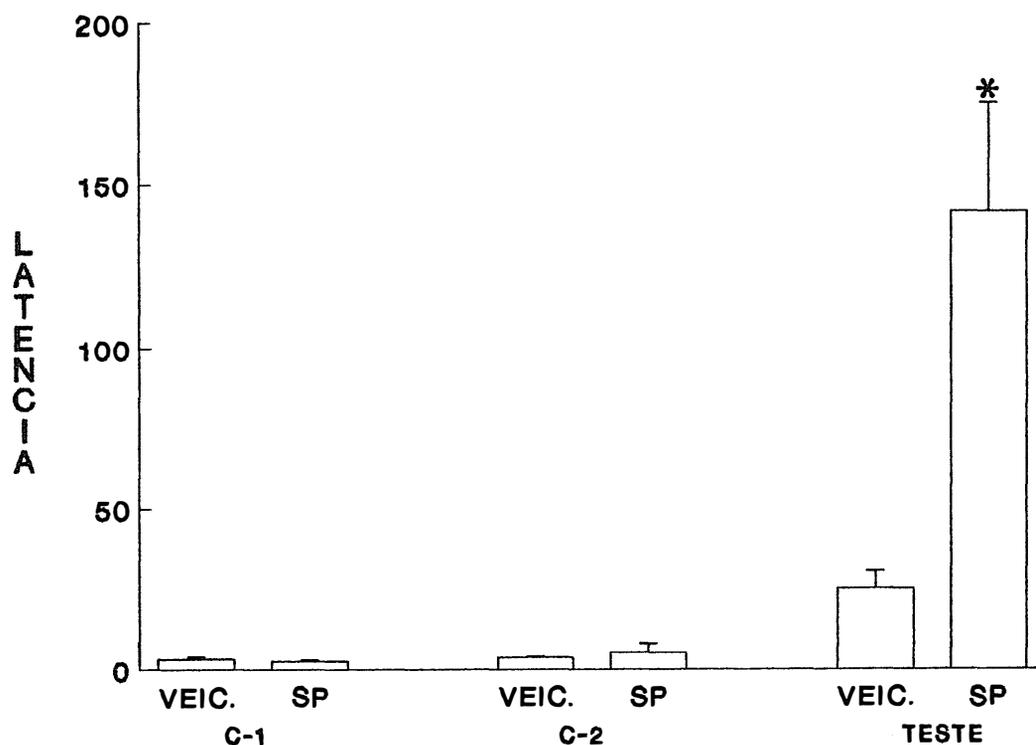
**4.3. TESTE DE PLATAFORMA:** A SP foi administrada na dose de 50 µg/kg, imediatamente após o treino. Um grupo de animais foi utilizado como controle, recebendo apenas o veículo diluente no mesmo volume da solução de SP. O grupo que recebeu SP teve uma facilitação da retenção da resposta quando testado 24 horas depois. Os resultados dessa tarefa encontram-se indicados na figura 5. O número de animais utilizados em cada grupo foi 10.

**4.4. TESTE DE HABITUAÇÃO:** A SP foi administrada imediatamente após o treino, nas doses de 0.5, 1.0, 5.0, 100 e

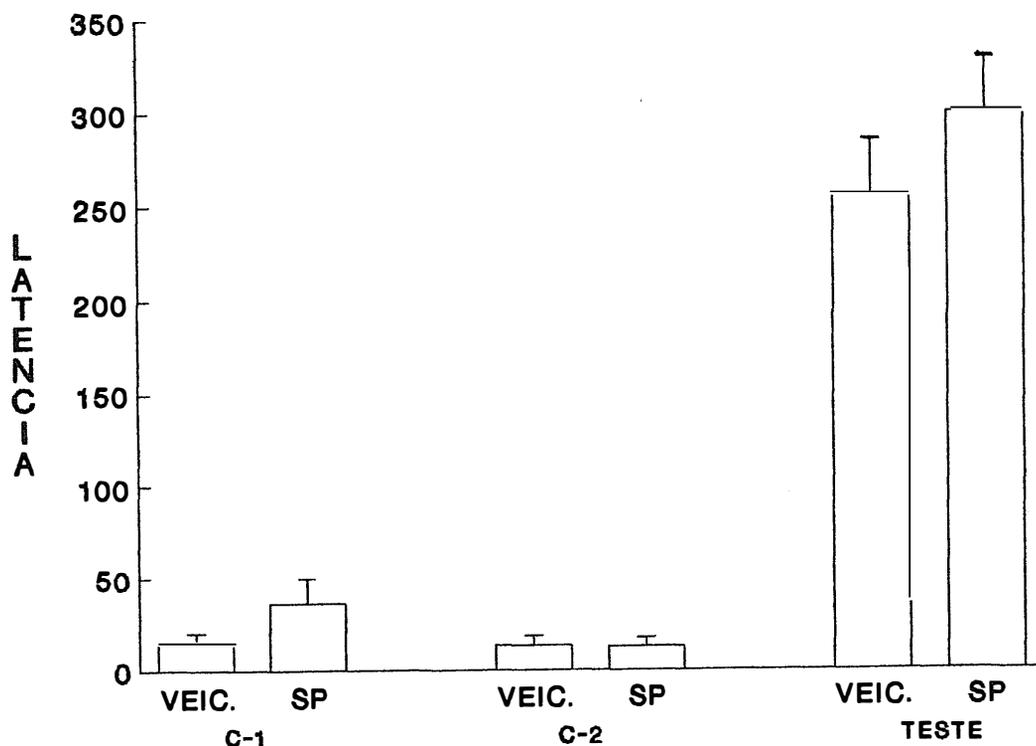
250 µg/kg. Houve um grupo que recebeu a dose de 50 µg/kg cinco horas após o treino. Os animais controle receberam o veículo diluente da SP, no mesmo volume da solução de SP. Foi observada uma facilitação da aprendizagem para o grupo de animais que recebeu a SP na dose de 50 µg/kg imediatamente após o treino, quando testados 24 horas depois. Não foi verificado nenhum efeito para o grupo de animais que recebeu SP cinco horas após o treino. Os resultados dessa tarefa encontram-se resumidos nas figuras 6 e 7. O número de animais utilizados em cada grupo encontra-se nas figuras.

**4.5. TESTE PROCURANDO ÁGUA:** Assim como no teste de habituação, a SP foi administrada nas doses de 0.5, 1.0, 5.0, 50, 100 e 250 µg/kg, imediatamente após o treino. Houve, também, um grupo que recebeu a dose de 50 µg/kg cinco horas após o treino. Os animais controles receberam o veículo diluente da SP no mesmo volume da solução de SP. Com relação a este modelo experimental, os resultados obtidos não estão de acordo com aqueles observados para os outros modelos utilizados anteriormente, no que diz respeito à administração imediatamente após o treino. Foi verificado um efeito amnésico nos grupos que receberam SP nas doses de 5.0, 100 e 250 µg/kg quando comparados ao grupo que recebeu o veículo diluente da SP. Com relação à administração 5 horas após o treino os resultados corroboraram aqueles obtidos com a tarefa de habituação, ou seja, não houve diferença entre os grupos experimental e o grupo controle. Os resultados desse modelo estão apresentados nas figuras 8 e 9. 0

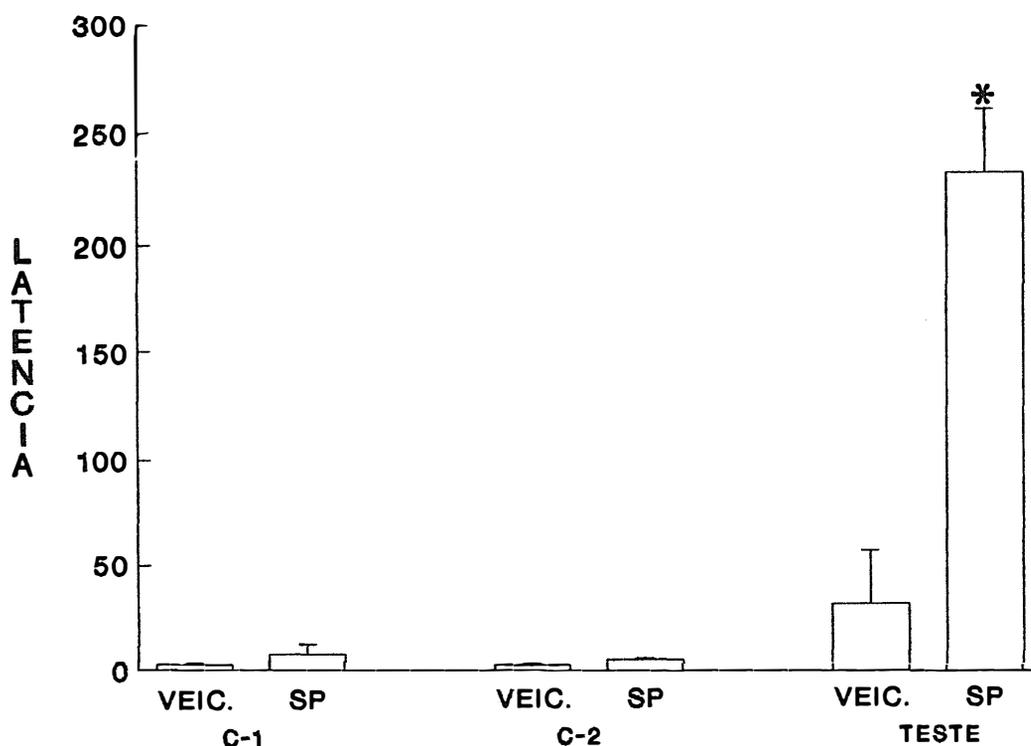
número de animais utilizados em cada grupo encontram-se nas figuras.



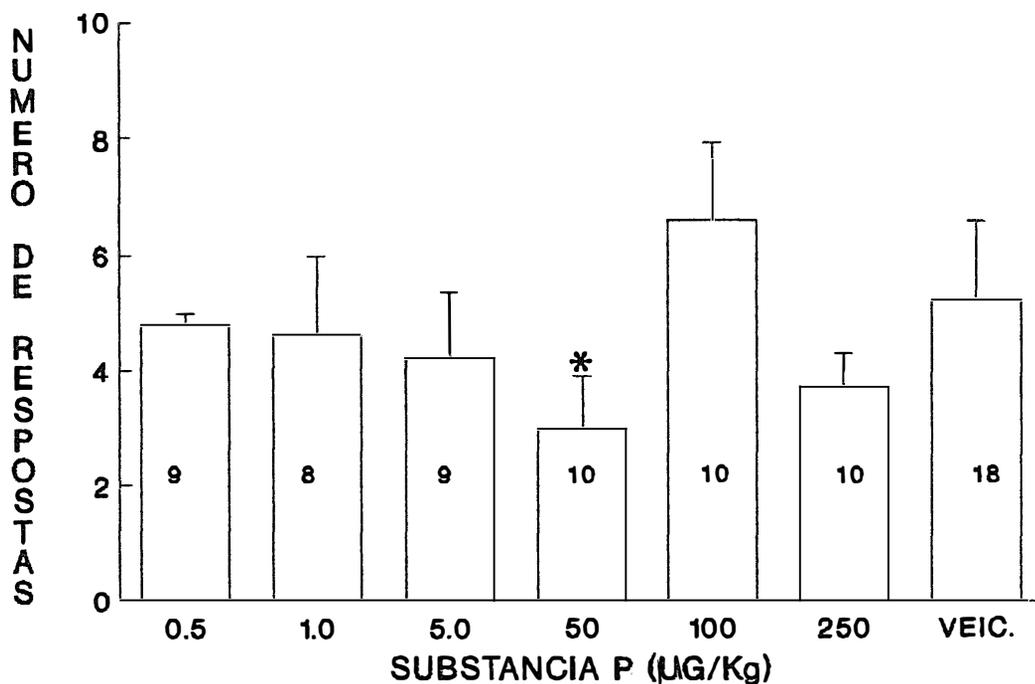
**Fig.3.** Efeitos da administração periférica de SP (50 µg/kg), imediatamente após o treino, sobre a resposta de esquiva de geotaxia negativa. Após a segunda tentativa (C2) os animais receberam um choque na cauda, contingente a apresentação do comportamento de geotaxia negativa. A retenção está representada em média da latência para a resposta de geotaxia negativa, 24 horas após o treino. As barras verticais significam  $\pm$  E.P.M. Veíc.= veículo utilizado como controle; \* = diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo que recebeu veículo. Número de animais em cada grupo = 10.



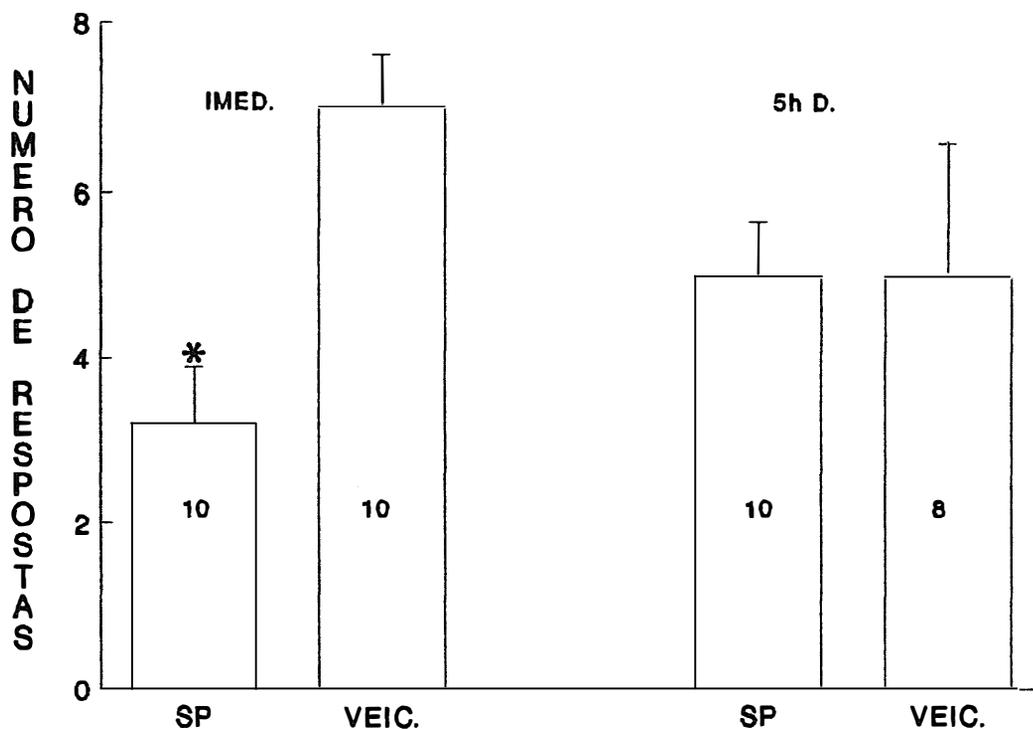
**Fig.4.** Efeitos da administração periférica de SP (50 µg/kg) imediatamente após o treino, sobre a aprendizagem de uma tarefa de esquila do tipo alcova após a segunda tentativa (C2). A retenção é expressa em média da latência para entrar na alcova, medida 24 horas após o treino. As barras verticais significam  $\pm$  E.P.M. Veic. = veículo utilizado como controle. Não foi encontrado nenhuma diferença significativa entre o grupo que recebeu SP e o grupo que recebeu o veículo. Número de animais em cada grupo = 10.



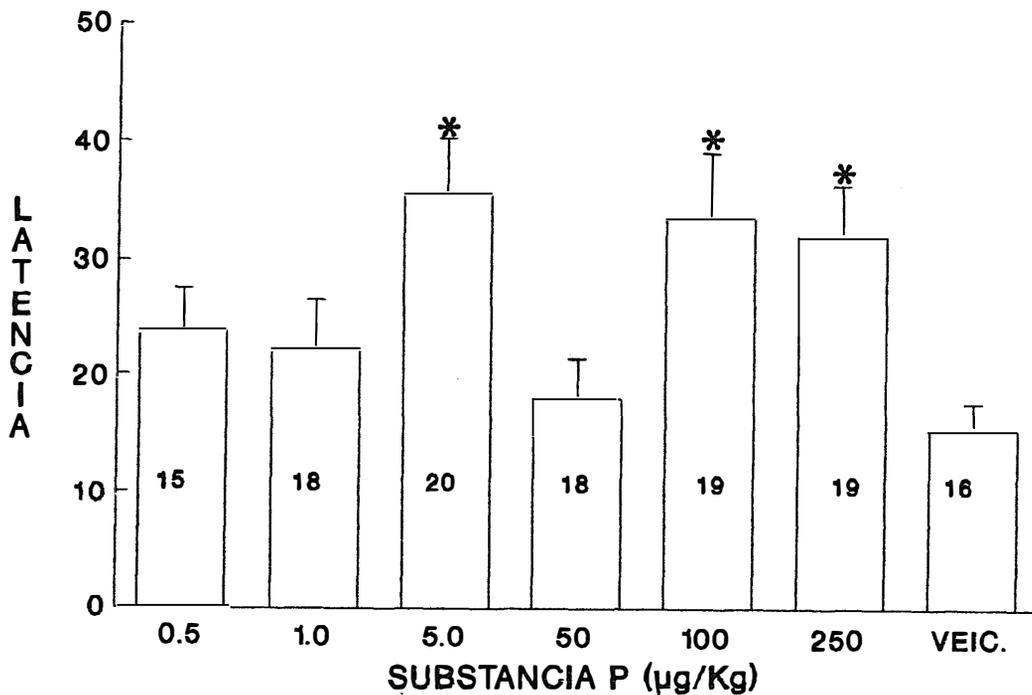
**Fig.5.** Efeitos da administração periférica de SP (50 µg/kg) imediatamente após o treino sobre a aprendizagem da tarefa de esquiva de plataforma após duas linhas de base/treino. A retenção é expressa em média da latência para a resposta de descer com as quatro patas da plataforma, medida 24 horas após o treino. As barras verticais significam  $\pm$  E.P.M. VEIC. = veículo utilizado como controle; \* = diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo que recebeu o veículo; Número de animais em cada grupo = 10.



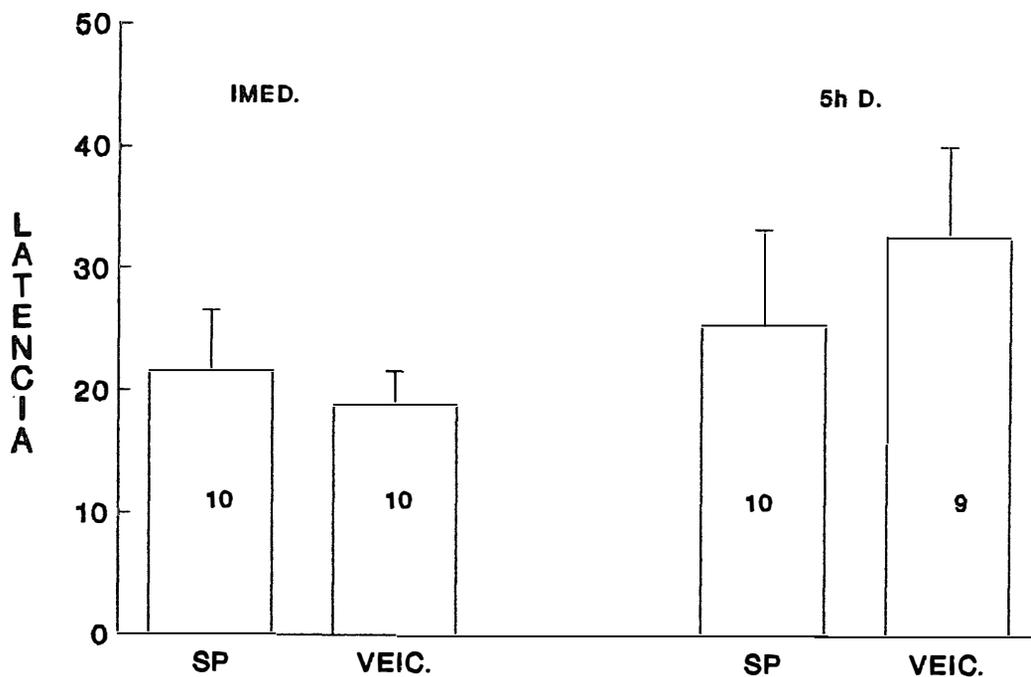
**Fig.6.** Efeito da administração periférica de SP, imediatamente após o treino, sobre a habituação, medida em um campo aberto através do registro do número de levantamentos durante 2 minutos de livre exploração. A retenção está expressa em média da resposta de levantamento medida 24 horas após o treino. As barras verticais significam  $\pm$  E.P.M. VEIC. = veículo utilizado como controle; \* = diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo que recebeu veículo. Os números nas colunas indicam o número de animais usados em cada grupo de tratamento.



**Fig.7.** Efeito da administração periférica, após o treino, de SP sobre a habituação, medida em um campo aberto através do registro do número de levantamentos durante 2 minutos de livre exploração. A dose de 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ou o veículo foram administrados tanto imediatamente após o treino quanto 5 horas após o treino. A retenção está expressa em média do número da resposta de levantamento medida 24 horas após o treino. As barras verticais significam  $\pm$  E.P.M. \* = diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo que recebeu veículo.



**Fig.8.** Efeito da administração periférica de SP, imediatamente após o treino, sobre a resposta de procurar água, medida em um campo aberto. A retenção está expressa em média do desempenho na resposta de encontrar um bebedouro com água, medida 24 horas após o treino. As barras verticais significam  $\pm$  E.P.M. VEIC.= veículo utilizado como controle; \* = diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo que recebeu veículo. Os números nas colunas representam o número de animais usados em cada grupo de tratamento.



**Fig.9.** Efeito da administração periférica de SP, na dose de 50 µg/kg, após o treino, sobre a resposta de procurar água, medida em um campo aberto. A SP ou o veículo foram administrados tanto imediatamente após o treino quanto 5 horas após o treino. A retenção está expressa em média do desempenho na resposta de encontrar um bebedouro contendo água, medida 24 horas após o treino. As barras verticais significam ± E.P.M.

V- DISCUSSAO

As evidências aqui apresentadas sugerem que a SP afeta comportamentos tanto através de administração central quanto através de administração periférica. Essa complexidade de ação se torna mais extensa pelo fato de esse peptídeo atravessar a barreira hematoencefálica, importante fronteira que regula a transferência de certas substâncias, do sistema nervoso periférico para o SNC (Stern & Hadzovic, 1973). Foi demonstrado que a SP é um dos neuropeptídeos que apresenta maior propensão de passagem através dessa barreira (Banks & Kastin, 1985). Este fato leva à suposição de que, pelo menos em parte, os efeitos da SP, administrada perifericamente, se dariam a nível do SNC.

Os resultados obtidos com os modelos de esquiva inibitória e habituação fortalecem as evidências de que a SP, administrada imediatamente após o treino, por via periférica, facilita a memória, pelo menos na dose de 50 µg/kg. Os efeitos da SP sobre a retenção foram observados em tarefas que requerem respostas bastante diferentes, inclusive na ausência de motivação por choque. Isso fortalece o argumento para uma participação desse neuropeptídeo sobre os mecanismos de memória, com uma influência a curto prazo (imediatamente após o treino) e independente de interações com pós efeitos de choque elétrico.

Com relação ao modelo de esquiva inibitória de geotaxia negativa (Fig. 3), os resultados demonstram claramente um melhor desempenho para os animais pertencentes ao grupo que recebeu SP na dose de 50 µg/kg. O mesmo é observado no teste de plataforma (Fig. 5), ou seja, os animais que receberam a SP tiveram sua aprendizagem facilitada na hora do teste, em relação aos animais pertencentes ao grupo que recebeu apenas o veículo.

Tais resultados confirmam os experimentos de Tomaz & Huston (1986). Estes dados também estão de acordo com aqueles obtidos por Kafetzopoulos *et al* (1986), através da administração central de SP no núcleo basal magnocelular (NMBC), com esse mesmo paradigma. Por outro lado, os dados do teste de plataforma (Fig.5), além de estenderem os efeitos facilitadores da administração periférica de SP para outro teste de aprendizagem, replicam os resultados obtidos por Huston & Staubli (1979), através da administração central desse neuropeptídeo no HL, com a utilização desse modelo de esQUIVA inibitória.

Porém, com relação ao teste de alcova (Fig. 4) não foi verificado uma facilitação da aprendizagem para os animais que receberam SP com relação aos animais que receberam o veículo. Esses resultados são discrepantes com aqueles obtidos por Staubli & Huston (1979), onde eles observaram um efeito facilitador da SP através da administração central dessa mesma substância no HL, com o uso do mesmo teste.

Os resultados obtidos com o uso do paradigma de habituação (Fig. 6) fortalecem aqueles obtidos por Tomaz & Huston (1986), uma vez que das doses utilizadas ( 0.5, 1.0, 5.0, 50, 100 e 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ) apenas a de 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de SP, administrada imediatamente após o treino, levou a facilitação da aprendizagem desta tarefa. Os animais que foram administrados com SP 5 horas depois do treino ( Fig. 7) não tiveram sua aprendizagem facilitada na hora do teste quando comparados com o grupo controle, o que sugere, mais uma vez, que os efeitos facilitadores da SP sobre a aprendizagem de determinadas respostas não é devido a uma influência a longo prazo dessa

substância.

Tais resultados sugerem que a SP facilita a memória de forma tempo e dose-dependente, tanto por administração central quanto periférica. Eles são consistentes com os resultados dos experimentos feitos por Wetzel & Matthies (1982), os quais demonstraram um efeito facilitador da SP, administrada periféricamente, para a aprendizagem de discriminação de brilho, em ratos; por outro lado, são divergentes, uma vez que a dose facilitadora utilizada pelos autores foi de 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e esta, em nosso trabalho, não causou nenhuma facilitação para as tarefas utilizadas por nós. Além do mais, nossos resultados também são consistentes com outros estudos sobre os efeitos periféricos da SP, como é o caso dos experimentos realizados por Schlesinger *et al* (1983) e Pelleymouter *et al* (1984, 1985), os quais demonstraram um efeito facilitador da SP administrada por via intraperitoneal, em camundongos.

Os resultados até agora discutidos, levam à hipótese de que a SP atua nos processos de aprendizagem e memória através da consolidação da aprendizagem e não da evocação da memória, uma vez que sua ação facilitadora só é verificada quando administrada após o treino, não ocorrendo através de uma ação a longo prazo, já que quando administrada cinco horas após o treino seu efeito facilitador não é verificado.

Em relação aos resultados da habituação, é importante observar que eles são semelhantes àqueles obtidos por Izquierdo (1979,1980) com a administração pós treino do antagonista opiáceo naloxona, para um teste de habituação da resposta de "rearing" a

um tom. Ou seja, a naloxona demonstrou um efeito claramente facilitador, ao contrário do efeito amnésico causado pela administração após treino da  $\beta$ -endorfina, para essa mesma tarefa. Esses e outros resultados levam à hipótese de que os processos mnemônicos sejam mediados por peptídeos opiáceos endógenos. Com relação à SP, Schlesinger *et al* (1983) demonstraram que a administração de SP combinada com a naltrexona (também um antagonista opiáceo), leva a uma reversão dos efeitos facilitadores da SP.

Os resultados verificados com a utilização da tarefa de procurar água (Fig. 8) não demonstraram o efeito facilitador da SP em nenhuma dose administrada imediatamente após o treino (0.5, 1.0, 5.0, 50, 100 e 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Diferente dos resultados da habituação e das tarefas de esquiiva inibitória, foi observado um efeito amnésico para os grupos que receberam SP nas doses de 5.0, 100 e 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e nenhum efeito para os grupos que receberam as outras doses, quando comparados ao grupo que recebeu veículo. Os resultados da administração da dose de 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de SP 5 horas após o treino (Fig. 9) replicaram os resultados dos experimentos anteriores, isto é, não houve diferença significativa entre o grupo de SP e o grupo de veículo.

Na literatura, é conhecido apenas um trabalho sobre os efeitos da SP utilizando a aprendizagem na presença de um reforço positivo. Esse trabalho foi realizado por Schlesinger *et al* (1986), e os mesmos verificaram um efeito facilitador da SP para uma tarefa de discriminação espacial em um labirinto em T, na dose de 1ng/kg, imediatamente após o treino. Existem trabalhos com outras substâncias endógenas que também estão implicadas nos

processos de aprendizagem e memória, que utilizaram o reforço positivo, como é o caso do trabalho de Ettenberg et al (1983), onde eles relatam um efeito facilitador de um outro peptídeo, o hormônio adeno-hipofisário, a Arginina-Vasopressina (AVT), em uma tarefa também motivada com água. Porém, segundo os autores, esses resultados poderiam ser, pelo menos quando utilizada uma tarefa apetitivamente reforçada, devido a ações aversivas, e portanto excitadoras, desse hormônio.

Com relação à vasopressina, uma forma de se saber ao certo se suas propriedades reforçadoras estão relacionadas à efeitos diretos sobre processos cognitivos e não à efeitos de estimulação, seria demonstrar que esta substância facilita, também, comportamentos aversivamente motivados, os quais, presumivelmente, possuem poucas características em comum com tarefas que utilizam o reforço positivo. No que diz respeito à SP isso é desnecessário, uma vez que nossos resultados anteriores mostram um efeito facilitador da SP tanto na presença de tarefas aversivamente motivadas quanto na presença de uma tarefa que não envolve reforçadores negativos nem positivos.

Um outro aspecto interessante nesses resultados é que, de certa forma, contrapõem-se à Teoria Central do Reforço (Huston et al, 1977). Nessa teoria, o conceito de memória e reforço estão integrados, e a mesma propõe que reforçadores atuam sobre os processos da memória prevenindo-a contra a fadiga; isto é, os reforçadores possuem efeitos fortalecedores sobre os traços mnemônicos. Segundo esta teoria, ocorrem efeitos facilitadores sobre a memória através de reforçadores positivos apresentados

após o treino, como o alimento, por exemplo, assim como através da estimulação elétrica de regiões com propriedades reforçadoras como o HL/FPM e, ainda, através das propriedades reforçadoras da SP administrada diretamente nessas regiões (Holzhäuer-Oitzl *et al*, 1987). Assim, a SP cumpriria um papel no reforçamento através da ativação do sistema reforçador ou pela ativação de um sistema de recompensa específico. As propriedades sítio-dependentes da SP atuariam como reforçadores e influenciariam o desempenho em várias tarefas de aprendizagem, de forma similar à estimulação elétrica.

Com base no que existe na literatura sobre os efeitos da SP na presença de reforçadores positivos, fica difícil chegar a uma conclusão sobre os resultados do experimento com a tarefa motivada com água. Poder-se-ia sugerir que a tarefa é mais complexa se comparada com as outras, uma vez que nas tarefas de esQUIVA inibitória o que era requerido do animal é que "não fizesse nada", e na habituação o comportamento observado é exibido naturalmente pelo animal em situações semelhantes àquela na qual o mesmo se encontrava por ocasião do treino. Por outro lado, no paradigma de procurar água era requerido do animal que percorresse todo o campo aberto para encontrar o bico de um bebedouro, tarefa que envolve outros processos mnemônicos, como a memória espacial, com a utilização de dicas do meio ambiente. Dessa forma poder-se-ia concluir que a SP atua de forma facilitatória somente em presença de comportamentos cognitivos mais simples, podendo ser observado um efeito reverso ou a ausência de efeito quando na presença de uma resposta mais complexa, do ponto de vista da resposta exigida do animal.

Uma forma de se confirmar essa hipótese seria utilizar a SP nas mesmas doses na presença de tarefas mais simples, como por exemplo, a auto-estimulação de estruturas sabidamente possuidoras de características reforçadoras. Outra forma de, pelo menos, reforçar essa hipótese seria administrar a naloxona, nas doses que demonstraram um efeito facilitador no trabalho de Nogueira e Tomaz (1990), na presença da tarefa de procurar água; se os resultados fossem semelhantes àqueles agora discutidos, seriam uma evidência a mais sobre o efeito dependente da tarefa, com relação à complexidade da resposta exigida. Porém, fica difícil sustentar tal hipótese uma vez que existe na literatura um trabalho demonstrando um efeito facilitador da SP na presença de uma resposta positivamente motivada (Schlesinger *et al.*, 1986), que pode ser considerada tão complexa quanto a resposta de procurar água, pois é requerido do animal, no caso camundongos, a discriminação espacial em um labirinto em T.

É sabido que os efeitos da SP nos processos de aprendizagem e retenção de tarefas comportamentais são sítio-dependentes, quando da administração central, ou seja, dependendo do local onde a droga é injetada seu efeito pode ser facilitador ou prejudicial. Assim, Stäubli & Huston (1980) mostraram que a administração de SP diretamente no HL/FPM facilita a aprendizagem de uma resposta de esquiva inibitória, enquanto que diretamente na SN ou amígdala leva a uma amnésia retrógrada da mesma resposta. Foi demonstrado também que o análogo sintético da SP, o DIME-c7, produz uma aversão condicionada da resposta de preferência por lugar, de forma dose-dependente, quando administrada i.c.v. (Elliot, 1988) e i.p. (Hasenöhrl *et al.*,

1990). Apesar de que os efeitos aversivos ou prejudiciais da SP só foram verificados quando da administração central, poder-se-ia supor que o efeito amnésico, ou a ausência de efeito, verificado na tarefa de procurar água se daria pelo fato de a droga estar atuando em uma dessas estruturas com propriedades aversivas, uma vez que existem suposições de que o efeito da SP administrada periféricamente ocorre, pelo menos em parte, a nível central, o mesmo ocorrendo com seu antagonista sintético.

Isso poderia estar ocorrendo mesmo na presença de uma tarefa com propriedades reforçadoras, pois, na verdade, o efeito facilitador da SP na presença de reforçadores positivos só tem sido verificado com a administração central, diretamente em regiões supostamente possuidoras de propriedades reforçadoras, sendo que esses efeitos poderiam ser uma somatória entre as propriedades recompensadoras da região cerebral e as propriedades da SP nessas regiões. Com isso, não se pode afirmar que essa relação entre reforço positivo e memória, como defende a Teoria Central do Reforço, continue ocorrendo uma vez que a SP esteja agindo em regiões com propriedades aversivas, como pode ser o caso com a administração periférica, uma vez que não se sabe ao certo em quais estruturas centrais ela estaria atuando.

Sobre os possíveis modos de ação da SP para facilitar ou prejudicar a aprendizagem e retenção de tarefas comportamentais, existem diversas hipóteses: por exemplo, que afete diretamente os processos mnemônicos ao nível central. Alguns estudos (Banks & Kastin, 1985; Stern & Hadzovic, 1973) têm mostrado que a SP pode cruzar a barreira hemato-encefálica. Com

isso, é suposto que os efeitos desse neuropeptídeo obtidos mesmo com a administração periférica se deve, em parte pelo menos, a uma ação central. A favor dessa hipótese existe o fato de que há demonstrações da existência de fibras contendo SP em todas as regiões cerebrais onde os efeitos moduladores da SP sobre a aprendizagem e memória foram demonstrados (Cuello & Kanazawa, 1978; Ljungdahl *et al*, 1978). Se esses efeitos são realmente centrais, permanece a questão sobre onde a SP estaria agindo.

Outra hipótese é de que, quando administrada sistemicamente, a SP esteja agindo por via periférica, através, por exemplo, da estimulação de outros sistemas neurotransmissores/neuromoduladores que agiriam a nível central. Existe, também, a suposição de que esses efeitos seriam mediados pelo sistema catecolaminérgico e/ou pelo sistema de opióides endógenos centrais. Esta última hipótese é fortalecido pelos resultados obtidos por Nogueira e Tomaz (1989), onde a SP adiministrada em combinação com o antagonista opióide, a naloxona, demonstrou um efeito facilitador aditivo em relação aos efeitos facilitatórios observados com a administração apenas de SP. Outra forma de ação da SP poderia ser por interação com vias de conexões hipotalâmicas e pituitárias, através do aumento da liberação de hormônios neurohipofisários, alguns dos quais já são conhecidos como facilitadores da memória.

No entanto, é possível que os efeitos da SP nos processos de memória ocorram em interação com neurotransmissores clássicos. É possível, por exemplo, que ela atue em interação com neurônios dopaminérgicos no HL/FPM (Yeomans *et al*, 1985) e/ou com neurônios colinérgicos no NBMC (Lehmann *et al*, 1983). Na verdade,

os estudos recentes sobre memória levam à confirmação de que a SP está agindo em interação com outros transmissores que estão associados com a memória. Está sendo verificado que existem diversos neurotransmissores implicados nos processos de memória. E o mais provável é que dependendo da interação entre essas diversas substâncias, e das estruturas onde possam estar agindo, uma vez que existem diferentes concentrações de neurotransmissores em diferentes regiões cerebrais, o efeito final pode vir a ser facilitador ou prejudicial. É coerente analisar dessa forma o modo de ação da SP, ou de outras substâncias endógenas, na memória, uma vez que se levarmos em consideração que o SNC atua de forma extremamente dinâmica e que a memória é, sem dúvida, um dos processos mais complexos a ser investigado, fica difícil conceber a idéia de que uma determinada substância por si só esteja atuando no sentido de facilitar ou prejudicar esses mecanismos.

Além de sua participação nos processos de aprendizagem e memória, existem amplas evidências na literatura de que a SP possui um envolvimento funcional na nocicepção e em diversos padrões comportamentais tais como a limpeza, a injeção e a locomoção (ver Huston & Stäubli, 1981; Nemeroff *et al*, 1984; Stewart *et al*, 1976; Yasphal *et al*, 1982). E mais recentemente, um número cada vez maior de trabalhos vêm demonstrando que a SP parece cumprir um papel neurotrófico no SNC e periférico. Koslova *et al* (1987) demonstraram que a SP é capaz de promover um efeito ativador sobre o desenvolvimento e regeneração do tecido nervoso em culturas organotípicas dos gânglios simpáticos e medula

espinhal de ratos; Nakai & Kasamatsu (1984) demonstraram que a regeneração de fibras de noradrenalina do córtex occipital de ratos, que sofreram lesão por 6-hidroxidopamina (6-OHDA); foi acelerada por SP quando esta foi administrada no quarto ventrículo, não se observando tal efeito quando a SP foi administrada diretamente no córtex. Segundo os autores, o efeito estimulador da regeneração causado pela SP parece ser mediado por processos específicos da SP, uma vez que tratamento similar com betanecol não foi efetivo.

Uma outra evidência para um efeito regenerador da SP é verificado no trabalho de Yankner *et al* (1990), onde estes autores investigam o papel neurotrófico e neurotóxico do polipeptídeo  $\beta$  Proteína Amilóide. Essa proteína é um componente primário de placas senis e depósitos cerebrais vasculares no **Mal de Alzheimer** e na **Síndrome de Down**. Foi verificado que em cultura a  $\beta$  proteína amilóide possui um efeito neurotrófico em neurônios hipocámpais não diferenciados e em baixas concentrações, e um efeito neurotóxico em neurônios maduros e em altas concentrações, como é o caso dos neurônios dos pacientes que sofrem do Mal de Alzheimer. Nesse trabalho foi demonstrado que a SP é capaz de reverter completamente, tanto os efeitos neurotróficos quanto neurotóxicos da  $\beta$  proteína amilóide, de forma dose-dependente. Os resultados sugerem que a SP, assim como outras taquicininas endógenas, pode possuir efeitos opostos àqueles da  $\beta$  proteína amilóide, isto é, apresenta efeitos tóxicos sobre neurônios não diferenciados e efeitos tróficos em neurônios maduros; com isso, é suposto haver um papel regenerador da SP nos neurônios de pacientes com o Mal de Alzheimer.

Sobre o provável efeito neurotrófico da SP é interessante notar que trabalhos foram realizados com o objetivo de verificar se tais efeitos podem ser encontrados em processos de aprendizagem induzidos por lesões. Assim, Lüneburg & Flohr (1988) verificaram a capacidade recuperadora da SP em lesões unilaterais do nervo vestibular, ou labirinto, de rãs. Nessa espécie, esse tipo de lesão costuma causar dois principais déficits funcionais que são: primeiramente, assimetria na influência tônica sobre a postura, a qual resulta em uma curvatura do eixo longitudinal corporal, desvio da cabeça em volta do eixo longitudinal e alterações no tonus extensor flexor; e, secundariamente, um prejuízo dos reflexos dinâmicos do vestibular que dependem de "inputs" bilaterais. Nesse experimento, o curso de tempo da compensação do principal sintoma postural, o desvio da cabeça, foi escolhido como medida de efeitos farmacológicos.

Os resultados obtidos pelos autores demonstraram que o tratamento crônico com SP nos animais hemilabirintectomizados, obtiveram uma compensação vestibular significativamente acelerada, de forma dose-dependente. Segundo os autores, a restituição da função após esse tipo de lesão não envolve uma regeneração do órgão final do vestibular periférico ou nervo, mas sim, consiste de uma reorganização dos circuitos que permaneceram intactos no vestibular central. Nesse caso, a regeneração neuronal dos circuitos lesados, seria promovida pela SP, através da formação de novas sinapses ou "sprouting" (crescimento neuronal) colaterais nessa região.

Com relação aos efeitos da SP nos paradigmas de aprendizagem clássica, Huston & Stäubli (1981) têm sugerido a hipótese de que a SP ativa sistemas reforçadores específicos os quais controlam mudanças neurais adaptativas. Tal conceito não pode ser, porém, facilmente estendido a processos plásticos induzidos por lesões. No entanto, com relação à estreita similaridade entre a ação da SP em um paradigma que envolve lesão neuronal e em processos de aprendizagem que ocorrem através de mudanças no meio ambiente, pode-se supor que ambos dependem de mecanismos similares. Dessa forma, a compensação vestibular, por exemplo, não é devido somente a eventos regenerativos locais causados pela lesão, tais como o "sprouting", (Lüneburg & Flohr, 1988).

Com base nos resultados discutidos acima, poderíamos supor, com bastante cautela, que um dos prováveis modos de ação da SP nos trabalhos realizados com o uso de paradigmas-padrão de aprendizagem, com o objetivo de verificar os efeitos desse neuropeptídeo nos processos de memória, poderiam estar se dando através de suas capacidades neurotróficas, pelo menos no que diz respeito à sua administração central. Porém, é indiscutível que se, por um lado os trabalhos mostrando os efeitos da SP não devem ser ignorados, por outro lado é muito cedo ainda para se ter condições de discutir mais a fundo como seu modo de ação estaria influenciando nos processos de memória, principalmente através de sua administração periférica.

Baseados nos dados existentes sobre os possíveis modos de ação da SP nos processos de memória, ainda não nos é possível optar criticamente por uma das hipóteses existentes.

Esses últimos estudos sobre os efeitos da administração de SP nos processos de memória, principalmente no que diz respeito à sua administração periférica, nos sugere que futuramente uma análise simplesmente a nível comportamental já não será suficiente para obtermos respostas mais consistentes sobre os possíveis modo de ação desse neuropeptídeo. O que a literatura traz até o momento não deixa dúvidas de que realmente a SP está envolvida, provavelmente como um neuromodulador, nos mecanismos de aprendizagem e memória dos mamíferos. Trabalhos futuros deverão ser realizados no sentido de compreender de que forma esse neuropeptídeo atua para causar os efeitos verificados até o momento. Para isso, a utilização de técnicas que permitam análises mais sofisticadas, como por exemplo técnicas bioquímicas, serão de fundamental importância para se obter respostas mais completas e consistentes. O estudo comportamental foi apenas a primeira tentativa de se compreender o papel que é cumprido por um dos grupos de substâncias mais relevantes do SNC, os neuropeptídeos, nos processos neurobiológicos da aprendizagem e memória.

**VI- RESUMO**

Existem evidências de que o neuropeptídeo Substância P (SP) cumpre um papel nos processos de aprendizagem e memória. Tem sido demonstrado que a sua administração pode facilitar ou causar efeitos amnésicos sobre a retenção da aprendizagem de diversas tarefas comportamentais, dependendo do sítio cerebral no qual ela for injetada. Os resultados do presente estudo indicam que a SP possui, também, influência sobre a aprendizagem e memória quando injetada periféricamente, por via intraperitoneal. Quando administrada imediatamente após o treino, na dose de 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , a SP foi capaz de facilitar a aprendizagem de tarefas de esquiva inibitória e habituação. Esses resultados estão de acordo com trabalhos citados na literatura, com relação aos efeitos da administração central e periférica de SP, e indicam que tais efeitos facilitadores não são devidos à uma ação a longo prazo desse peptídeo, uma vez que os animais que tiveram SP administrada 5 horas após o treino não tiveram sua performance facilitada quando testados 24 horas depois. Por outro lado, os resultados obtidos com a utilização de uma tarefa apetitivamente motivada não são consistentes com aqueles relatados previamente, sendo verificado um efeito amnésico da SP nas doses de 5.0, 100 e 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , quando administrada imediatamente após o treino, sendo que os resultados obtidos com a administração 5 horas após o treino replicaram aqueles obtidos com a habituação. Estes últimos resultados contrapõem-se à Teoria Central do Reforço segundo a qual reforçadores positivos, apresentados após o treino, facilitam a aquisição e consolidação da aprendizagem.

**VII- SUMMARY**

There is evidence showing that the neuropeptide Substance P (SP) plays a role in learning and memory processes. It has been demonstrated that central administration of SP improve or impair the retention on teste performance of a number of tasks, depending on the brain site into which is injected. The results of the present study indicate that SP also has an influence on learning and memory as when injected peripherally via intraperitoneal. SP injected immediately after training, in a dose of 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , enhanced performance of inhibitory avoidance and habituation tasks. These results are in agreement with results previously related with central and peripheral administration of SP, and indicate that the facilitatory effect of SP treatment on performance was not due to a long-lasting influence on performance 24 hs after training. The results obtained with the appetitive task are not consistent with those reported by other investigators, because we observed an amnesic effect with the doses of 50, 100 e 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of SP, administered immediately after the training. But the results obtained with administration 5 horas after the training are similar to those obtained with the habituation task. The last results are contrary to the Central Theory of Reinforcement, which is based on the assumption that learning should be improved as a result of reinforcement after training.

## VIII- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANKS, A. W. & KASTIN, J. A. (1985). Peptides and the blood-brain barrier: Lipophilicity as predictor of permeability. **Brain Research Bulletin**, 15: 287-292.
- BOLAM, J. P.; INGHAM, C. A.; IZZO, P. N.; LEVEY, A. I.; RYE, D. B.; SMITH, A. D. & WAINER, B. H. (1986). Substance P-containing terminals in synaptic contact with cholinergic neurons in the neostriatum and basal forebrain: a double immunocytochemical study in the rat. **Brain Research**, 397: 279-289.
- BERMAN, R.F. & KESNER, R.P. (1976). Posttrial hippocampal and lateral hypothalamic electrical stimulation: effects on short and long-term memory of an appetitive experience. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, 90: 260-267.
- CAREY, R. J. (1987). Post-trial hormonal treatment effects: memory modulation or perceptual distortion? **Journal of Neuroscience Methods**, 22: 27-30.
- CHANG, M. M. & LEEMAN, S. E. (1970). Isolation of a sialogogic peptide from bovine hypothalamic tissue and its characterization as Substance P. **Journal of Biological Chemistry**, 245: 4784-4790.

- CUELLO, A. C. & KANAZAWA, I. (1978). The distribution of SP immunoreactive fibers in the rat central nervous system. **Journal of Comparative Neurology**, **178**: 129-156.
- DESTRADE, C. & JAFFARD, R. (1978). Post-trial hippocampal and lateral hypothalamic electrical stimulation. **Behavioral Biology**, **22**: 354-374.
- DE WIED, D. (1977). Peptides and behavior. **Life Sciences**, **20**: 195-204.
- ELLIOT, P. J. (1988). Place aversion induced by the Substance P analogue, dimethyl-C7, is not state dependent: implication of Substance P in aversion. **Experimental Brain Research**, **73**: 354-356.
- ETTENBERG, A.; KOOY, V. D. ; LE MOAL, M.; KOOB, G. F. & BLOOM, F. E. (1983). Can aversive properties of (peripherally-injected) Vasopressin account for its putative role in memory? **Behavioural Brain Research**, **7**: 331-350.
- GERARD, R.W. (1949). Physiology and psychiatry. **American journal of psychiatry**, **106**: 161-173.
- GOLD, P. E. & McGAUGH, J.L. (1975). A single-trace, two processes view of memory storage processes. In: **Short-Term Memory**. Ed. D.Deutsch, J. A. Deutsch, pp. 335-378. New York: Academic.

HASENNOHRL, R.U.; GERHARDT, P. & HUSTON, J.P. (1990). Evidence for dose-dependent positively and negatively reinforcing effects of the substance P C-terminal analog DIME-C7. **Neuropeptides**, 17: 205-211.

HAWKINGS, R.D. & KANDEL, E. R. (1984). Steps towards a cell-biological alphabet for elementary forms of learning. In: LINCH, G.; McGAUGH, J. L. & WEIBERGER, N.M. eds. **Neurobiology of Learning and Memory**. New York, Guilford Press, pp. 385-404.

HEBB, D. O. (1949). **The organization of behavior**. New York: John Willey.

HECHT, K.; OEHME, P.; POPPEI, M. & Hecht, T. (1979). Conditioned-reflex learning of normal juvenile and adults rats exposed to action of Substance P and of SP analogue. **Pharmazie**, 34: 419-423.

HOLZHAUER-OITZL, M. S.; BOUKE, K. & HUSTON, J.P. (1987). Reinforcing properties of substance P in the lateral hypothalamus revealed by conditioned place preference. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 28: 511-513.

HOLZHAUER-OITZL, M. S.; HASENNOHRL, R. & HUSTON, J.P. (1988). Reinforcing properties of substance P in the region of the nucleus basalis magnocellularis in rats. **Neuropharmacology**, 7, 28: 749-756.

- HUSTON, J. P.; MUELLER, C. C. & MONDADORI, C. (1977). Memory facilitation by posttrial hypothalamic stimulation and other reinforcers: A Central Theory of Reinforcement. **Biobehavioral Reviews**, **1**: 143-150.
- HUSTON, J. P. & STAUBLI, U. (1978). Retrograde amnesia produced by post-trial injection of Substance P into Substantia Nigra. **Brain Research**, **159**: 468-472.
- HUSTON, J. P. & STAUBLI, U. (1979). Post-trial injection of Substance P into lateral hypothalamus and amigdala, respectively, facilitates and impairs learning. **Behavioral and Neural Biology**, **27**: 244-248.
- HUSTON, J. P. & STAUBLI, U. (1981). Substance P and its effects on learning and memory. In: MARTINEZ, J. L. JR.; JENSEN, R. A.; MESSING, R. B.; RIGTER, H. & McGAUGH, J. L. eds. **Endogenous Peptides and Learning and Memory Processes**. New York, Academic press, pp. 521-539.
- IZQUIERDO, I. (1979). Effect of naloxone and morphine on various forms of memory in the rat: Possible role of endogenous opiate mechanisms in memory consolidation. **Psychopharmacology**, **66**: 199-203.
- IZQUIERDO, I. (1980a). Effect of  $\beta$ -endorphin and naloxone on acquisition, memory, and retrieval of shuttle avoidance and habituation learning in rats. **Psychopharmacology**, **69**: 111-115.

- IZQUIERDO, I. (1988a). **Organização, Consolidação, Construção e Reconstrução da Memória**. Porto Alegre: UFRGS. Ed. UFRJ.
- IZQUIERDO, I. (1989). Different forms of post-training memory processing. **Behavioral and Neural Biology**, **51**: 171-202.
- IZQUIERDO, I. & GRAUNDENZ, M. (1980b). Memory facilitation by naloxone is due to release of dopaminergic and beta-adrenergic systems from tonic inhibition. **Psychopharmacology**, **67**:265-268.
- IZQUIERDO, I. & DIAS, R. D. (1981). Retrograde amnesia caused for Met, Leu and Des-Tyr-Met-Enkefalin in the rat and its reversal by naloxone. **Neuroscience Letters**, **22**: 119-193.
- IZQUIERDO, I.; NETTO, C. A.; DALMAZ, M.; CHAVES, L. F.; PEREIRA, M. & SIEGFRIED, B. (1988b). Construction and reconstruction of memories. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **21**: 9-25.
- IZQUIERDO, I.; PERRY, M. L.; Dias, R. D.; SOUZA, D. C.; ELIZABETSKY, E.; CARRASCO, M. A.; ORSHINGGER, O. A & Neto, C. A. (1981). Opioides, memory modulation and state dependency. In: MARTINEZ, J.L. JR.; JENSEN, R. A.; MESSING, R.B.; RIGTER, H. & McGAUGH, J. L. eds. **Endogenous Peptides and Learning and Memory Process**; Academic Press, New York, pp. 269-290.

- KAFFETZPOPOULOS, E.; HOLZHAUER-OITZL, M. S. & Huston, J. P. (1988). Substance P into the region of the nucleus basalis magnocellularis facilitates performance of an inhibitory avoidance task. *Psychopharmacology*, **90**: 281-283.
- KASTIN, A. J.; SCOLLAN, E. L.; KIND, M. E.; SCHALLY, A. V. & COY, H. (1976). Enkephalin and a potent analog facilitates maze performance after intraperitoneal administration in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **5**: 691-695.
- KOSLOVA, M. V.; ILYINSKII, O. B.; KALENCHUK, V. U. & KONDRIKOVA, E.S. (1987). Activating effect of Substance P on nerve tissue in culture. *Neurophysiology*, **18**: 429-434.
- KRIEGER, D. T. (1983). Brain peptides: What, where and why?. *Science*, **222**: 975-985.
- LASHLEY, R.S. (1963). *Brain mechanisms and intelligence*. Dover publications, New York.
- LASHLEY, R.S. (1938). The mechanisms of vision : XV. Preliminary studies of the rat's capacity for detail vision. *Journal General of Psychology*, **18**: 123-193.
- LEHMANN, J.; NAGY, J. I.; ATMADJA, S. & FIBIJER, H. C. (1980). The nucleus basalis magnocellularis: the origin of a cholinergic projection to the neocortex of the rat. *Neuroscience*, **5**: 1161-1174.

- LJUNGDHAL, A.; HOKFELT T. & NILSSON, G. (1978). Distribution of Substance P-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat - I. Cell bodies and nerve terminals. **Neuroscience**, 3: 861-943.
- LUNEBURG, U. & FLOHR, H. (1988). Effect of Substance P on vestibular compensation. In: Flohr, H. (ed.). **Post-Lesion Neural Plasticity**, Spring Verlag, Berlin, pp. 699-704.
- MCGAUGH, J. L. (1983a). Preserving the presence of the past; Hormonal influences on memory storage. **American Psychologist**, 161-174.
- MCGAUGH, J. L. (1983b). Hormonal influences on memory. **Annual Review of Psychology**, 34: 297-323.
- MCGAUGH, J. L. (1989). Involvement of hormonal and neuromodulatory systems in the regulation of memory storage. **Annual Review of Neuroscience**, 12: 255-287.
- MORRIS, G. M.; KANDEL, E. R. & SQUIRRE, L. R. (1988). The neuroscience of learning and memory: cells, neural circuits and behavior. **Trends in Neuroscience (Introduction)**, 11, 04: 125-127.
- MULLER, G. E. & PILZECKER, A. (1990). Experimentelle beitrage zur lehre vom gedachtniss. **Zeitchift für Psychologie**, 1: 1-288.

- NAGEL, JENNIFER, A. & Huston, J. P. (1988). Enhanced inhibitory avoidance learning produced by post-trial injection of substance P into the basal forebrain. **Behavioral and Neural Biology**, 4: 374-385.
- NEMEROFF, G. B.; KALIVAS, P. W.; GOLDEN, R. N.; PRANGE, A. J. (1984). Behavioral effects of hypothalamic hypophysiotropic hormones, neurotensine, substance P and others neuropeptides. **Pharmacology Therapeutics**, 24: 1-56.
- NETTO, C. A.; DIAS, R. D. & IZQUIERDO, I. (1986). Differential effect of posttrainnig naloxone,  $\beta$ -endorphin, leu-enkephalin and electroconvulsive shock administration upon memory of an open-field habituation and of a water-finding task. **Psychoneuroendocrinology**, 4, 11: 437-446.
- NOGUEIRA, P.J.C. & TOMAZ, C. (1990). Substance P enhancement of avoidance conditioning in rats pretreated wity naloxone. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 23, 2: 163-169.
- OVERTON, D. A. (1984). State dependent learning and drug discriminations. In: Iversen L. L.; IVERSEN, S. D. & Snyder, S. H. **Handbook of Psychopharmacology**, 18, Plenum Pub. Corp. pp: 60-127.

PAVLOV, I. P. (1927). **Conditioned reflexes : An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex.** Oxford University Press, London.

PELLEYMOUNTER, M. A.; SCHELESINGER, Q. F. K.; HALL, M.; DEARMEY, P. and STEWART, J. (1986). The effect of substance P and its fragments on passive avoidance retention and brain monoamine activity. **Behavioral Brain Research, 21:** 119-127.

PELLEYMOUNTER, M.; Fischer, Q.; SCHLESINGER, K.; HALL, M. & STEWART, J. (1985). Effect of Substance P and its fragments on monoamine metabolism and passive avoidance retention. **Society of Neuroscience Abstract, 11:** 874.

PELLEYMOUNTER, M.; SCHLESINGER, K. & STEWART, J. (1984). Nigral mediation of Substance P induced memory enhancement. **Society Neuroscience Abstract, 10:** 255.

SCHLESINGER, K.; LIPSITZ, U.; PECK, P. L.; PELLEYMOUNTER, M. A.; STEWART, J. M. & CHASE, T. N. (1983). Substance P reversal of eletroconvulsive shock and cycloheximide-induced retrograde amnesia. **Behavioral and Neural Biology, 39:** 30-39.

SCHLESINGER, K.; LIPSITZ, U.; PECK, P. L.; PELLEYMOUNTER, M. A.; STEWART, J. M. & CHASE, T. N. (1983). Substance P enhancement of passive and ative avoidance conditioning in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 19:** 655-661.

- SCHLESINGER, K.; PELLEYMOUNTER. M. A.; VAN DE KAMP, J.; BADER, D.L.; STEWART, J.M & CHASE, T. N.(1986). Substance P facilitation of memory: Effects in appetitive motivated learning task. **Behavioral and Neural Biology**, 45: 230-239.
- SHULTS, CLIFFORD, W. ; QUIRION, REMI; CHRONWALL, BIBIE; CHASE, THOMAS N. & O'DONOHUE, THOMAS L. (1984). A comparison of the anatomical distribution of substance P and substance P receptors in the rat central nervous system. **Peptides**, 5: 1097-1128.
- SIEGEL, S. (1975). **Estatística não paramétrica para as ciências do comportamento**. Ed. McGraw-Hill do Brasil Ltda., pp. 131-144.
- SNYDER, S. H. (1980). Brain peptides as neurotransmitters. **Science**, 19: 655-661.
- STAUBLI, U. & HUSTON, J.P. (1979a). Up-hill: A new passive-avoidance task. **Physiology and Behavior**, 21: 775-776.
- STAUBLI, U. & HUSTON, J. P. (1979b). Differential effects on learning by ventromedial vs. lateral hipotalamic post-trial injection of Substance P. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 10: 783-786.
- STAUBLI, U. & HUSTON, J. P. (1980). Facilitation of learning by post-trial injection of Substance P into the medial septal nucleus. **Behavioural Brain Research**, 1: 245-255.

- STAUBLI, U. & HUSTON, J.P. (1985). Central action of substance P: Possible role in reward. **Behavioral and Neural Biology**, **43**: 100-108.
- STERN, P. AND HADZOVIC, J. (1973). Pharmacological analysis of central actions of synthetic substance P. **Archives International of Pharmacodynamic**, **202**: 259-262.
- STEWART, J. M.; GETTO, C. J.; NELDNER, K.; REEVE, E. B.; KRIVOVY, W. A. & ZIMMERMANN, E. (1976). Substance P and analgesia. **Nature** (London), **262**: 784-785.
- THOMPSON, R. F.; GLAG, G. A.; DONEGAN, N. H.; LAVOND, D. G.; LINCOLN, J. S.; MADDEN, J.; MONOUNAS, L.; MANK, M. D.; McCORMICL, D. A. & THOMPSON, J. K. Neuronal substrates of learning and memory: A "multiplitrace" view. In: LYNCH, G.; McGAUGH, J. L. & WEIBERGER, N. M. eds. **Neurobiology of Learning and Memory**. New York, Guilford Press, 1984, pp. 137-164.
- TOMAZ, C. (1987). Avoidance learning and memory-storage in detelencephalated rats. In : M. L. Brandão (E.D.), **Neurosciences and Behavior**. University Vitória, pp: 125-140.
- TOMAZ, C. & Huston, J. P. (1986). Facilitation of conditioned inhibitory avoidance by pos-trial peripheral injection of Substance P. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, **2**: 469-472.

- TOMAZ, C.; SILVA, S. DA; BATISTÃO, O. & CASTREGHINI, J. (1987). Um aparelho simples para medir três tipos diferentes de esquivas inibitórias. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 1,3: 64-67.
- TULVING, E. (1987). Human memory. *Human Neurobiology*, 2, 6: 67-152.
- von EULER, U.S. & GADDUM, J.H. (1931). An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *Journal of Physiology*, 72: 74-87.
- YANKNER, BRUCE A; LAWRENCE, K.; DUFFY, KIRSCHNER. (1990). Neurotrophic and neurotoxic effects of amyloide  $\beta$  protein: Reversal by tachykinin neuropeptides. *Science*, 250: 279-282.
- YASPHAL, K.; WRIGHT, D.M. & HENRY, J. L. (1982). Substance P reduces tail-flick latencies: Implications for chronic pain síndromes. *Pain*, 14: 155-167.
- YEOMANS, J. S.; LOFMAN, O. & McFARLANE, V. (1985). Cholinergic involvement in lateral hypothalamic rewarding stimulation. *Brain Research*, 329: 1926.
- WETZEL, W. & MATTHIES, H. (1982). Effect of Substance P on the retention of a brightness discrimination task in rats. *Acta Biologica Medica Germanica*, 41: 647-652.