UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOLOGIA EXPERIMENTAL

WILLIAM EDUARDO PATARROYO SERNA

**AVALIAÇÃO DO TREINO COM ESTÍMULOS DISCRIMINATIVOS E
CONDICIONADOS SOBRE A AUTOADMINISTRAÇÃO ENDOVENOSA DE
MORFINA EM RATOS**
(VERSÃO CORRIGIDA)

São Paulo

2014

WILLIAM EDUARDO PATARROYO SERNA

**Avaliação do treino com estímulos discriminativos e condicionados sobre a
autoadministração endovenosa de morfina em ratos**

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da
Universidade de São Paulo como parte dos requisitos
para a obtenção do grau de Mestre em Psicologia
Experimental

Área de concentração: Psicologia Experimental

Orientadora: Profa. Dra. Miriam García Mijares

São Paulo

2014

WILLIAM EDUARDO PATARROYO SERNA

Avaliação do treino com estímulos discriminativos e condicionados sobre a autoadministração endovenosa de morfina em ratos

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Psicologia.

Área de concentração: Psicologia Experimental.

Apresentada e aprovada em: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

À minha mãe, pelo seu apoio incondicional.

Agradecimentos

À minha orientadora, Dra. Miriam García-Mijares, pela sua orientação durante o mestrado. Pelas reuniões e discussões que ajudaram à realização desta dissertação. Por mostrar-me caminhos acadêmicos e de vida que a minha vista não atingia, e especialmente, pelo jeito aconchegante em que me acolheu quando cheguei ao Brasil.

Ao Dr. Luciano Freitas Felicio, pela sua colaboração na realização deste projeto e pela confiança que teve comigo. Também pelo fornecimento do sulfato de morfina necessário para os procedimentos.

Ao Dr. Fábio Leyser Gonçalves, pela disposição e aconselhamento. Por me encaminhar nos momentos de incerteza.

Ao Dr. Guillermo Traslaviña e a Renato Duarte Alvisi pelo ensino do procedimento de canulação de veia jugular e pelo aconselhamento posterior.

À minha família, em especial à minha mãe, por acreditar em mim e apoiar as minhas decisões. Por sempre estar aí para mim apesar da distância. Pela preocupação e pelos bons desejos.

À Raquel, pelo apoio em momentos críticos, por estar sempre atenta, pela ajuda em diferentes etapas deste trabalho de pesquisa, pela compreensão, e em especial, por me fazer querer ser melhor pessoa.

À Andeson, pelas incontáveis discussões, pelo interesse e disposição, pela ajuda constante ante qualquer adversidade, por ser um ombro para me apoiar e um ouvido para me escutar.

Aos meus outros amigos e colegas de laboratório: Yulla e Gabriela, pela assistência durante os procedimentos cirúrgicos; Ana e Liane, pelos conselhos e ajuda nos momentos de desespero; Diana, Talita e Hernando, pelas discussões e observações. À todos os que são parte do

Laboratório de Psicofarmacologia, por fazer da minha estadia no Brasil uma feliz experiência de vida. Vocês são uma família para mim.

À Rafael pelo apoio constante e ajuda na a realização desta dissertação e na minha vida pessoal.

À Graciela pela ajuda, conselhos e atenções que ajudaram no desenvolvimento da presente pesquisa.

Aos seguranças, pessoal de manutenção e limpeza, bioteristas e todos aqueles que com o seu trabalho diário contribuíram e ajudaram direta ou indiretamente à realização deste trabalho.

Um agradecimento especial aos “maus exemplos”, por me mostrar o que não devo fazer e em quem não devo me converter.

Agradeço finalmente à CAPES pela bolsa concedida.

Sumário

Índice de figuras	7
Índice de anexos	8
Resumo	9
Abstract	10
Resumen	11
Controle de estímulos discriminativos e condicionados sobre a autoadministração endovenosa de morfina em ratos	11
Modelos Animais de procura de drogas e recaída	13
Transferência respondente-operante	15
Administração Passiva e Ativa de Drogas	25
Morfina	31
Método	33
Sujeitos	33
Caixas de condicionamento operante	33
Estímulos	35
Procedimento cirúrgico	36
Procedimento Experimental	37
Fase 1. Modelagem e treino da resposta na roda operante	37
Fase 2. Treino discriminativo em administração ativa ou passiva de morfina.	38
Fase 3. Modelagem da resposta de pressão à barra	39
Fase 4. Teste de controle de estímulos sobre a resposta de autoadministração.	40
Análise de dados	40
Resultados e Discussão do Experimento 1	41
Fase 2	42
Fase 3	44
Discussão	49
Resultados e Discussão do Experimento 2	50
Fase 2	50
Fase 3	53
Fase 4	54
Discussão	60
Discussão Geral	60
Conclusões	65

Índice de figuras

<i>Figura 1</i> - Esquema da disposição das luzes estímulo e dos operandos nas caixas operantes dos experimentos 1 e 2.....	34
<i>Figura 2</i> - Esquema da caixa operante.....	37
<i>Figura 4</i> - Esquema da sequência experimental das fases 2, 3 e 4 dos experimentos 1 e 2.	40
<i>Figura 5</i> - Índices discriminativos atingidos pelo grupo CONT do Experimento 1.....	42
<i>Figura 6</i> - Probabilidade de apresentação simultânea de CS e US na Fase 2 do Experimento 1..	44
<i>Figura 7</i> – Frequência de respostas na barra durante a Fase 3 do Experimento 1.....	45
<i>Figura 8</i> - Índice discriminativo da primeira sessão da Fase 4 do Experimento 1..	46
<i>Figura 9</i> – Índice discriminativo durante a Fase 4 do Experimento 1..	47
<i>Figura 10</i> – Porcentagem relativa à frequência de respostas na última sessão da Fase3 do Experimento 1.	48
<i>Figura 11</i> – Índices discriminativos atingidos pelo grupo CONT do Experimento 2..	52
<i>Figura 12</i> – Probabilidade de apresentação simultânea de US\CS na Fase 2 do Experimento 2.	53
<i>Figura 13</i> - Média da frequência de respostas na barra dos grupos na Fase 3 do Experimento 2..	54
<i>Figura 14</i> - Índice discriminativo da primeira sessão de extinção do Experimento 2.....	55
<i>Figura 15</i> - Índice discriminativo dos grupos na Fase 4 no Experimento 2..	55
<i>Figura 16</i> – Índice discriminativo do grupo CONT na Fase 4 do Experimento 2.....	56
<i>Figura 17</i> – Índice discriminativo do grupo ACOP na Fase 4 do Experimento 2.....	57
<i>Figura 18</i> – Índice discriminativo do grupo VEÍC na Fase 4 do Experimento 2.	58
<i>Figura 19</i> – Porcentagem relativa à frequência de respostas na última sessão da Fase3 do Experimento 2.	59

Índice de anexos

<i>Anexo 1</i> - Frequência de respostas na roda operante durante a Fase 2 do Experimento 1.....	83
<i>Anexo 2</i> - Valores da $p(US\backslash CS)$ durante todas as sessões da Fase 2 do Experimento 1..	84
<i>Anexo 3</i> - Frequência de respostas totais na barra na Fase 4 do Experimento 1.....	85
<i>Anexo 4</i> - Frequência de respostas na barra em S1 e S2 na Fase 4 do Experimento 1	86
<i>Anexo 5</i> – Valores da $p(US\backslash CS)$ durante todas as sessões da Fase 2 do Experimento 2.....	87
<i>Anexo 6</i> – Frequência de respostas na barra durante a Fase 3 do Experimento 2.....	88
<i>Anexo 7</i> – Porcentagem relativa à frequência de respostas na última sessão da Fase3 do Experimento 2.	89
<i>Anexo 8</i> – Frequência de respostas totais na barra na Fase 4 do Experimento 2.	90
<i>Anexo 9</i> – Frequência de respostas na barra em S1 e S2 do grupo CONT na Fase 4 do Experimento 2.	91
<i>Anexo 10</i> – Frequência de respostas na barra em S1 e S2 do grupo ACOP na Fase 4 do Experimento 2..	92
<i>Anexo 11</i> - Frequência de respostas na barra em S1 e S2 do grupo VEÍC na Fase 4 do Experimento 2.	93

PATARROYO SERNA, William Eduardo. Avaliação de treino com estímulos discriminativos e condicionados sobre a autoadministração endovenosa de morfina em ratos. Dissertação (Mestrado). São Paulo, 2014. Universidade de São Paulo, Instituto de Psicologia.

Resumo

Pesquisas com drogas de abuso têm mostrado consistentemente que a apresentação de estímulos ambientais associados ao uso destas substâncias pode induzir comportamentos de busca e autoadministração das mesmas. Existe a hipótese de que o controle que estímulos ambientais adquirem sobre comportamentos de autoadministração e busca por drogas de abuso poderia ser influenciado tanto pela forma de administração da droga, autoadministração (administração ativa) ou heteroadministração (administração passiva), quanto pela contingência (operante ou respondente) em que a droga foi associada com tais estímulos. Foram formados trios compostos por um sujeito de cada grupo (CONT, ACOP e VEÍC) e realizados dois experimentos. Inicialmente os sujeitos de cada trio foram acoplados por meio de caixas experimentais separadas e expostos a tentativas discretas de apresentação dos estímulos luminosos, S1 e S2, simultaneamente. Como consequência do girar a roda operante na presença de S1 por um integrante do grupo CONT, este recebia uma infusão endovenosa de morfina (0,75 mg/kg), e simultaneamente os animais acoplados no trio recebiam uma infusão de morfina na mesma dose (grupo ACOP) ou de veículo (grupo VEÍC). Posteriormente, os sujeitos de todos os grupos foram treinados a pressionar uma barra por infusões endovenosas de morfina, sem contingência discriminativa programada alguma. Para esta fase, no experimento 1, S2 esteve presente durante as sessões experimentais, porém no experimento 2, nenhum S foi apresentado. Finalmente, os estímulos S1 e S2 foram apresentados em tentativas discretas, em condições de extinção. Os resultados mostram que, durante a extinção, o desempenho dos animais do grupo CONT, mas não os dos grupos ACOP e VEÍC, foi condizente com o treino recebido inicialmente (com 80% ou mais de respostas na barra em presença de S1), indicando que foi estabelecido controle discriminativo sobre a autoadministração de morfina no treino sob a contingência operante, mas não sob a respondente. Estes resultados sugerem que comportamentos de autoadministração e busca por drogas de abuso são influenciados tanto pela forma de administração da droga, quanto pelo tipo de contingência em que uma droga é associada com estímulos ambientais.

Palavras chave: administração endovenosa, controle de estímulos, autoadministração, drogas de abuso, Transferência respondente-operante (PIT), morfina, ratos.

PATARROYO SERNA, William Eduardo. Discriminative and conditioned stimuli training evaluation on intravenous self-administration of morphine in rats. Thesis (Master). Sao Paulo, 2014. University of Sao Paulo, Psychology Institute.

Abstract

Drug abuse research has consistently shown that presentation of a drug associated with environmental stimuli can induce drug-seeking and drug-administration behaviors. It has been hypothesized that stimuli control over drug-seeking and self-administration behaviors could be influenced by drug administration's nature, self-administration (active administration) or hetero-administration (passive administration), and also influenced by the drug-stimuli association contingency (operant or respondent). Animals were exposed to right jugular vein catheterization procedure. Groups Contingent (C), Yoked (Y) and Toked Saline (YS) were formed randomly after recovery. Yoked triads were formed with one subject from each group and two experiments were executed. Initially a discriminative training (light stimuli S1 and S2 discrete trials) was presented to triads. Each time C S group member turned an instrumental wheel in presence of S1, simultaneously, an intravenous morphine infusion (0.75 mg/kg) were administrated to that subject and yoked Y group member, as well as an intravenous saline infusion was administrated to yoked YS group member, in every triad. Afterward all subjects were individually trained to lever-press for an intravenous morphine infusion with no discrimination contingency programed. In this phase, S2 was presented through sessions in Experiment 1, while in Experiment 2 no S were presented. After achieving response stability, subjects were exposed to extinction sessions. Stimuli S1 and S2 discrete trials were presented but no consequences were programed for bar-press responses. Results show that only C groups performance was consistent with the previously received discriminative training (80% or more of bar-press responses in S1 presence) during extinction sessions, indicating that an operant training, but not a respondent training, successfully established morphine self-administration discriminative control. These results suggest that self-administration behaviors are in fact influenced by drugs administration nature and also by the drug-stimuli association contingency.

Key words: drug abuse, intravenous administration, morphine, Pavlovian to instrumental transfer (PIT), rats, self-administration, stimuli control.

PATARROYO SERNA, William Eduardo. Evaluación de condicionamiento con estímulos discriminativos y condicionados sobre la autoadministración intravenosa de morfina en ratas. Tesis (Maestría). São Paulo, 2014. Universidade de Sao Paulo, Instituto de Psicologia.

Resumen

Estudios con drogas de abuso han mostrado consistentemente que la presentación de estímulos ambientales asociados al uso de estas sustancias puede inducir comportamientos de busca e autoadministración de las mismas. Existe la hipótesis de que el control que estímulos ambientales adquieren sobre comportamientos de autoadministración y búsqueda de drogas de abuso podría ser influenciado tanto por la forma de administración de la droga, autoadministración (administración activa) o heteroadministración (administración pasiva), cuanto por la contingencia (operante o respondiente) en que la droga fue asociada con tales estímulos. Fueron formados tríos compuestos por un sujeto de cada grupo (CONT, ACOP y VEIC) y realizados dos experimentos. Inicialmente los sujetos de cada trío fueron acoplados por medio de cajas experimentales separadas y expuestos a ensayos discretos de presentación de los estímulos luminosos, S1 y S2, simultáneamente. Como consecuencia de girar la rueda operante en la presencia de S1 por un integrante del grupo CONT, este recibía una infusión intravenosa de morfina (0,75 mg/kg), e simultáneamente los animales acoplados al trío recibían una infusión de morfina en la misma dosis (grupo ACOP) o de vehículo (grupo VEIC). Posteriormente, los sujetos de todos los grupos fueron condicionados para presionar una barra por infusiones de morfina, sin contingencia discriminativa programada. Para esta fase, en el experimento 1, S2 estuvo presente durante las sesiones experimentales, sin embargo en el experimento 2, ningún S fue presentado. Finalmente, los estímulos S1 y S2 fueron presentados en ensayos discretos, en condiciones de extinción. Los resultados muestran que, durante la extinción, el desempeño de los animales del grupo CONT, pero no los de los grupos ACOP y VEIC, estuvieron de acuerdo con el condicionamiento recibido inicialmente (con 80% o más respuestas en la barra en presencia de S1), indicando que fue establecido control discriminativo sobre la autoadministración de morfina en el condicionamiento bajo la contingencia operante pero no bajo la respondiente. Estos resultados sugieren que comportamientos de autoadministración y búsqueda por drogas de abuso son influenciados tanto por la forma de administración de la droga, cuanto por el tipo de contingencia en que una droga es asociada con estímulos ambientales.

Palabras llave: administración intravenosa, control de estímulos, autoadministración, drogas de abuso, Transferencia respondiente-operante (PIT), morfina, ratas.

Controle de estímulos discriminativos e condicionados sobre a autoadministração endovenosa de morfina em ratos

Existe um corpo robusto de pesquisa que mostra que os estímulos externos ou ambientais podem adquirir controle sobre comportamentos reforçados por drogas quando previamente associados ao efeito da droga, tanto em humanos (e.g. Childress, McLellan, Ehrman, & O'Brien, 1988; O'Brien, Ehrman, & Ternes, 1986) quanto em animais não humanos (e.g. Goldberg, Spealman, & Kelleher, 1979; Panlilio, Weiss, & Schindler, 2000; Schuster & Woods, 1968; Weiss, Kearns, Cohn, Schindler, & Panlilio, 2003; Wikler, 1971). De fato, já nos anos 60, autores como Thompson e Ostlund (1965) mostraram que é possível que estímulos ambientais ocasionem que um sujeito retome padrões comportamentais que previamente aliviaram sintomas de abstinência. Sabe-se, por exemplo, que sintomas de abstinência podem ser condicionados a um estímulo específico e posteriormente ser eliciados por este (Goldberg & Schuster, 1967; Wikler & Pescor, 1967), produzindo padrões comportamentais de uso de drogas de abuso caracterizados como dependência (McDonald & Siegel, 2004; Siegel, 2005; Siegel & Ramos, 2002) e recaída após períodos de abstinência prolongada (O'Brien, Childress, Ehrman, & Robbins, 1998; Robinson & Berridge, 2008). Fundamentados nessas pesquisas, vários autores da literatura especializada no estudo da dependência de drogas propõem que os padrões de autoadministração, procura por drogas e recaída observadas em sujeitos dependentes são função do controle de estímulos ambientais (Everitt & Robbins, 2005; Kalivas & O'Brien, 2008; Kalivas, Peters, & Knackstedt, 2006; Robinson & Berridge 2003; Siegel & Ramos, 2002).

Para o estudo experimental do controle de estímulos da resposta mantida por drogas, são frequentemente usados modelos animais que pretendem simular os comportamentos de autoadministração, procura por drogas e recaída. A autoadministração de drogas pode ser definida como o comportamento que imediatamente precede a ingestão da droga (por exemplo, se injetar, cheirar, ingerir ou fumar uma droga são considerados comportamentos de

autoadministração). A procura por drogas é definida pelos comportamentos de busca, aquisição e forrageio da droga (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006); comprar a droga, conseguir o dinheiro para a compra e frequentar os locais onde a droga está disponível são exemplos destes comportamentos. Por último, a recaída é um termo usado para descrever a retomada da autoadministração de drogas, após algum período de abstinência (Epstein, Preston, Stewart, & Shaham, 2006). Os modelos de procura por droga e recaída são de particular interesse para este trabalho, pois não existe consenso na literatura sobre os processos comportamentais que os determinam. Por esse motivo serão melhor detalhados a continuação.

Modelos Animais de procura de drogas e recaída

Em geral, usam-se modelos semelhantes para o estudo da procura por droga e da recaída, isso porque, na prática, esses comportamentos são difíceis de distinguir, especialmente dentro do laboratório. Como apontado por Sanchis-Segura e Spanagel (2006), os procedimentos mais comuns para estudar esses comportamentos são os denominados “Modelos de Reinstalação”. Destes, o modelo indução pela dica ou “*cue-induced*” é o preferido para o estudo da reinstalação por estímulos ambientais (Epstein, *et al.*, 2006; Sanchis-Segura & Spanagel, 2006). Como descrito em Galesi, Silva e Garcia-Mijares (2012), no modelo de indução pela dica, os animais são expostos a um treino discriminativo com dois componentes diferentes. No primeiro, respostas emitidas (e.g., pressão à barra) na presença de um estímulo ambiental (S1) têm como consequência a apresentação de uma droga determinada (SR1) (e.g., uma injeção de morfina). No segundo, respostas emitidas na presença de outro estímulo ambiental (S2) têm como consequência a apresentação de um veículo (SR2). Depois desse treino, a resposta treinada é colocada em extinção na ausência dos estímulos discriminativos e condicionados. Uma vez verificada a extinção das respostas, os estímulos S1 e S2 são novamente apresentados, mas as respostas emitidas na sua presença não têm consequências programadas (i.e. são medidas sob extinção). Nesta última condição, o controle de estímulo sobre a resposta é verificado quando o

número de respostas na presença de S1 é significativamente maior do que na presença de S2, resultado interpretado por vários autores como evidência de reinstalação da resposta por estímulos ambientais (e.g. Bachteler, Economidou, Danysz, Ciccocioppo, & Spanagel, 2005; Ciccocioppo, Angeletti, & Weiss, 2001; Ciccocioppo *et al.*, 2004).

Outro procedimento de reinstalação bastante utilizado para o estudo da recaída e procura por drogas é o procedimento de entrega primária ou “*priming*”, que consiste na administração de uma dose de droga em um sujeito que passou por uma etapa de abstinência (esta dose pode ser ou não na mesma via que estava sendo administrada previamente). Geralmente, neste modelo, o sujeito é primeiramente treinado, em diversas sessões, a se autoadministrar uma droga que depois será substituída por um veículo até observar a extinção dessa resposta. Posteriormente, ainda em extinção, uma dose de droga é administrada de forma não contingente à resposta e se verifica a reaparição da taxa de respostas extinta. As respostas são monitoradas durante a sessão e geralmente por vários dias até voltar à linha base, intercalando as sessões com entrega primária da droga e do veículo. Quando o número de respostas é significativamente maior com a droga do que com o veículo, é considerado que houve reinstalação da resposta ou recaída.

Carroll e Comer (1996) distinguem os modelos animais acima citados, entre outros, pela localização (interna ou externa) do estímulo que controlaria a resposta de procura e recaída. De acordo com as autoras, as respostas de reinstalação observadas no procedimento de indução pela dica seriam controladas por estímulos externos e as emitidas no modelo de entrega primária seriam controladas por estímulos internos. Esta distinção dos modelos de estudo da recaída às drogas baseada nos estímulos internos e externos, mesmo sendo comumente usado, não é, talvez, a mais indicada. As drogas são estímulos externos tanto quanto uma luz ou um tom, e os efeitos que estas produzem nos organismos são “internos” (i.e. mudanças no SNC). Observações de que estímulos ambientais podem reinstalar uma resposta que foi reforçada previamente por drogas sob procedimentos semelhantes têm levantado questões sobre os mecanismos comportamentais envolvidos nesse fenômeno. Provavelmente uma distinção mais acertada dos modelos de recaída

seja dada em função dos estímulos ambientais em sinergia aos efeitos centrais de uma droga (i.e. contingências respondentes ou operantes).

Estudos como os de Dacher e Nugent (2011) e Jacobs, Smit, de Vries, e Schoffelman (2003) sugerem que o controle que exercem as drogas de abuso sobre a procura e consumo das mesmas depende da emissão de operantes reforçados por estas, e não apenas dos processos de condicionamento respondentes associados. Por outro lado, como será revisado posteriormente, existe um corpo de literatura que propõe que o mecanismo básico subjacente a este fenômeno é o condicionamento respondente (ou Pavloviano): um estímulo condicionado (CS) associado contingentemente a um estímulo incondicionado (US) induz as respostas que foram reforçadas pelo mesmo US no condicionamento (Estes, 1948; Holland, 2004; Rescorla & Solomon, 1967), evidenciando a influência motivacional apreendida do CS sobre a resposta operante (Dickinson & Balleine, 2007; Holland, 2004; Rescorla & Solomon, 1967; Robinson & Berridge, 2003). Segundo estes autores, defensores dessa postura, o controle operante que exercem CSs pode ser estabelecido por processos chamados de *Transferência Respondente-Operante* (PIT, pela sua sigla em inglês, “*Pavlovian to instrumental transfer*”), mesmo na ausência de treino operante explícito (treino discriminativo).

Transferência respondente-operante

Em geral, as definições de condicionamento respondente e operante, destacam que o condicionamento respondente é definido como o processo através do qual um estímulo ambiental (inicialmente neutro), associado com um segundo estímulo que tem a função inata de provocar uma resposta reflexa, adquire a função de eliciar tal resposta reflexa (ou condicionada), e que o condicionamento operante é definido como o processo pelo qual certa uma classe de respostas (operantes) fica sob o controle das suas (Pear & Eldridge, 1984). A diferença entre treino respondente e operante radica basicamente nas contingências programadas pelo pesquisador. No caso do treino respondente, um sujeito é exposto a um procedimento em que um CS (e.g. luz,

tom, cheiro) é apresentado e um US (e.g. comida, choque elétrico) é disponibilizado (ou administrado), podendo ocasionar um comportamento respondente em futuras apresentações do CS. No treino operante, uma condição é programada e exposta para um sujeito, de modo que o responder do sujeito em um instrumento (e.g. uma barra) ocasiona uma consequência específica, reforçadora ou punidora, modificando o responder do sujeito neste instrumento em termos de frequência. É importante destacar que a distinção entre comportamento respondente e operante que será utilizada neste trabalho é a referida aos procedimentos de treino (respondente e operante) envolvidos na transferência respondente-operante no PIT.

O termo PIT tem sido utilizado na literatura tanto para se referir a um procedimento experimental quanto a um processo comportamental resultante da interação respondente-operante. Milton A. Trapold utilizou os termos “*Classical to Instrumental Transfer*” e “*Classical to Instrumental conditioning*” em uma série de experimentos que tinham como objetivo verificar o efeito de CSs, adquiridos por diferentes manipulações de treino respondente, sobre a aquisição, extinção, generalização e reversão de função de estímulos discriminativos (Hyde & Trapold, 1967; Trapold, Gross, & Lawton, 1968; Trapold, Lawton, & Dick, 1968; Trapold & Winokur, 1967). Posteriormente, Fowler, Fago, Domber e Hochhauser (1973) descreveram o “*Pavlovian-instrumental transfer*” como um paradigma ou procedimento experimental que consistia, principalmente, em duas fases: treino respondente das funções dos estímulos (por exemplo a apresentação de um tom foi seguido de um choque) e treino discriminativo dos estímulos utilizados no treino respondente. Atualmente, o termo é mais usado na sua acepção original, isto é, para se referir ao efeito da apresentação de um CS sobre algum parâmetro de um comportamento operante (Crombag, Galarce, & Holland, 2008; Holland, 2004).

Rescorla e Solomon (1967) apontam pelo menos 8 procedimentos básicos que podem ser utilizados para estudar PIT. Um frequentemente encontrado na literatura consiste no treino independente da relação CS-US (respondente) e da relação resposta-estímulo (operante). O treino operante pode ser realizado por reforço positivo ou negativo. Uma vez realizado esse

treino, o CS é apresentado em sessões de extinção para verificar o controle sobre a resposta operante. Quando o reforçador do operante é o mesmo US, o resultado típico é uma maior frequência de emissão da resposta na presença do CS do que na sua ausência (Allman, DeLeon, Cataldo, Holland, & Johnson, 2010; Holland, 2004), porém, quando o US é aversivo e o reforçador apetitivo, observa-se a diminuição da taxa de resposta na presença do CS. Este último fenômeno de transferência tem sido denominado como *desvalorização* (*devaluation* em inglês) por Rescorla (1985). Este autor argumenta que, na desvalorização, as associações $R-S^R$ que acontecem durante o treino operante são afetadas pelas manipulações respondentes de alteração de valor reforçador, diminuindo a taxa da resposta. De fato, Colwill e Rescorla (1988) mostraram que, em treinos operantes, criam-se tanto associações $R-S^R$ quanto S^D-S^R , sendo esta última associação a base da transferência, e a combinação das duas associações a responsável pelo responder operante. Resultados de todos estes estudos indicam que associações respondentes (CS-US) podem alterar o responder operante estabelecido (previamente ou posteriormente) quando apresentado o CS no teste de transferência.

Galarce, Crombag e Holland (2007) realizaram três experimentos utilizando os procedimentos PIT e desvalorização para avaliar o efeito da especificidade do reforço na transferência respondente-operante, mostrando que, depois de um treino operante, o valor de um CS (apetitivo ou aversivo) associado a um reforçador pode alterar a frequência do responder operante emitido na presença deste CS. Nesse estudo, antes de dar início aos experimentos, os animais foram expostos a um treino respondente com dois tons de diferente intensidade (CS1 e CS2), sendo CS1 associado à sacarose e CS2 à maltodextrina. Os sujeitos apresentaram condicionamento respondente normalmente e passaram significativamente mais tempo orientados aos receptáculos das comidas correspondentes a cada CS durante as apresentações destes que em outros intervalos. No primeiro experimento os animais passaram por um treino operante (uma barra para receber sacarose próxima a um receptáculo e uma segunda barra para receber maltodextrina próxima a um segundo receptáculo). Quando os CSs foram introduzidos

em situação de extinção durante o teste de transferência, os animais apresentaram PIT respondendo significativamente mais na barra que foi associada com cada CS quando estes estavam presentes. Estes mesmos animais foram usados no segundo experimento, no qual os sujeitos foram expostos a um retreinamento respondente com as mesmas associações que o experimento anterior (CS1 – sacarose, CS2 - maltodextrina), em privação alimentar. Depois do treino os animais foram alimentados *ad-libitum* e posteriormente os comportamentos de consumo de sacarose e maltodextrina na presença dos CSs associados a estes foram medidos em caixas operantes. Foi observado um maior consumo de sacarose ou maltodextrina na presença do CS associado a estes que na presença do outro CS ou de nenhum CS. Finalmente, no terceiro experimento, os animais que passaram pelos experimentos anteriores foram expostos a um procedimento para avaliar desvalorização, no qual a sacarose ou maltodextrina foi disponibilizada junto com uma injeção de cloreto de lítio (LiCl) para produzir aversão ao sabor (*taste aversion* em inglês). Depois de dez dias, o teste de desvalorização foi apresentado. Comportamento apetitivos (aproximação e entrada ao receptáculo) e consumatório (consumir a comida) foram examinados na presença de CS1 e CS2, mostrando a redução de ambos os comportamentos na presença do CS correspondente ao US associado, mesmo quando o US não desvalorizado estava presente junto com o CS que sinalizava o US desvalorizado. Juntos, estes três são um claro exemplo de como se apresenta a transferência depois de adquiridas relações CS-US em um condicionamento respondente, tanto no PIT quanto na desvalorização.

A aprendizagem associativa entre um CS e uma resposta operante pode ser influenciada por diferentes parâmetros, como a quantidade de treino e o uso de múltiplos reforçadores (Holland, 2004). O estudo realizado por Holland (2004) consistiu em dois experimentos. No primeiro experimento foi empregado um procedimento de indução pela dica, em que ratos foram privados de comida (85% peso *ad lib*) e passaram por um pareamento respondente com dois diferentes tons, um pareado com comida (S1) e outro não (S2). Em seguida, estes receberam treino operante de pressão à barra para obter comida por duas, cinco ou vinte sessões, e após este

treino, foram testados em uma única sessão de transferência, em que tentativas discretas de S1 e S2 foram apresentadas em condições de extinção. Os sujeitos passaram por mais uma sessão de treino respondente e uma de treino operante. Posteriormente, quatro sessões de desvalorização foram efetuadas, disponibilizando comida seguida de uma injeção de LiCl. Foi realizada mais uma sessão de transferência, idêntica à primeira, e finalmente foi testada a aversão à comida nas caixas viveiro sem usar LiCl. No segundo experimento, os animais receberam um treino respondente similar ao do primeiro experimento. Foram realizados pareamentos contrabalançados de S1 e S2 com comida ou uma solução de sacarose. As apresentações de S1 e S2 foram randomizadas de modo que fossem iguais os pareamentos de S1-comida, S1-sacarose, S2-comida e S2-sacarose. Os ratos foram divididos em dois grupos e continuou-se com o treino operante das respostas de pressão à barra (R1) e de pular uma corrente situada no teto da caixa operante (R2). Um dos grupos foi treinado para responder em R1 e R2 para receber comida ou sacarose, o outro grupo foi treinado para responder em R1 para receber comida e em R2 e R3 (apertar um painel) para receber sacarose. Os sujeitos passaram por mais uma sessão de treino respondente e posteriormente por duas sessões de transferência nas mesmas condições que no experimento 1. Uma destas sessões foi com R1 disponível e a outra com R2 disponível. O responder em R3 não foi avaliado. Igual ao primeiro experimento, os animais receberam mais uma sessão de treino respondente e uma de treino operante (idênticas às anteriores para cada grupo). A desvalorização foi estabelecida com comida ou sacarose (dividindo os dois grupos em metades) por quatro dias. Duas sessões de transferência idênticas às anteriores foram realizadas e finalmente foi testada a aversão à comida nas caixas viveiro sem usar LiCl.

Os resultados do estudo de Holland (2004) mostram que a quantidade de treino operante com um único reforçador operante (US) tem efeitos diretamente proporcionais na taxa de frequência do operante associado na presença do CS quando é de caráter apetitivo, e efeitos opostamente proporcionais nesta frequência quando o CS é de caráter aversivo, durante a transferência (PIT). Quando múltiplos reforçadores foram usados (Experimento 2), os processos

de PIT e desvalorização foram menos influenciados pela quantidade de treino. Achados como estes são de grande interesse para o presente estudo, revelando a sensibilidade da aprendizagem associativa entre um estímulo ambiental e uma resposta operante ante diferentes variáveis, tanto no PIT quanto na desvalorização. Em outras palavras, mostram como diferentes histórias (relações) entre um CS e um reforçador, depois de ter passado por um treino operante, podem ocasionar, em diferentes graus, respostas de busca por tal reforçador quando o CS é apresentado.

Outro exemplo de como diferentes relações CS-US estabelecidas em um condicionamento respondente podem influenciar as respostas de busca (apetitivas e consumatórias), quando o CS é apresentado depois de um treino operante, é o segundo experimento do estudo de Crombag, Galarce e Holland (2008). Dois grupos de camundongos receberam treino respondente, um destes com pareamentos de 10 s entre um CS (auditivo) e um US (leite), e o outro grupo com pareamentos de 2 min entre os mesmos CS e US. No segundo experimento deste estudo, os animais foram treinados na resposta de pressão à barra com leite como reforçador. Posteriormente, uma sessão de transferência foi realizada, apresentando o CS associado previamente, e foram registradas as respostas na barra. O grupo de animais na condição de treino respondente de 2 min apresentou significativamente mais respostas em relação ao grupo na condição de treino respondente de 10 s, mostrando que o tempo de exposição entre CS e US apresentado em um condicionamento respondente é um parâmetro que pode influenciar o PIT.

Usando procedimentos como os descritos anteriormente, o PIT tem sido demonstrado em experimentos com ratos (Colwill & Motzkin, 1994; Estes, 1948; Holland, 2004; Lovibond, 1981; Meltzer & Hamm, 1974a, 1974b, 1978; Rescorla, 1994, 1997, 2000), macacos (Henton & Brady, 1970), pombos (Hernstein & Morse, 1957; LoLordo, 1971), coelhos (Lovibond, 1983) e camundongos (Crombag, Galarce & Holland, 2008; Crombag, Sutton, *et al.*, 2008), sendo amplamente estudado em animais não humanos desde há mais de meio século e recentemente demonstrado em seres humanos (Allman *et al.*, 2010; Bray, Rangel, Shimojo, Balleine &

O'Doherty, 2008; Hogarth, Dickinson, Holmes, Marchand & Coutureau, 2010; Paredes-Olay, Abad, Gamez, & Rosas, 2002; Talmi, Seymour, Dayan & Dolan, 2008; Wright, Kouvaraki & Duka, 2007). Esses experimentos têm mostrado que a força do PIT (i.e. quanto muda o responder operante na presença do CS) é modulada por parâmetros como o tempo de exposição entre CS e US apresentado em um condicionamento respondente, quantidade de treino no treino operante e a quantidade de operandos treinados; mostrando que o efeito do estímulo condicionado sobre o responder operante não é um fenômeno de tudo ou nada. Ainda, a sua observação repetida em diferentes espécies sugere que o PIT é um processo básico do comportamento.

De acordo com Everitt e Robbins (2005), o PIT é essencial para a compreensão dos comportamentos controlados por estímulos ambientais, como comer, beber e consumir drogas. De especial interesse para a presente discussão é a proposta do PIT ser um processo básico do consumo de drogas, e por esse motivo, esta será desenvolvida com maior detalhe.

O efeito reforçador das drogas de abuso é determinado não apenas pelo efeito central destas, mas também pelos estímulos ambientais que foram associados de maneira contingente ao seu consumo (Everitt & Robbins, 2005). Para estes autores, os estímulos presentes no ambiente, próximos temporal e espacialmente aos comportamentos de autoadministração de uma droga e aos efeitos centrais que esta produz, adquirem saliência de incentivo¹ por meio de processos associativos respondentes. Segundo Everitt e Robbins (2005), uma vez adquirida sua função eliciadora e evocadora, a exposição do sujeito aos CSs associados com a droga induz efeitos motivacionais que, em palavras dos autores, “ativam ou energizam” as repostas de procura e autoadministração da droga.

¹ A saliência do incentivo é um termo acunhado pelos autores para nomear as propriedades motivadoras de estímulos ambientais associados a reforços. De diferentes descrições e especialmente de procedimentos experimentais para medir a “saliência do incentivo”, pode ser entendido que o termo se refere à interação entre a probabilidade de um operante ser emitido na presença de um estímulo ambiental e a intensidade da resposta emitida na sua presença. A intensidade da resposta é medida por sua frequência, duração ou persistência (resistência à extinção).

Na mesma linha de ideias, Robinson e Berridge (2008) propuseram que a sensibilização da saliência do incentivo do estímulo produzido pelo uso repetido de drogas em contextos específicos seria o processo básico da dependência. A sensibilização do incentivo aconteceria porque os sistemas neurais responsáveis pela saliência do incentivo dos estímulos são sensibilizados pela administração repetida da droga. Isto causaria que o indivíduo sensibilizado, quando exposto à droga ou a estímulos associados a ela, quisesse a droga mesmo não gostando dela (Robinson & Berridge, 1993, 2003). Para esses autores, o “gostar” estaria associado a processos cognitivos² e esses processos não são sensibilizados, mas o “querer” a droga seria irracional³ e seriam os processos neurais responsáveis pela saliência do incentivo dos estímulos. Assim, a fissura pela droga, que é igualada ao “querer”, seria um processo respondente que aconteceria mesmo quando o sujeito não gostasse mais da droga. O deixar de “gostar” pode dever-se a um processo de tolerância, mas de qualquer forma esse processo não seria importante para explicar a dependência.

Em resumo, segundo Robinson e Berridge (1993, 2003, 2008), o sujeito dependente procura e se autoadministra droga porque estímulos ambientais associados aos efeitos da droga desencadeiam ou eliciam estímulos internos denominados de fissura, incentivando os comportamentos de procura por drogas e autoadministração destas. Desta forma, a procura e consumo de droga do dependente são comportamentos operantes induzidos ou alterados pela presença de estímulos eliciadores, ou seja, são comportamentos determinados por processos PIT.

Na reformulação posterior da teoria, Berridge, Robinson e Aldridge (2009) discutem a evidência empírica que sustenta a proposta do “querer” e do “gostar” como dois processos diferentes em termos de mecanismos neuronais, e não mais em termos de processos operantes e

² O termo “gostar” é usado por estes autores para se referir abreviadamente a “processos cognitivos”, ou seja à ativação de processos que envolvem a saliência do incentivo de um estímulo (Robinson & Berridge, 2003).

³ Os autores especificam que “querer” é um processo psicológico diferente de “gostar” dado o componente hedônico envolvido em “querer”. Segundo Robinson e Berridge (2003), “querer” é um processo irracional que pode instigar e orientar um comportamento em um sujeito, sem necessariamente ter emoção consciente, desejo ou um objetivo específico.

respondentes. De acordo com os autores, “Estudos das neurociências dos efeitos de ‘gostar’, ‘querer’, e dos componentes de aprendizagem de recompensas, revelaram que estes processos psicológicos são mapeados em distintos sistemas cerebrais de recompensa, neuroquímicos e neurofisiológicos, em um grau determinado” (p. 71)⁴. Portanto, na teoria mais recente da sensibilização do incentivo, o “querer” e o “gostar” envolvem mecanismos neuronais de recompensa diferentes e não necessariamente se correspondem exclusivamente a processos operantes ou respondentes, como afirmado na teoria original. Porém, a ênfase na eliciação de respondentes como mecanismo fundamental da dependência ainda permanece.

Garcia-Mijares e Silva (2006), apontam problemas da teoria da sensibilização do incentivo no uso do termo “querer”, pois não fica claro se “querer” é um comportamento ou um estímulo, comprometendo o uso do termo como variável causal, ao ser definida pelos autores como um estímulo que ativa processos neurais associados à saliência do estímulo (Robinson & Berridge, 2003), sendo um comportamento que faz parte de um processo psicológico que causa a autoadministração da droga. Contudo, para os objetivos do presente trabalho, a teoria é relevante por enfatizar que a contingência entre a apresentação de dois estímulos (um estímulo ambiental e o efeito da droga), assim como a sensibilização dos sistemas neuronais envolvidos, são os processos básicos da dependência⁵.

Existem estudos que mostram que o sistema dopaminérgico de animais expostos intermitentemente a comida ou drogas responde exageradamente a desafios por anfetamina (i.e. a resposta desse sistema a anfetamina é sensibilizada) e que a exposição desses animais a estímulos associados a esses reforçadores produz respostas de fissura, iniciando uma cadeia de

⁴ Original em inglês: “*Affective neuroscience studies of ‘liking’, ‘wanting’, and learning components of rewards have revealed that these psychological processes map onto distinct neuroanatomical and neurochemical brain reward systems to a marked degree*”.

⁵ Existem autores que propõem que a tolerância à droga condicionada pelo ambiente seria um dos processos básicos da abstinência e fissura, que seriam desencadeadas pelas dicas ambientais (para uma revisão ver Siegel, 2005). Ainda que pareça que ambos os processos são fundamentais e complementares para explicar em dependentes a fissura eliciada pelo exposição ao ambiente, essa discussão não será abordada neste texto por não ser fundamentalmente relevante para o problema de pesquisa.

respostas que se inicia pela sua busca e finaliza no seu consumo compulsivo (Everitt & Robbins, 2005; Robinson & Berridge, 1993; Volkow, Wang, Fowler, & Telang, 2008; Wyvell & Berridge 2001). Esses estudos sugerem que, tal como proposto pela teoria do incentivo, a sensibilização é um mecanismo importante na dependência de drogas.

A despeito da teoria da sensibilização do incentivo explicar várias das questões relevantes sobre a dependência, como a passagem do uso casual ao compulsivo de droga, os mecanismos comportamentais e neurofisiológicos da procura por drogas, o uso e a recaída por estas; ela não explica como a administração passiva e repetida de uma droga de abuso no mesmo ambiente nem sempre produz autoadministração compulsiva da droga (Jacobs *et al.*, 2003), como indicam os dados que serão discutidos posteriormente. De fato, Melzack (1990) aponta que pacientes hospitalares que receberam morfina cronicamente como analgésico não desenvolvem dependência à droga, enquanto que aqueles que a autoadministram manifestam forte adicção. Note-se que nos pacientes hospitalares pode não haver a emissão de respostas operantes que tenham como consequência o efeito da morfina (contingência operante), porém, é provável que haja contingências respondentes entre os estímulos do ambiente e o efeito dessa droga. Deste modo, os pacientes hospitalares deveriam também mostrar sintomas de abstinência quando expostos aos estímulos que foram pareados com a droga. Entretanto, poderia ser argumentado que os estímulos associados com o efeito da droga, como o som da bomba de infusão, não estão presentes no ambiente habitual do paciente, portanto, ao não ter mais contato com os CSs associados com a droga depois de receber alta, não estaria exposto a estímulos que precipitassem sintomas de abstinência ou fissura. Por outro lado, existe atualmente um corpo de dados consistente que sugere que as mudanças de longo prazo no SNC ocasionadas pela administração passiva repetida de drogas (não contingente à emissão de uma resposta) é diferente da administração ativa (contingente à emissão de uma resposta), e que as mudanças produzidas pela segunda estão relacionadas a padrões compulsivos de uso de drogas.

Administração Passiva e Ativa de Drogas

Sabe-se que drogas como morfina, cocaína (COC), anfetamina (ANF) e álcool, entre outras, causam mudanças relativamente permanentes no SNC e que parte dessa neuroplasticidade está diretamente associada ao desenvolvimento de dependência após seu uso repetido (Jacobs *et al.*, 2003).

Segundo Dacher e Nugent (2011), existem duas formas pelas quais a droga ocasiona neuroplasticidade, uma resultante da ação farmacológica da droga e outra resultante dos processos comportamentais associados à administração ativa (autoadministração) da droga. Qualquer dessas formas pode ocasionar mudanças na liberação do neurotransmissor e/ou nos receptores do neurotransmissor e/ou no sinal mediado pelo receptor, o que poderia ter como consequência mudanças na plasticidade sináptica (Hyman & Malenka, 2001; Hyman, Malenka, & Nestler, 2006; Lüscher & Malenka, 2011).

Para distinguir entre os dois tipos de neuroplasticidade acima mencionados, frequentemente é usado o procedimento experimental de *autoadministração acoplada* ou *operante acoplado*, o qual consiste na conexão de ambientes experimentais, de forma que o desempenho de um sujeito determina a apresentação de estímulos e/ou esquemas para si mesmo e outro(s) sujeito(s) acoplado(s) a este (Catania, 1999). No caso específico da administração de drogas, o procedimento padrão com animais se caracteriza pelo acoplamento de pelos menos três ambientes: *contingente*, *acoplado* e *controle*. Em cada ambiente é alocado um animal. No ambiente *contingente*, a emissão de um operante (pressão de barra, focinhar, etc.) é sequenciada com a infusão da droga, ou seja, existe uma relação de contingência entre a resposta e o efeito da droga, e por esse motivo, a administração da droga é considerada “ativa” ou por autoadministração. No ambiente *acoplado*, a administração da droga é independente da resposta do sujeito alocado nele, mas contingente à resposta do animal alocado no ambiente *contingente*, portanto, recebe a mesma dose de droga no mesmo espaço tempo que o sujeito no ambiente acoplado, não existindo relação de contingência entre a resposta do animal e o efeito da droga,

portanto, é considerado que a administração da droga é “passiva” ou por heteroadministração⁶. No ambiente controle o animal é submetido a um procedimento similar ao do ambiente anterior, mas em vez de droga é infundido veículo.

Usando o procedimento acoplado, várias pesquisas têm mostrado que as mudanças comportamentais, celulares e gênicas, produzidas pela administração passiva da droga são diferentes daquelas produzidas pela autoadministração. Por exemplo, Carelli (2002) e Chang, Paris, Sawyer, Kirillov e Woodward (1996) relatam uma série de experimentos mostrando que animais que autoadministraram cocaína (COC) tiveram um aumento de disparo de um grupo de neurônios no Núcleo Accumbens (Nac) imediatamente antes do início do comportamento operante, não relacionado ao movimento motor e não observado em animais que receberam passivamente. Ainda observaram que essa atividade dos neurônios foi sensível a mudanças no esquema de reforço, especificamente, a aumentos de exigência em esquemas em FR.

Kuzmin e Johansson (1999) relataram diferenças na expressão gênica produzida pela autoadministração em relação à administração passiva, usando um procedimento de autoadministração acoplada, constatando que animais que autoadministraram COC tiveram aumento do mRNA do c-Fos⁷ na amígdala lateral e basolateral, enquanto que os animais que receberam COC passivamente mostraram uma diminuição no mRNA desse gene de resposta imediata (*immediate-early gene* - IEG) nessas mesmas áreas. Além disso, sujeitos de ambos os ambientes (contingente e acoplado) mostraram aumento de expressão de c-Fos no caudado-putamen, mas não no Nac, VTA e substância negra, o que é compatível com os dados de pesquisas em que a droga foi administrada de forma aguda e não contingente (para uma revisão ver Torres & Horowitz, 1999). Experimentos posteriores confirmaram mudanças na expressão de

⁶ Não toda administração passiva é necessariamente parte de um processo respondente, pois também pode ser dada por meio de uma resposta operante (e.g. Um paciente solicita uma injeção e esta lhe é administrada). É importante aclarar que a administração passiva é referida no presente estudo em termos de uma heteroadministração dentro de um procedimento respondente.

⁷ O c-Fos é um proto-oncogene que faz parte da família dos fatores de transcrição. Este é frequentemente usado em estudos com drogas de abuso por ser um marcador indireto de atividade neuronal, sendo frequentemente expressado quando neurônios disparam o seu potencial de ação, indicando atividade recente quando este é regulado positivamente (*upregulated*) (Day, Kryskow, Nyhuis, Herlihy, & Campeau, 2008).

outros fatores de transcrição, como *factor-induced B* (NGFI-B), *adenylyl cyclase* tipo VIII (AC VIII), redução da proteína *cysteine-rich 2* (CRP2), derivação da linha de células gliais (GDNF), proteína TAT-ligante 1 (TBP-1), dentre outros, assim como mudanças em diferentes áreas do cérebro como córtex frontal, Nac, VTA, hipocampo, caudado e cerebelo em animais que receberam cocaína ou heroína contingente à sua resposta mas não em animais que a receberam passivamente (Freeman *et al.*, 2002; Jacobs *et al.*, 2002; Miguens *et al.*, 2008).

Em um experimento mais recente, Choi *et al.* (2011) demonstraram regulação da expressão de receptores AMPA no VTA de animais que autoadministraram COC, mas não nos que a receberam passivamente. É interessante destacar nesse estudo a verificação de que essas mudanças estavam funcionalmente relacionadas ao aumento do valor reforçador da COC, medido por esquemas de razão progressiva. Os autores ainda discutem dados de várias pesquisas que sugerem que os aumentos da excitação na transmissão do VTA, ocasionados pelas mudanças produzidas pela COC nos receptores AMPA, persistem por mais de três meses após a continuação da droga, o que não é observada em animais que receberam passivamente a COC.

Para o presente trabalho, é de especial interesse o estudo de Thomas, Arroyo e Everitt (2003). Neste estudo, quatro grupos de animais foram submetidos a diferentes procedimentos. Para um grupo (L-CONT), as resposta emitidas na presença de uma luz tinham como consequência uma infusão de COC; para outro (T-CONT), as respostas emitidas na presença de um tom tinham como consequência uma infusão de COC; os outros dois grupos estavam acoplados aos primeiros, um acoplado ao grupo L-CONT (L-ACOP) e outro ao grupo T-CONT (T-ACOP), recebendo o mesmo número de pareamentos luz-COC ou tom-COC, respectivamente (ver Thomas & Everitt, 2001 para detalhes do procedimento). Nos grupos que podiam autoadministrar COC em presença do CSs (luz ou tom), foi registrado o aumento da expressão de Zif268⁸ nos neurônios da VTA, Nac e núcleo basal da amígdala, mas não no hipocampo, área

⁸ A expressão do fator de transcrição Zif268 (*egr1*, *NGF1-A*, *krox24*) tem sido fortemente correlacionada com as principais formas de plasticidade sináptica (Abraham, Christie, Logan, Lawlor, & Dragunow, 1994; Cole, Saffen,

pre-límbica do CPM ou núcleo central da amígdala. Por outro lado, nos grupos que receberam as administrações de COC passivamente (acoplados) na presença dos CSs, foi registrado adicionalmente o aumento da expressão de Zif268 e dos níveis de mRNA na área Cg1 do córtex angulado anterior, regiões ventrais e laterais do córtex orbitofrontal e núcleo lateral da amígdala. Os dados obtidos neste estudo sugerem que as mudanças na expressão do gene Zif268, produzidas pela associação entre um estímulo ambiental e o efeito que a droga ocasiona, dependem da contingência operante e respondente sob a qual foi aprendida esta relação.

Em resumo, a literatura que compara as mudanças produzidas pela autoadministração de drogas com as produzidas pela heteroadministração sugere que a neuroplasticidade produzida pelas drogas de ação central é função da contingência sob a qual a droga foi administrada.

De acordo com Jacobs *et al.* (2003), a “falta de expectativa” do animal que recebe a droga passivamente e a presença desta “expectativa” no animal que autoadministra são as razões pelas quais as mudanças neurais produzidas pela droga são diferentes entre esses animais. Nas palavras dos autores, os animais que recebem a droga de forma não contingente “não formam associações estímulo-recompensa importantes durante a exposição passiva da droga” (p. 567). Essa afirmação é questionável, primeiro, por atribuir status causal à variável dependente “expectativa”, ela mesma resultante de operações ambientais. Segundo, a “expectativa” pode ocorrer mesmo no grupo Acoplado em função de sua história com essas operações: 1) os sujeitos do grupo Acoplado são colocados em caixas experimentais, sendo um ambiente novo que pode ser associado aos efeitos da droga, mesmo quando administrada passivamente. Portanto, não é possível descartar a formação de “expectativas” no grupo Acoplado. Experimentos de preferência condicionada de lugar (PCL) e de atividade motora condicionada, nos quais tradicionalmente a droga é administrada passivamente, mostram que o efeito da droga é associado ao ambiente em que esse efeito ocorre. Desse modo, poder-se-ia pensar que os

Baraban, & Worley, 1989; Wisden *et al.*, 1990), as quais podem contribuir para os mecanismos neuronais subjacentes à aprendizagem e memória (Bliss & Collingridge, 1993).

estímulos associados à caixa experimental adquirem propriedades de CSs das respostas incondicionada à droga; 2) nos casos em que o sujeito que autoadministra a droga mostra um desempenho estável, o sujeito acoplado a ele fica sob um esquema de administração da droga dependente do tempo, seja fixo ou variável. O tempo nesse caso estaria associado ao efeito da droga por um processo de condicionamento respondente. Por último, no experimento de Thomas, *et al.* (2003) descrito anteriormente, os animais dos grupos Contingente e Acoplado, que deveriam ter apresentado associações estímulo-recompensa, exibiram diferenças na neuroplasticidade produzida pelos procedimentos de treino, sugerindo que, independentemente da “expectativa”, as contingências sob as quais foram aprendidas as relações são determinantes da neuroplasticidade produzida pela droga.

Considerando os apontamentos anteriores, é pouco útil usar a falta de expectativas como explicação para as diferenças comportamentais, neurais e gênicas encontradas entre os grupos que administram ativamente a droga e os que a recebem passivamente. Poderia ser de maior proveito tentar explicar essas diferenças através das diferentes histórias que esses grupos tiveram com a droga, e que podem ser a verdadeira variável independente responsável pela expectativa, dado que no grupo que autoadministra a droga existe uma relação de contingência entre comportamento e efeito da droga, enquanto que no grupo acoplado a relação é apenas entre o ambiente e o efeito da droga.

Tendo em conta que as contingências implicadas em diferentes histórias de administração causam mudanças diferentes no SNC e que estímulos ambientais associados ao efeito de uma droga podem controlar comportamentos de busca e autoadministração desta, cabe perguntar se histórias de aprendizagem da relação estímulo-droga diferentes produziriam controles de estímulo diferentes sobre comportamentos de procura da droga. Assim, o presente estudo teve como objetivo comparar o controle adquirido por estímulos associados aos efeitos da droga através de procedimentos respondentes (condicionamento respondente) com o controle adquirido

através de estímulos associados com procedimentos operantes (treino discriminativo) sobre a resposta de procura e autoadministração de morfina.

Segundo a proposta de Robinson e Berridge (1993, 2003, 2008), que defende que na dependência o que é determinante é a relação estímulo-estímulo, poder-se-ia esperar que o efeito do PIT que se apresentaria nos animais acoplados faria com que os estímulos associados ao efeito da droga induzissem, de forma relativamente similar, o comportamento de procura e administração de drogas, independente da história de administração destes. Por outro lado, desde a perspectiva de Dacher e Nugent (2011), e com base em estudos como os de Choi *et al.* (2011), Jacobs *et al.* (2003), Kuzmin e Johansson (1999), Lüscher e Malenka (2011), Miguens *et al.* (2008) e Thomas *et al.* (2003), se esperaria o resultado oposto, pois segundo todos estes autores, dado que mudanças celulares e gênicas produzidas pela administração passiva de uma droga são diferentes daquelas produzidas pela autoadministração da mesma, sendo estas em função da contingência sob a qual a droga foi administrada, o comportamento de procura e administração de drogas deveria ser mais persistente e fortemente induzido por estímulos no ambiente dos sujeitos cuja história de administração ocorreu de forma ativa e contingente aos estímulos ambientais.

Morfina

A morfina é um agonista dos receptores opióides e faz parte da família dos opióides⁹, os analgésicos mais utilizados e eficazes para o tratamento da dor e transtornos afins (Dacher & Nugent, 2011), sendo usada amplamente no âmbito hospitalar, contudo, também possui grande potencial para produzir dependência (Christie, 2008; Craft, Stratmann, Bartok, Walpole, & King, 1999; De Vries & Shippenberg, 2002; Williams, Christie & Manzoni, 2001), caracterizada pelo seu uso indiscriminado, recaída e busca compulsiva ou *fissura* (Everitt & Robbins, 2005; Robinson & Berridge, 1993, além de produzir sintomas de abstinência na sua retirada e desenvolvimento de tolerância pelo seu uso repetido (Craft *et al.*, 1999; Frenois, Stinus, Di Blasi, Cador, & Le Moine, 2005; Williams *et al.*, 2001).

Junto a outros opióides, como o ópio e a heroína, a morfina é autoadministrada por humanos (Comer *et al.*, 2012) e animais não humanos, como ratos (Alexander, Coombs, & Hadaway, 1978; Cicero, Aylward, & Meyer 2003; Silva & Heyman, 2001), camundongos (Criswell & Ridings, 1983) e primatas não humanos (Sanchez-Ramos & Schuster, 1977).

Diferentes efeitos comportamentais podem ser atingidos usando morfina como reforçador, dependendo tanto da dose administrada como do tipo de condicionamento. Quando administrada em altas doses, pouco se pode observar do efeito da morfina no comportamento dado seu efeito farmacológico (sedativo), como reportado no estudo de Koob (1992), no qual se observa um padrão de U invertido em relação dose-respostas usando esquemas de FR baixos. Por outro lado, Goldberg e Tang (1977) reportam um efeito diretamente proporcional entre a dose de morfina e o número de respostas, usando um esquema de segunda ordem¹⁰. Estas diferenças são dadas possivelmente pelo tipo de procedimento que é utilizado nestes estudos, dado que, como sustentam Everitt e Robbins (2005), procedimentos de segunda ordem permitem mensurar os

⁹ Opióides são substâncias de origem endógena ou sintética, referindo-se de forma ampla a todos os compostos relacionados ao ópio.

¹⁰ Um esquema de segunda ordem consiste basicamente em um esquema composto, no qual uma sequência de respostas requerida de um primeiro esquema, têm como consequência a apresentação de um CS (de um pareamento prévio entre este CS e o reforçador), e posteriormente, como consequência da sequência de respostas requerida no segundo esquema, este mesmo CS e o reforçador são apresentados.

efeitos de uma droga na taxa de respostas, independentemente do efeito farmacológico acumulativo dado em esquemas de intervalos fixos, separando a análise das respostas de busca por uma droga das respostas afetadas pela administração da mesma.

Existe uma extensa literatura que demonstra que os efeitos incondicionados da morfina são facilmente condicionados a estímulos presentes no ambiente (e.g. McDonald, & Siegel, 2004; Siegel, 1988, 2001). Quando a morfina é administrada repetidamente em um ambiente determinado, esta pode causar forte sensibilização (Badiani, Oates, & Robinson, 2000), e produzir uma marcada preferência condicionada de lugar (PCL) (Reid, Marglin, Mattie, & Hubell, 1989). A morfina pode produzir efeito analgésico na presença de um SD quando associada previamente a tal SD em um procedimento respondente (Siegel, 1976; Siegel, Hinson, & Krank, 1978), mesmo depois de um período de abstinência (Hinson, Poulos, Thomas, & Cappell, 1986). Adicionalmente, fenômenos comportamentais como condicionamento sensorial (*sensory preconditioning*) e bloqueio (*bloking*) têm sido reportados depois de pareamentos com um único SD e estímulos compostos, usando procedimentos respondentes (Dafters, Hetherington, & McCartney, 1983).

As propriedades da morfina como estímulo são amplamente reportadas pela literatura e os seus atributos como reforçador e estímulo incondicionado são robustos, portanto, reproduzíveis. Estas características junto às mencionadas anteriormente fazem da morfina uma droga de abuso ideal para este estudo, e dado que os efeitos da morfina sobre a aquisição de discriminações não têm sido reportados bibliograficamente, o desenvolvimento deste estudo é de grande relevância para as áreas de abuso de drogas e controle de estímulos.

Método

Sujeitos

Foram usados 36 ratos albinos machos da cepa Wistar (12 para o Experimento 1 e 24 para o Experimento 2), experimentalmente ingênuos, com pesos entre 280 g e 320 g no início do experimento, obtidos do biotério do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Todos os sujeitos foram mantidos no biotério do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo desde o dia 21 pós-natal até o fim dos procedimentos experimentais. Os animais foram alojados em mini isoladores individuais de policarbonato transparente (*Eurostandard*® tipo II, 267 x 207 x 140 mm) com grade superior para a alimentação e permaneceram em estante ventilada (*Alesco*®) especial para manutenção de animais de laboratórios, isolada acusticamente, com controle interno de temperatura, ciclo de 12h claro/ 12h escuro (as luzes são ligadas às 17h) e com acesso *ad libitum* à água e comida durante todas as fases. Todas as sessões foram realizadas durante o ciclo escuro. O presente projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa com Animais (projeto 011.2012) e conduzido de acordo com as normas internacionais de ética para a utilização de animais de laboratório.

Caixas de condicionamento operante

Foram utilizadas caixas de condicionamento operante de fabricação *Med-Associates*® (ENV-008), de dimensões 32 x 25 x 21 cm, isoladas acusticamente. Durante as Fases 1 e 2 dos experimentos, a caixa do sujeito do grupo contingente em cada trio¹¹ teve uma roda operante (ENV-113M *MED's Response Devices*) localizada em uma das paredes, a 1 cm de altura da grade base (na esquina inferior esquerda para o Experimento 1 e no centro da parede para o Experimento 2). Durante as fases 3 e 4, a roda operante foi removida e uma barra operante (ENV-112CM *MED's Response Devices*) foi colocada na mesma parede (no canto inferior direito para o Experimento 1 e no centro para o Experimento 2), a 2 cm de altura da grade base.

¹¹ Ver procedimento experimental.

Para o Experimento 1, foi situada uma única lâmpada de 1W (luz branca) a 15 cm acima da base da grade base, na mesma parede dos operantes, localizada acima destes. Para o Experimento 2, foram situadas duas lâmpadas de 1W (luzes estímulo) a 15 cm acima da base da grade base, na mesma parede dos operantes, luz verde no canto superior direito e luz branca no canto superior esquerdo (Fig. 1).

Figura 1 - Esquema da disposição das luzes estímulo e dos operandos nas caixas operantes dos experimentos 1 e 2. A figura mostra uma visão frontal esquemática da parede interior direita das caixas operantes. No Experimento 1, os estímulos luminosos, S1 (luz branca) e S2 (ausência de luz), foram localizados na parte central superior durante todas as fases. A roda operante esteve para as fases 1 e 2 no canto inferior esquerdo e foi substituída por uma barra localizada no canto inferior direito para as fases 3 e 4. No experimento 2, para todas as fases, S1 (luz verde) foi localizado no canto superior esquerdo e S2 (luz branca) no canto superior direito. A roda operante foi localizada durante as fases 1 e 2 na parte central inferior da parede e foi substituída por uma barra para as fases 3 e 4.

O teto de acrílico transparente em cada caixa foi modificado com um orifício circular de 2 cm de diâmetro no centro para permitir a administração da droga através deste. Todas as caixas foram inseridas em cubículos individuais fechados, com ventilação interna e ruído branco para melhor isolamento de sons externos (Fig. 2). A infusão de droga foi realizada através de um sistema de injeção instalado na parte externa de cada caixa experimental. Esse sistema consiste em um suporte giratório que foi conectado por um extremo a uma bomba de infusão (*Med-*

Associates PHM-100-3.33), e por outro, conectado ao cateter colocado cirurgicamente no animal.

O funcionamento das caixas e o registro das respostas foram feitos através de um computador *IBM-PC*, com programas e interface da *Med-Associates*.

Figura 2 - Esquema da caixa operante. A figura mostra uma esquematização da distribuição do sistema de infusão integrado com a caixa operante e os seus componentes. A. Caixa de isolamento acústico. B. Exaustor. C. Caixa controladora. D. Bomba de infusão. E. Caixa operante. F. Suporte giratório. G. Teto de acrílico com orifício central. H. Parede onde foram instalados os diferentes estímulos discriminativos e operandos.

Estímulos

No Experimento 1, S1 foi uma luz branca e S2 foi a ausência desta luz branca. No Experimento 2, S1 foi uma luz verde e S2 foi a luz branca. Como consequência da emissão da resposta no esquema requerido, foi usado sulfato de morfina (Laboratório Cristália™, São Paulo, Brasil) dissolvido em veículo salina (0,9% NaCl), administrado por via endovenosa, em volume de 3,0

mg/ml, na dose de 0,75 mg/kg. A velocidade de infusão foi de aproximadamente 0,1 ml de solução por cada 3 s.

Procedimento cirúrgico

As cirurgias foram iniciadas quando os animais atingiram um peso entre 280 g e 300 g. Cada sujeito foi anestesiado com uma mescla de cetamina SYNTEC® (75 mg/kg) e xilazina SYNTEC® (9 mg/kg). Um cateter esterilizado de Dow Corning SILASTIC® (I.D. 0.020 x O.D. 0.037 in., wall 0.010 in.) foi introduzido na veia jugular direita de cada animal (Fig. 3). A parte distal do cateter foi passada sob a pele da região cervical anterior até a região cervical posterior, e exteriorizada utilizando um botão de acesso bascular Instech Labs™ (VAB95BS). Na finalização do procedimento, os animais receberam uma dose única de Pentabiótico Pequeno Porte® (benzilpenicilina benzatina, benzilpenicilina procaína, benzilpenicilina potássica sulfato de diidroestreptomicina e sulfato de estreptomicina base, Fort Dodge, Brasil, em dose 1 ml/kg) por via intramuscular, e uma dose de Banamine® (Flunixinina meglumina, Schering-Plough, em dose de 2,5 mg/kg) por via subcutânea.

Todos os locais de incisão foram desinfetados com uma solução de iodo antes e após o procedimento cirúrgico. Vinte e quatro horas após a cirurgia e diariamente durante o transcurso do experimento (antes de depois de cada sessão experimental), os cateteres foram lavados com 0,1 ml de solução de heparina Hemofol® (500 UI) e salina bacteriostática a 0,9%, posteriormente com 0,1 ml salina bacteriostática a 0.9%, e finalmente preenchidos com 0,1 ml de solução de sulfato de gentamicina Gentomicin Syntec® (120 µg/ml).

Figura 3 - Imagem ilustrativa do procedimento de cateterização de veia jugular direita. A figura 3 ilustra o procedimento cirúrgico empregado para introduzir o cateter na veia jugular direita dos animais. Uma peça de látex foi aderida ao cateter para permitir a imobilização deste por meio de uma sutura no músculo peitoral próximo da veia jugular, posterior a inserção do cateter com ajuda de uma junção de agulhas modificadas.

Procedimento Experimental

Sete dias após a cirurgia, os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos: Contingente (CONT), Acoplado (ACOP) e Veículo (VEÍC), formando trios com um sujeito de cada grupo. Os grupos ACOP e VEÍC foram acoplados ao CONT em todas as sessões durante as fases 1 e 2, de modo que cada evento experimental programado para o grupo CONT, ou produzido por consequência do responder de um sujeito deste, foi semelhante e simultâneo para os outros sujeitos do trio (dos grupos ACOP e VEÍC).

O procedimento constou de quatro fases, que serão descritas a seguir.

Fase 1. Modelagem e treino da resposta na roda operante.

A resposta de girar 90 graus uma roda operante foi modelada por quatro dias consecutivos em esquema CRF para o grupo CONT. Sempre que os sujeitos deste grupo respondessem na roda operante, uma infusão endovenosa de morfina em dose eficaz para autoadministração (0,75 mg/kg) foi administrada automaticamente por meio do cateter alocado cirurgicamente. Cada infusão esteve acompanhada pela apresentação simultânea de uma luz estímulo (S1) por 10 s (o tempo empregado pela bomba de morfina em administrar a dose foi de 3 s, acrescentando mais 7 s para um total de 10 s) nas caixas correspondentes ao trio. Este S1 foi

localizado no canto superior esquerdo em todas as caixas (acima da roda operante nas caixas dos sujeitos do grupo C).

Nesta fase, os animais dos grupos ACOP e VEÍC foram colocados em caixas operantes iguais às do grupo CONT (com a exceção da ausência da roda operante)¹², de tal forma que sempre que uma infusão de morfina foi administrada para um sujeito do grupo CONT, simultaneamente, nesse trio, foi administrada uma dose não contingente de morfina (para o sujeito do grupo ACOP) ou de solução salina (para o sujeito do grupo VEÍC). Depois do treino, em esquema CRF, os animais do grupo CONT foram expostos a sessões em esquema FR2, tendo como critério, para a finalização do esquema FR2, o desempenho estável durante duas sessões consecutivas sem aumento ou diminuição sistemática da frequência de respostas ($\pm 10\%$ de variação do número de respostas totais por sessão). Estas sessões diárias tiveram uma duração de 2 horas, podendo terminar antecipadamente para um trio se o membro do grupo CONT conseguisse atingir 20 infusões para o seu grupo.

Fase 2. Treino discriminativo em administração ativa ou passiva de morfina.

Posterior à aprendizagem de girar a roda operante, começou o treino do estímulo discriminativo. Tentativas sinalizadas por S1 e S2, com duração de 30 s foram programadas para se apresentarem de forma aleatória e simultânea em cada trio durante a sessão, de modo que aparecessem no máximo três vezes consecutivamente, sendo igual o número de apresentações e similar¹³ o tempo total de S1 e S2 em todas as sessões.

Igual ao treino com a roda operante, animais dos grupos ACOP e VEÍC foram colocados em caixas operantes iguais às do grupo CONT, apresentando simultaneamente os estímulos discriminativos para cada trio. Para os sujeitos do grupo CONT, a consequência de responder em

¹² As rodas operantes foram localizadas unicamente nas caixas dos sujeitos do grupo CONT para evitar possíveis comportamentos supersticiosos nos sujeitos dos outros grupos. Para uma revisão ver Pear (1994).

¹³ O tempo de apresentação de S1 podia variar em função do tempo de latência na resposta ou não resposta em S1, podendo diminuir parcialmente a duração de uma apresentação de S1.

esquema FR2 durante a apresentação de S1 consistiu em uma infusão imediata de morfina em um intervalo de 3 s sendo sequenciada pela tentativa seguinte. Igual à Fase 1, S1 foi estendido por 10 s desde o momento em que iniciava a administração da morfina.

Durante as tentativas de S2 (luz desligada no Experimento 1 e luz branca no Experimento 2), as respostas na roda operante não tiveram consequências programadas, mas foram registradas (assim como as respostas realizadas no intervalo de 10 s após cada infusão). As sessões diárias eram finalizadas quando 30 S1 e 30 S2 foram apresentados, ou quando atingido o critério de vinte infusões simultâneas em um trio.

No Experimento 1, o critério para determinar discriminação e dar continuidade com a Fase 3 foi a obtenção de um índice discriminativo (ID) maior ou igual a 80% de respostas em S1 durante 3 sessões consecutivas. No Experimento 2, foi a obtenção de um ID maior ou igual a 90% de respostas em S1 durante 3 sessões consecutivas.

Fase 3. Modelagem da resposta de pressão à barra.

Nesta fase as luzes estiveram sempre apagadas (i.e. S2 no Experimento 1). Os animais de todos os grupos foram modelados separadamente (sem estarem acoplados) até atingirem uma razão fixa 5 (FR1, FR2, FR3 e FR5) de pressão à barra e mostrarem um desempenho estável ($\pm 10\%$ de variação do número de respostas totais por sessão) durante duas sessões consecutivas em cada FR.

Para as sessões desta fase, os animais de todos os grupos foram colocados em caixas operantes iguais. Para cada sujeito, a resposta de pressão à barra no esquema adequado teve como consequência uma infusão endovenosa de morfina em dose eficaz para autoadministração (0,75 mg/kg, igual à fase anterior). Cada sessão finalizou quando atingido o critério de vinte infusões, ou quando completados 30 min. de sessão. Quando o desempenho de respostas foi estável durante três sessões consecutivas em FR5, procedeu-se com a Fase 4.

Fase 4. Teste de controle de estímulos sobre a resposta de autoadministração.

Nesta fase, todos os animais foram colocados em caixas operantes iguais e os estímulos discriminativos S1 e S2 foram apresentados para todos os grupos (da mesma forma que no treino discriminativo da Fase 2 para o grupo CONT) em sessões de 30 min. As respostas de pressão à barra foram registradas, mas não tiveram nenhuma consequência programada¹⁴, ou seja em condições de extinção. O critério usado para determinar extinção da resposta de pressão à barra foi determinado quando atingido 10% ou menos do número de respostas emitidas na linha base (fase anterior).

Figura 4 - Esquema da sequência experimental das fases 2, 3 e 4 dos experimentos 1 e 2. O esquema resume os procedimentos por fases. Na fase 2, foi treinada a resposta da roda operante em esquema FR2 na presença de S1, tendo como consequência a apresentação de S1 junto com a morfina para os grupos CONT e ACOP, e a apresentação de S1 junto com o veículo para o grupo VEÍC. Na fase 3, foi treinada a resposta de pressão à barra em esquema FR5 (em presença de S2, ausência de luz, no Experimento 1 ou em ausência de S1 e S2, no Experimento 2) em todos os grupos para obter uma infusão de morfina. Durante a fase 4, o composto formado por S1 e S2 foi apresentado para todos os grupos em esquema de extinção.

Análise de dados

Experimento 1. Para a Fase 2, foi analisado o desempenho dos sujeitos do grupo CONT calculando os IDs¹⁵ em cada sessão. Um ID igual ou maior a 80% durante três sessões consecutivas foi o critério estabelecido para determinar a aquisição da discriminação.

¹⁴ Usualmente é administrado um veículo no lugar da droga para as sessões de extinção, mas foi decidido não usar infusões em geral para evitar que o som produzido pela bomba de infusão funcionasse como reforçador condicionado.

¹⁵ Os IDs foram calculados dividindo o número de respostas na presença de S1 sobre o número de respostas totais de uma sessão.

Foi feita uma análise por inspeção visual das frequências de respostas por sessão das curvas de aprendizagem obtidas na Fase 3 para cada sujeito nos três grupos. Foi realizada uma comparação entre grupos utilizando o teste Kruskal-Wallis, comparando a frequência de resposta entre grupos. Quando efeitos significativos foram encontrados, foram realizados testes t-student.

Foram calculados os IDs da primeira sessão na Fase 4 de cada sujeito e comparados os grupos utilizando o teste Kruskal-Wallis. Testes t-student foram realizados quando efeitos significativos foram encontrados.

Experimento 2. Para a Fase 2, foi analisado o desempenho dos sujeitos do grupo CONT pelos IDs obtidos em cada sessão de treino.

Para a Fase 3, foi analisada a frequência de resposta de pressão à barra dos ratos de cada grupo. Especificamente, o desempenho dos grupos foi comparado utilizando uma ANOVA de um fator (grupo). Por último, para a Fase 4 foram analisados tanto a frequência de respostas de pressão à barra como os IDs. A diferença entre os grupos em relação a cada uma dessas variáveis foi analisada utilizando uma ANOVA. Quando achadas diferenças estatisticamente significativas, foram realizadas comparações *post hoc* usando o teste DHS de Tukey.

Todas as análises estatísticas foram executadas fazendo uso do software aplicativo IBM SPSS®.

Resultados e Discussão do Experimento 1

A Fase 2 foi finalizada antes que os sujeitos atingissem o critério de aquisição estabelecido (maior ou igual a 80% de respostas em S1 durante 3 sessões consecutivas). Esta decisão foi tomada tendo em conta o grande incremento no tempo dos procedimentos ocasionado por problemas técnicos (relacionados a falhas com as placas controladoras das caixas operantes) que estenderam o número de sessões diárias na Fase 1 e 2 além do programado. De acordo com pesquisas como as de Thomsen e Caine (2006), o tempo médio de vida dos animais ou o tempo

médio de correto funcionamento dos cateteres implantados é de 16 semanas aproximadamente, depois de ser realizada a cirurgia. Sendo assim, depois de 18 sessões na Fase 2 (quase 2 meses depois da cirurgia), foi tomada a decisão de prosseguir com a seguinte fase, mesmo sem que todos os sujeitos do grupo CONT tivessem atingido o critério de aquisição de ID estabelecido, dada a incerteza da duração das fases seguintes e a falta de um registro de tempo de vida e funcionamento correto dos cateteres em média no laboratório.

Fase 2

A Figura 5 mostra o ID por sessão atingido pelos animais do grupo CONT durante o treino discriminativo da Fase 2. Somente os sujeitos CONT 1 e CONT 3 atingiram o critério de ID maior ou igual a 80% de respostas em S1 durante 3 sessões consecutivas. Os sujeitos CONT 2 e CONT 4 oscilaram nos IDs atingidos e se mantiveram abaixo do critério durante as últimas três sessões da Fase 2.

Figura 5 - Índices discriminativos atingidos pelo grupo CONT do Experimento 1. O gráfico mostra os IDs atingidos pelos sujeitos do grupo CONT durante as 18 sessões que formaram a Fase 2 do Experimento 1,

sinalizando o critério de 80% de discriminação nas últimas três sessões que devia ser atingido para dar continuidade com a seguinte fase.

Como mostrado na Figura 5, o ID do sujeito CONT 1 variou de 0% a 100% durante as primeiras seis sessões da Fase 2 e depois manteve-se em 100% durante a maior parte das sessões, até o final da fase. Em geral, este sujeito mostrou uma baixa frequência de respostas (4,17 por sessão, em média) (Anexo 1); o que explica os valores altos de ID e a oscilação de 0% a 100% nas sessões 4 e 5, nas quais uma única resposta foi efetuada na presença de S2. Apesar do baixo número de respostas, seu desempenho foi estável.

O ID do sujeito CONT 2 teve uma grande variação ao longo das sessões, compreendido entre 11% e 71%, durante a Fase 2 (Figura 5). A média da frequência de respostas foi a maior entre os quatro sujeitos (36,6), porém, a frequência oscilou entre sessões sem aparente correlato com os valores de ID (Anexo 1). O ID parece ter estabilizado nas últimas quatro sessões e ficado próximo ao critério, ainda que este último não tenha sido atingido em nenhuma dessas sessões.

O ID do sujeito CONT 3 também variou consideravelmente durante o treino da Fase 2, de 100% a 20% (Figura 5). A média da frequência de respostas foi de 11,2 entre as sessões. Duas grandes quedas na discriminação foram apresentadas por este sujeito (sessões 7 e 11), mas estas não estiveram relacionadas com aumento ou diminuição da frequência (Anexo 1). Apesar da irregularidade no desempenho, pode-se observar aumento progressivo do ID a partir da sessão 10, atingindo e mantendo o critério nas últimas quatro sessões.

Ainda na Figura 5 pode ser apreciado que o ID do sujeito CONT 4 teve variações compreendidas entre 100% e 6%, sendo a média da frequência de respostas de 15,7. A queda apresentada entre as sessões 7 e 10 parece estar relacionada ao aumento da frequência de respostas durante estas sessões (Anexo 1). Os IDs aumentaram consideravelmente depois da sessão 10, e mesmo ultrapassando 80% de ID, a discriminação se manteve flutuante e não atingiu a estabilidade exigida pelo critério de três sessões consecutivas. Adicionalmente, durante as últimas três sessões, outra queda foi apresentada em relação às sessões anteriores.

Figura 6 - Probabilidade de apresentação simultânea de CS e US na Fase 2 do Experimento 1. A figura mostra a $p(US \backslash CS)$, a probabilidade de que a luz estímulo S1 e a infusão de morfina serem apresentados simultaneamente para cada trio durante as últimas três sessões da Fase 2 do Experimento 1. O erro padrão é indicado na parte superior de cada barra.

A Figura 6 ilustra a probabilidade de apresentação da infusão de morfina (US) na presença de S1 (CS), durante as últimas três sessões da Fase 2, isto é $p(US \backslash CS)$. A $p(US \backslash CS)$ variou de 0,055 a 0,166 para as últimas três sessões entre os quatro trios, apresentando uma grande variação intragrupo. Ver Anexo 2 para acessar à tabela com os valores de $p(US \backslash CS)$ durante todas as sessões da Fase 2.

Fase 3

A Figura 7 mostra a frequência de respostas na barra de todos os sujeitos, classificados por trios acoplados, em cada sessão, durante a Fase 3. Não foram observadas tendências ou diferenças entre os diferentes grupos. A análise estatística comparando as médias de frequência de resposta para esta fase utilizando o teste Kruskal-Wallis não revelou diferenças existente entre grupos (Kruskal-Wallis test: $H(2, N=12) = 2,043134$ $p = 0,3600$).

Durante esta fase foram observadas diferenças individuais nas curvas de aquisição que parecem não depender da experiência com a roda operante adquirida na Fase 2. O Trio 1 apresentou curvas de aquisição similares para os sujeitos CONT 1 e ACOP 1, e aumento na frequência de respostas durante as últimas três sessões. O Trio 2 apresentou aumentos e

diminuições nas curvas de aquisição, atingindo os pontos mais elevados na sessão 5 para todos os sujeitos e depois um aumento durante as últimas sessões. No Trio 3 se observa estabilidade durante as sessões no sujeito CONT 3. Nos sujeitos ACOP 3 e VEÍC 3, observa-se aumento inicial da frequência, seguido por uma queda na sessão 6 e por aumento nas sessões finais. Apesar do Trio 4 ter apresentado uma frequência de respostas baixa comparado com os outros trios, este atingiu a maior estabilidade entre os quatro trios.

Figura 7 – Frequência de respostas na barra durante a Fase 3 do Experimento 1. O gráfico mostra as curvas de aquisição formadas pela frequência de respostas na barra dos sujeitos de cada trio durante a Fase 3 no Experimento 1. Grupo CONT (♦), Grupo ACOP (■) e Grupo VEÍC (▲).

Fase 4

A Figura 8 mostra o ID de cada sujeito dos três grupos na primeira sessão da Fase 4. Os IDs dos animais do grupo CONT foram maiores do que dos grupos ACOP e VEÍC, com exceção do Trio 3, no qual foram iguais¹⁶. O teste Kruskal-Wallis revelou diferenças estatisticamente

¹⁶ O sujeito ACOP 3 respondeu principalmente nos primeiros 2 minutos da sessão coincidindo com apresentações consecutivas de S1, o que poderia explicar o ID elevado comparado com o resto do grupo. Portanto existe a possibilidade de que este alto ID atingido seja produto do acaso e não da discriminação de estímulos propriamente.

significativas entre os grupos ($H(2, N = 12) = 7,564912$ $p = 0,0498$). Comparações múltiplas usando testes t revelaram diferenças estatisticamente significativas entre o grupo CONT e o grupo ACOP ($T(6) = 4,282$ $p = 0,005$) e diferenças não significativas entre os grupos CONT e VEÍC ($T(6) = 2,077$ $p = 0,083$), respectivamente. Não se revelaram diferenças entre os IDs obtidos pelos grupos ACOP e VEÍC ($T(6) = 0$ $p = 1$).

Figura 8 - Índice discriminativo da primeira sessão da Fase 4 do Experimento 1. O gráfico mostra o ID dos integrantes dos quatro trios durante a primeira sessão de extinção (Fase 4). Pode-se observar que com exceção do Trio 3, os sujeitos do grupo CONT tiveram um ID maior do que os grupos ACOP e VEÍC, mantendo-se perto e inclusive ultrapassando o valor de 80% discriminação, enquanto a discriminação para os sujeitos dos outros grupos manteve-se mais perto do 50%.

Os IDs dos sujeitos do grupo CONT mantiveram estabilidade ao longo das sessões em extinção desta fase¹⁷ (Fig. 9). Por outro lado, os sujeitos dos grupos ACOP e VEÍC apresentaram IDs que oscilaram entre os extremos (entre 0% e 100%).

¹⁷ A queda do sujeito CONT 3 na sessão 5 se deve a uma frequência de zero respostas durante esta, tanto para S1 quanto para S2.

Figura 9 – Índice discriminativo durante a Fase 4 do Experimento 1. A figura mostra o ID atingido pelos sujeitos dos três grupos durante a fase de extinção (Fase 4).

A Figura 10 mostra as curvas de extinção da frequência de respostas, apresentadas em porcentagem relativa à frequência de respostas na última sessão da Fase 3¹⁸. O critério estabelecido inicialmente para determinar extinção, uma sessão com 10% ou menos das respostas obtidas na última sessão da Fase 3, foi atingido por todos os sujeitos de todos os grupos. Os animais dos Trios 2 e 3 mostraram desempenhos esperados, típicos de um procedimento de extinção (e.g. Catania, 1999), aumentando a frequência de respostas em relação à última sessão da Fase 3, e diminuindo esta ao longo das sessões. Os animais nos Trios 1 e 4 (com exceção de CONT 3) mostraram desempenhos surpreendentemente baixos desde o início da fase, rara vez atingindo o valor de referência (100% de ID) na última sessão da Fase 3. Não parece ter havido relação entre grupo e resistência à extinção.

Figura 10 – Porcentagem relativa à frequência de respostas na última sessão da Fase3 do Experimento 1. O gráfico mostra as curvas de extinção em porcentagem relativa à frequência de respostas na última sessão da Fase3. Grupo CONT (♦), Grupo ACOP (■) e Grupo VEÍC (▲).

¹⁸ Para acessar o gráfico de curvas de extinção dadas pela frequência total das respostas na barra do Exp. 2 e ao gráfico de frequências de resposta na barra em S1 e S2 durante a Fase 4 do Exp. 2, ver Anexos 3 e 4, respectivamente.

Discussão

O objetivo do Experimento 1 foi comparar e analisar o controle adquirido por um estímulo associado aos efeitos da morfina sobre a resposta de busca e administração da mesma, dado um treino respondente ou operante com a mesma $p(US\backslash CS)$. Os resultados mostraram que um estímulo associado ao efeito da morfina (S1) controlou a resposta de pressão à barra dos animais que receberam treino operante, mas não dos que receberam treino respondente.

Durante a Fase 3, a resposta de apertar a barra na presença de S2 foi treinada equivocadamente. Isto significa que a morfina foi injetada tanto na presença de S1 quanto na presença de S2. Apesar disso, é interessante ter sido observado o controle de S1 unicamente sobre a resposta de pressão à barra no grupo CONT durante a Fase 4. Os resultados do Experimento 1 sustentam que o controle exercido por um estímulo sobre os comportamentos de busca e administração de morfina depende da emissão de operantes reforçados por esta droga na sua presença, e não apenas dos processos de condicionamento respondente, como sugerem alguns autores (Conklin & Tiffany, 2002; Katner, Magalong & Weiss, 1999; Robinson & Berridge, 2003; Siegel, 1983).

Observa-se que, durante a Fase 4 (teste), os IDs dos sujeitos do grupo CONT mantiveram estabilidade ao longo das sessões, enquanto que os sujeitos dos grupos ACOP e VEÍC apresentaram IDs com grande oscilação. Isto poderia ser explicado pela história específica do grupo CONT, desde as fases 1 e 2, em relação aos sujeitos dos outros grupos. Enquanto o grupo CONT recebeu um treino operante, em que sempre que receberam uma infusão de morfina contingente e na presença de S1, os grupos ACOP e VEÍC, nas primeiras duas fases do experimento, tiveram administrações passivas, por condicionamento respondente e com uma $p(US\backslash CS)$ baixa (0,073).

Em relação ao grupo ACOP, fica como incógnita se teria sido suficiente uma $p(US\backslash CS)$ de 0,073 em média durante 18 sessões (0,108 em média para as últimas três sessões, durante a Fase 2), para apresentar PIT durante a extinção na Fase 4. Um ponto que vale a pena destacar é que os

sujeitos CONT 1 e CONT 3, que foram os dois sujeitos do grupo CONT que atingiram o critério de discriminação maior ou igual a 80% de respostas em S1 durante 3 sessões consecutivas, foram os mesmos dois sujeitos que ultrapassaram um ID de 80% na Fase 4, o que poderia mostrar uma relação entre o desempenho do grupo CONT na Fase 2 e a Fase 4.

O treino equívoco da resposta de apertar a barra na presença de S2 na Fase 3, falhas nos equipamentos e uma $p(US\backslash CS)$ entre a apresentação de S1 e o efeito da morfina na Fase 1, foram inconvenientes que não só dificultaram o estabelecimento do procedimento durante o Experimento 1, mas afetaram consideravelmente o objetivo do mesmo. Portanto, foi realizado mais um experimento (Experimento 2), ajustando o procedimento experimental e tomando as precauções necessárias para reduzir as falhas nos equipamentos. Os resultados do Experimento 2 são apresentados e discutidos a seguir.

Resultados e Discussão do Experimento 2

Durante o desenvolvimento do Experimento 1, foram detectados problemas no procedimento proposto inicialmente que levantaram a necessidade de se conduzir mais um experimento, com procedimentos de treino mais efetivos para o estudo do problema de pesquisa, dado que não existia um procedimento prévio na literatura para seguir o Experimento 2. Considerando os inconvenientes apresentados durante o desenvolvimento do Experimento 1, como falhas nos equipamentos e a apresentação de S2 (luz desligada) durante o treino de resposta à barra na Fase 3, foram tomadas medidas para uma maior rigorosidade experimental, incluindo o aumento do número de sujeitos por grupo (de 4 no Experimento 1, para 8 no Experimento 2), a minimização das falhas técnicas do equipamento, mudança nos estímulos utilizados como S1 e S2 (no Experimento 1 S1 foi uma luz branca e S2 a luz branca desligada ou escuridão; no Experimento 2 S1 foi uma luz verde e S2 uma luz branca) e aumento do critério para transição da Fase 2 para a Fase 3 (no Experimento 1 o critério era 80%; no Experimento 2 era 90%). Essas mudanças serão descritas com detalhe a seguir.

Fase 2

A Figura 11 mostra o ID por sessão de cada sujeito do grupo CONT durante o treino discriminativo na Fase 2. Todos os sujeitos atingiram o critério de ID maior ou igual a 90% de respostas em S1 durante 3 sessões consecutivas. Pode-se observar uma curva de aprendizagem de forma relativamente clara nos sujeitos em geral, mostrando um incremento até atingir estabilidade durante as últimas sessões da fase.

Figura 11 – Índices discriminativos atingidos pelo grupo CONT do Experimento 2. O gráfico mostra os IDs atingidos pelos sujeitos do grupo CONT durante as sessões que formaram a Fase 2 do Experimento 2, assinalando o critério de 90% de discriminação nas últimas três sessões que devia ser atingido para dar continuidade à seguinte fase.

A Figura 12 ilustra a média da $p(US\backslash CS)$, das últimas três sessões da Fase 2. A $p(US\backslash CS)$ variou de 0,077 a 0,2 para as últimas três sessões entre os quatro trios, apresentando uma grande variação intragrupo. Ver Anexo 5 para acessar a tabela com os valores de $p(US\backslash CS)$ durante todas as sessões da Fase 2.

Figura 12 – Probabilidade de apresentação simultânea de US\CS na Fase 2 do Experimento 2. A figura mostra a $p(US\backslash CS)$, a probabilidade de que a luz estímulo S1 e a infusão de morfina foram apresentados simultaneamente para cada trio durante as últimas três sessões da Fase 2 do Experimento 2. O erro padrão é indicado na parte superior de cada barra.

Fase 3

A média da frequência de respostas na barra de cada grupo (+/- SD) durante a Fase 3 pode ser observada na Figura 13. Observa-se estabilidade da média da frequência de respostas entre sessões, aumentando tal estabilidade ao avançar a fase, até atingir o critério de estabilidade durante as últimas três sessões. Uma ANOVA de um fator foi executada para comparar a média de frequência de respostas na barra por sujeito durante esta fase entre os grupos CONT ($M = 9,738$, $SD = 3,636$), ACOP ($M = 10,659$, $SD = 5,496$) e VEÍC ($M = 9,875$, $SD = 5,149$), revelando que não houve efeito de grupo estatisticamente significativo ($F(2,21) = 0,085$, $p = 0,919$). Adicionalmente, foi executada uma ANOVA de um fator para comparar a frequência de respostas na barra da última sessão durante esta fase entre os grupos CONT ($M = 10,875$, $SD = 4,911$) e ACOP ($M = 7,125$, $SD = 2,531$) e VEÍC ($M = 11,375$, $SD = 8,568$), revelando que não houve efeito de grupo estatisticamente significativo ($F(2,21) = 0,085$, $p = 0,308$). Estes resultados sugerem que as diferentes histórias de administração de morfina não tiveram efeito na

frequência de respostas na barra durante a Fase 3¹⁹, sendo um indicador favorável para as comparações da Fase 4, dado que estas não estariam relacionadas a uma frequência diferente entre grupos proveniente da anterior.

Figura 13 - Média da frequência de respostas na barra dos grupos na Fase 3 do Experimento 2. O gráfico mostra a média e o erro padrão de respostas à barra dos grupos em cada sessão durante a Fase 3 do Experimento 2.

Fase 4

Para a primeira sessão de extinção desta fase, a Figura 14 mostra a média ($\pm$ SEM) do ID por grupo e a Figura 15 mostra o ID dos integrantes dos oito trios. Uma ANOVA de um fator foi executada para comparar o efeito do procedimento experimental nos IDs dos três grupos, revelando que existe um efeito estatisticamente significativo entre grupos ($F(2,21) = 34,526$, $p < 0,001$). Comparações *post hoc* usando o teste DHS de Tukey indicaram que o valor da média do ID do grupo CONT ($M = 0,914$, $SD = 0,062$) foi significativamente diferente ($p < 0,001$) dos valores das médias dos IDs dos grupos ACOP ($M = 0,378$, $SD = 0,297$) e VEÍC ($M = 0,413$, $SD = 0,080$). Este resultado sugere que os SDs (S1 e S2), associados ao efeito da morfina por meio de diferentes procedimentos de treino (respondente vs operante), adquiriram um controle diferente na resposta busca e autoadministração de morfina.

¹⁹ Esse resultado é sustentado pelas curvas individuais apresentadas no Anexo 6. Observa-se que as diferenças individuais nas curvas de aquisição parecem não ter sido influenciadas pela experiência na fase anterior. Na maioria dos trios, com um par de exceções, observam-se aumentos e quedas durante as sessões, até atingir estabilidade durante as últimas sessões. Não foram observadas tendências ou diferenças importantes entre os indivíduos dos diferentes grupos.

Figura 14 - Índice discriminativo da primeira sessão de extinção do Experimento 2. O gráfico mostra a média e erro padrão do ID dos grupos na Fase 4 do Experimento 2. $*p < 0,001$ (significativo comparado com grupos ACOP e VEÍC).

Figura 15 - Índice discriminativo dos grupos na Fase 4 no Experimento 2. O gráfico mostra o ID, para os três grupos, em cada sessão da Fase 4 do Experimento 2.

Os IDs dos sujeitos do grupo CONT mantiveram estabilidade durante as primeiras sessões em extinção (Fig. 16). Posteriormente, tiveram quedas e quatro dos sujeitos (Cont 2, 4, 7 e 8) atingiram um ID de 0% sequenciado por uma grande elevação no ID. O padrão cíclico se apresenta de novo com as quedas e aumentos nos mesmos dias para o grupo CONT, o que sugere que este provável ciclo foi controlado por S1. O grupo ACOP manteve, desde o início da Fase 4, um ID próximo a 50%, indicando ausência de controle por parte de S1 sobre a resposta de procura e autoadministração de morfina (Figura 17). Observam-se aumentos e quedas nos IDs

nas curvas de discriminação durante as sessões, atingindo em algumas sessões o critério de extinção, mas nunca se mantendo de forma estável. O grupo VEÍC apresenta de forma similar ao grupo ACOP, um ID de 50% nas sessões iniciais (Fig. 18). Os padrões de resposta sugerem um responder aleatório e sem controle nenhum no desempenho dos grupos ACOP e VEÍC.

Figura 16 – Índice discriminativo do grupo CONT na Fase 4 do Experimento 2. A figura mostra o ID atingido pelos sujeitos do grupo CONT durante as 10 sessões da fase de extinção (Fase 4).

Figura 17 – Índice discriminativo do grupo ACOP na Fase 4 do Experimento 2. A figura mostra o ID atingido pelos sujeitos do grupo ACOP durante as 10 sessões da fase de extinção (Fase 4).

Figura 18 – Índice discriminativo do grupo VEÍC na Fase 4 do Experimento 2. A figura mostra o ID atingido pelos sujeitos do grupo VEÍC durante as 10 sessões da fase de extinção (Fase 4).

A média ($\pm$ SEM) da frequência de respostas na barra dos grupos em cada sessão da Fase 4 pode ser observada na Figura 19. Inicialmente se apresenta uma queda leve da frequência de respostas dos grupos em geral, que aumenta conforme avançam as sessões.

Uma ANOVA de um fator foi executada para comparar o efeito dos condicionamentos respondente ou operante na frequência de respostas (totais) de pressão à barra entre grupos ($M = 14,562$, $SD = 8,496$), ACOP ($M = 12,487$, $SD = 9,387$) e VEÍC ($M = 10,787$, $SD = 6,110$), revelando que não houve efeito de grupo estatisticamente significativo ($F(2,21) = 0,434$, $p = 0,654$).

Figura 19 – Porcentagem relativa à frequência de respostas na última sessão da Fase3 do Experimento 2. O gráfico mostra as curvas de extinção em porcentagem relativa às frequências de respostas na última sessão da Fase3. Grupo CONT (♦), Grupo ACOP (■) e Grupo VEÍC (▲).

Igual ao Experimento 1, as curvas de extinção foram observadas desde uma perspectiva mais próxima, tendo em conta a porcentagem relativa à frequência de respostas na última sessão da Fase 3 (ver Anexo 7). O critério estabelecido inicialmente para determinar extinção, uma sessão com 10% ou menos das respostas efetuadas na última sessão da Fase 3, foi atingido em algumas sessões por integrantes dos três grupos, mas nunca se mantendo durante as sessões, portanto, não se declara extinção da resposta de pressão à barra em nenhum dos grupos durante as dez sessões de extinção que compuseram esta fase. O gráfico de curvas de extinção dadas pela frequência total das respostas na barra pode ser visto no Anexo 8. Para acessar os gráficos de

frequências de resposta na barra em S1 e S2, durante a Fase 4 do Exp. 2 dos grupos CONT, ACOP e VEÍC, ver Anexos 9, 10 e 11, respectivamente.

Discussão

O objetivo do Experimento 2 foi comparar e analisar o controle adquirido por um estímulo associado aos efeitos da morfina sobre a resposta de busca e administração da mesma, dado um treino respondente ou operante com a mesma $p(US\backslash CS)$, tendo em conta as considerações procedimentais a partir do Experimento 1. As falhas técnicas no equipamento foram reduzidas, o número de sujeitos por grupo foi aumentado de 4 para 8, os estímulos S1 e S2 foram trocados por uma luz verde e uma luz branca (respectivamente) e o critério de transição da Fase 2 para a Fase 3 foi aumentado de 80% para 90%. Os resultados do Experimento 2 foram semelhantes aos resultados do Experimento 1, mostrando que um estímulo associado com o efeito da morfina (S1) controlou os comportamentos de busca e administração desta droga nos animais que receberam treino operante, mas não dos que receberam treino respondente.

As diferentes histórias de administração (contingência respondente *vs* operante) afetaram a frequência de respostas de pressão à barra a presença de S1 e S2, diferenciadamente entre grupos. Dado que não existe uma diferença estatística na frequência de respostas totais entre grupos para a Fase 4 (teste), mas sem uma diferença²⁰ entre a frequência de respostas em S1 e S2, entende-se que a diferença de respostas em S1 e S2, entre grupos, não foi consequência da diferença na frequência total de respostas entre os mesmos.

Tendo em conta a diferença estatisticamente significativa (entre grupos) nos IDs atingidos durante a primeira sessão de extinção e que, adicionalmente, foi exibida uma diferença entre grupos na frequência de respostas em S1 e S2 (não dependente da frequência total de respostas durante as sessões em extinção), pode-se concluir que diferentes treinos (operante *vs*

²⁰ Como foi mencionado previamente, além de diferenças significativas para as respostas em S1 entre os grupos CONT e ACOP, e CONT e VEÍC; existem tendências próximas à significância estatística para as respostas em S2 entre os mesmos grupos.

respondente), empregando SDs associados à administração endovenosa de morfina, produzem diferenças significativas sobre a busca e a autoadministração de morfina.

As relações de contingência atingidas entre S1 e a administração de morfina nos trios durante a Fase 1 foram baixas ($p(\text{US}\backslash\text{CS})$ foi menor do que 0,2). Isto implica que, com os procedimentos e estímulos utilizados neste experimento, esta $p(\text{US}\backslash\text{CS})$ é suficiente para estabelecer controle de estímulos com um condicionamento operante, mas não com um condicionamento respondente.

Discussão Geral

Os experimentos aqui relatados foram delineados e realizados com o objetivo de analisar se o controle que os estímulos ambientais adquirem sobre comportamentos de consumo e busca por drogas (especificamente morfina neste estudo) é afetado por diferentes histórias de administração da droga. Propostas teóricas apontam que esses comportamentos são produto de relações estímulo ambiental-droga estabelecidas durante a autoadministração da droga (Bachteler *et al.*, 2005; Robinson & Berridge, 1993, 2003, 2008), mas que não dependem necessariamente desta última (i.e. poderiam ser estabelecidas por heteroadministração). Outras propostas enfatizam que a contingência operante (estímulo ambiental-resposta-droga) é o processo que estabelece o controle do estímulo ambiental, isto é, a autoadministração é o processo chave para entender o consumo abusivo e a busca por drogas (Chen *et al.* 2008; Jacobs *et al.* 2003; Kuzmin & Johansson, 1999; Melzack, 1990; Stefanski, Ladenheim, Lee, Cadet, & Goldberg, 1999). Os resultados de ambos os experimentos foram semelhantes, são discutidos conjuntamente. Estes mostraram que, mantendo constante a probabilidade da administração da droga na presença de um estímulo ambiental, apenas sob a contingência operante (treino discriminativo) o estímulo ambiental que antecedeu a administração da droga (S1) controlou os comportamentos de busca e autoadministração de morfina (mensurados como respostas de pressão na barra), apoiando, portanto, a segunda proposta.

Dacher e Nugent (2011) defendem que o consumo e a procura por drogas é dada em função de controles estabelecidos por contingências estímulo-resposta-consequência (SD-R-SR). Estudos como os de Choi *et al.* (2011), Jacobs *et al.* (2003), Kuzmin e Johansson (1999), Lüscher e Malenka (2011), Miguens *et al.* (2008) e Thomas *et al.* (2003) têm mostrado que os procedimentos de treino operante e respondente produzem diferentes mudanças celulares e gênicas no SNC, e que essas mudanças estão associadas a diferentes padrões comportamentais em relação a drogas de abuso: os comportamentos de procura e administração de drogas são mais fortemente induzidos por um estímulo associado ao efeito da droga em sujeitos cuja história de administração ocorreu de forma ativa (autoadministração), comparados com sujeitos cuja história de administração ocorreu de forma passiva (heteroadministração). Coerente com essa proposta, os resultados deste trabalho mostraram que, mesmo com apresentações similares estímulo-estímulo (S1-morfina), S1 apenas adquiriu controle sobre um operante reforçado pela droga quando foi treinado sob uma contingência operante (grupo CONT), mas não sob uma respondente (grupo ACOP).

Por outro lado, ainda que os resultados negativos mostrados pelo grupo ACOP (i.e. o treino respondente não estabeleceu controle sobre a resposta de pressão à barra reforçada por morfina) parecem rejeitar a noção de que apenas contingências estímulo-estímulo são relevantes para estabelecer o consumo e a procura pela droga, eles não são coerentes com a vasta literatura que demonstra que estímulos condicionados podem controlar operantes sem treino discriminativo prévio, fenômeno aqui já descrito e denominado como PIT (Crombag, Galarce, & Holland, 2008; Fowler *et al.*, 1973; Holland, 2004). Como será discutido a seguir, a baixa probabilidade da apresentação da morfina condicionada à apresentação de S1 ou $p(\text{morfina} \setminus \text{S1})$ no treino discriminativo da Fase 2 (e sua variabilidade poderiam explicar esse resultado).

A frequência de respostas dos animais do grupo CONT foi consideravelmente menor do que o número de tentativas de treino em S1, ocasionando valores baixos de $p(\text{morfina} \setminus \text{S1})$, chegando a valores próximos de 0 em algumas das primeiras sessões, o mesmo valor que

$p(\text{morfina}\backslash S2)$. Ainda, a $p(\text{morfina}\backslash S1)$ não era fixa de sessão a sessão pois dependia do desempenho dos ratos do grupo CONT, que foi variável nas primeiras sessões de treino, inclusive dos animais que eventualmente mostraram estabilidade do ID. De acordo com a literatura, a apresentação repetida de um estímulo sem consequências, que posteriormente será treinado como CS, interfere na aquisição do condicionamento, fenômeno denominado como Inibição Latente (IL) (Lubow, 1989; Lubow & Moore, 1959; Miller, Kaspro, & Schachtman, 1986). Considerando que os ratos do grupos ACOP foram expostos a um grande número de tentativas em S1 sem consequência alguma, especialmente nas primeiras sessões da Fase 2, é possível inferir que o treino recebido pelo o grupo ACOP criou as condições que produzem IL. Assim, mesmo depois do grupo CONT ter adquirido a discriminação e $p(\text{morfina}\backslash S1)$ ter-se mantido maior do que 0 nas últimas sessões, a pré-exposição a S1 nas primeiras sessões interferiu no seu posterior condicionamento como CS do efeito da droga no grupo ACOP.

Independentemente da causa, é aparente que o PIT não foi exibido no grupo ACOP durante a fase de extinção e, na medida que a ocorrência de PIT depende do estímulo adquirir função de CS, pode-se inferir que S1 não adquiriu propriedades de CS durante o treino da Fase 2. Esse suposto é corroborado pela semelhança de desempenho entre o grupo ACOP e o grupo VEIC na fase de extinção.

É possível que, devido às características mencionadas do treino respondente, baixa e variável $p(\text{US}\backslash \text{CS})$, especialmente nas primeiras sessões de treino, maior treino fosse necessário para estabelecer S1 como CS. Portanto, os dados obtidos aqui também sugerem que mesmo mantendo constante o tempo entre a ocorrência do CS\SD e a do US\SR, a duração dos estímulos e a $p(\text{US}\backslash \text{CS})$, treinos operantes e respondentes podem ter efeitos diferentes sobre uma mesma resposta. Assim, colaboram com outra linha de debate na área de Análise do Comportamento, a distinção operante-respondente como processos básicos diferentes. Não é propósito desta pesquisa se aprofundar nessa discussão, entretanto, vale a pena apontar como os dados desta pesquisa podem colaborar para esta.

Muitos autores behavioristas, incluindo Skinner, propuseram que os condicionamentos respondente e operante eram dois tipos diferentes de aprendizagem, cada uma com princípios e leis particulares, posição que tem sido conhecida como “Teoria dos dois processos de aprendizagem” (Rescorla 1967). Os resultados dos experimentos deste trabalho estão em consonância com estes autores e com propostas atuais (Alves, 2013), pois o estímulo S1 que antecedeu a morfina adquiriu controle sobre a resposta de pressão à barra após o procedimento de treino operante, mas não após o respondente. Essa ideia tem sido contestada por vários pesquisadores que propõem que o processo de seleção ou de aprendizagem produzido por ambos os procedimentos é o mesmo (Donahoe, Burgos, & Palmer, 1993; Donahoe & Palmer, 1994; Pear & Eldridge, 1984; Rehfeldt & Hayes, 1998; Wetherington, 1982). Se a diferença entre os desempenhos dos grupos ACOP e CONT na Fase 4 fossem explicados pelas diferentes contingências em que a relação CS-US (S1-morfina) foi treinada durante a Fase 2, então deve ser entendido que as mudanças produzidas pelos procedimentos de treino no comportamento de autoadministração na presença de S1 foram diferentes, portanto, os dados sugerem que os condicionamentos operante e respondente não diferem apenas no procedimento, mas também no processo de aprendizagem. Entretanto, outras teorias poderiam oferecer uma explicação alternativa para este resultado. Por exemplo, Shahan (2013) postula que processos de atenção e o comportamento operante têm mecanismos em comum, pois ambos são atividades dirigidas ao alvo (goal-directed activities). Na atenção há atividades em direção a um estímulo e no comportamento operante em direção a consequência. De acordo com essa teoria, a atenção é afetada pelo reforço diferencial na medida em que o estímulo que prediz um reforço adquire a capacidade de reforçar o comportamento que produz contato com o reforço. Por tanto o treino discriminativo recebido pelo grupo CONT teria afetado a atenção ao estímulo preditor de reforço (S1), fazendo este estímulo discriminativo se tornar um reforçador condicionado, dado que teve a capacidade de reforçar uma resposta operante que tinha como consequência S1, predizendo a infusão de morfina.

Os dados obtidos no Experimento 1 ainda levantam mais uma questão que precisar ser discutida: Por que o controle sobre a resposta de pressão à barra (Fase 4) foi consistente com as contingências do treino de girar a roda (Fase 2) e não com as contingências estabelecidas no treino de pressão à barra (Fase 3)? O treino da pressão à barra (Fase 3) foi realizado com o estímulo luminoso desligado (i.e. na presença de S2), portanto, a contingência entre a pressão à barra e a infusão de morfina foi estabelecida na presença de S2. Esse procedimento poderia ser considerado como uma reversão entre a relação de S2 e a infusão de morfina, dado que, durante a Fase 2, a infusão foi só contingente com S1, e nunca com S2; mas na Fase 3 a administração de morfina foi realizada na presença de S2. Assim sendo, poder-se-ia inferir que durante a Fase 4, quando S1 e S2 foram apresentados em tentativas discretas, a frequência da resposta de pressão à barra seria maior na presença de S2 do que de S1. Entretanto, os resultados mostraram que o controle estabelecido no treino inicial (Fase 2), entre os SDs (S1 e S2) e a infusão de morfina, foi transferido para a emissão da pressão à barra. O resultado é ainda mais intrigante considerando: 1) o baixo índice discriminativo durante a Fase 2 atingido pelo grupo CONT, que resultou em uma $p(US\backslash CS)$ baixa e variante para todos os grupos na Fase 3 e 2) a $p(US\backslash CS)$ na Fase 3 foi igual a 1. Contudo, como os dados mostraram, o treino da Fase 3 não foi suficiente para reverter a função de S2. A melhor explicação pode ser a diferença entre os treinos discriminativos que aconteceram nas Fases 2 e 3, que foi diferencial para a segunda, mas não para a primeira fase. A literatura indica que treinos diferenciais são mais efetivos em estabelecer controle de estímulos do que treinos não diferenciais (Terrace, 1966).

Conclusões

O presente estudo mostrou que um treino operante, mas não um treino respondente, estabeleceu controle de um S sob a resposta de busca e autoadministração de morfina, estando em concordância com a literatura que propõe os condicionamentos operante e respondente como processos diferentes e que a dependência e procura por drogas é dada em função de controles

estabelecidos por contingências estímulo-resposta-consequência. Ainda é coerente com estudos que indicam que mudanças de longa duração no SNC são produzidas diferencialmente tanto em procedimentos de treino operante e respondente quanto em procedimentos de auto e heteroadministração. Além disso, dado que foram replicados os resultados do Experimento 1 pelo Experimento 2 e a coerência entre estes, é possível afirmar que os dados obtidos são confiáveis.

Os experimentos forneceram dados valiosos para as pesquisas interessadas em entender a dependência de drogas de abuso, pois consolidam os achados sobre o modo diferencial em que a forma de administração influencia os comportamentos de autoadministração e busca por drogas. Também colaboram com pesquisas interessadas na natureza dos condicionamentos operante e respondente, apoiando a noção que estes são processos de aprendizagem diferentes.

Ainda, os resultados levantam novas possibilidades de pesquisa para estudos dos comportamentos de busca e autoadministração de drogas de abuso controlados por estímulos associados à droga durante treinos operantes ou respondentes. Futuros estudos envolvendo a combinação dos procedimentos aqui apresentados, ou similares, poderiam considerar: 1) O uso de uma droga de abuso estimulante como reforçador, no lugar de morfina, produzindo altas taxas de respostas, aumentando a $p(\text{USCS})$ durante o treino acoplado, para verificar se contingências S-S mais robustas produziram resultados diferentes aos aqui reportados; 2) Realizar treinos respondentes com diferentes $p(\text{US}\backslash\text{CS})$, para testá-los em teste de transferência, determinando a probabilidade mínima de $(\text{US}\backslash\text{CS})$ em um treino respondente necessária para a apresentação de PIT; 3) Medir separadamente a busca por droga e administração da mesma, usando uma sequência de operantes, como no estudo de LeBlanc, Ostlund e Maidment (2012), no qual os comportamentos de busca pela droga e consumo desta foram avaliados separadamente. Pressionar a primeira barra disponível permitia acesso a uma segunda barra (busca pela droga), e a resposta nesta segunda barra tinha como consequência a infusão endovenosa da droga

(consumo da droga); 4) Estender as sessões de extinção até atingir esta em todos os grupos a fim de observar a persistência destes comportamentos através das sessões com maior detalhe.

Referências

- Abraham, W. C., Christie, B. R., Logan, B., Lawlor, P., & Dragunow, M. (1994). Immediate early gene expression associated with the persistence of heterosynaptic long-term depression in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(21), 10049–10053. doi: 10.1073/pnas.91.21.10049.
- Alexander, B. K., Coombs R. B., & Hadaway, P. F. (1978). The effects of housing and gender on morphine self-administration in rats. *Psychopharmacology*, 58(2), 175–179. doi: 10.1007/BF00426903.
- Allman, M., DeLeon, I., Cataldo, M., Holland, P., & Johnson, A. (2010). Learning Processes Affecting Human Decision Making: An Assessment of Reinforcer-Selective Pavlovian-to-Instrumental Transfer Following Reinforcer Devaluation. *Animal Behavior Processes*, 36(3), 402–408. doi: 10.1037/a0017876.
- Alves, D. Z. (2013). *Análise do comportamento em neurociência: em busca de possível síntese*. Tese de doutorado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Bachteler, D., Economidou, D., Danysz, W., Ciccocioppo, R., & Spanagel, R. (2005). The effects of acamprosate and neramexane on cue-induced reinstatement of ethanol-seeking behavior in rat. *Neuropsychopharmacology*, 30(6), 1104–1110. doi: 10.1038/sj.npp.1300657.
- Badiani, A., Oates, M. M., & Robinson, T. E. (2000). Modulation of morphine sensitization in the rat by contextual stimuli. *Psychopharmacology*, 151(2-3), 273–282. doi: 10.1007/s002130000447.
- Berridge, K. C., Robinson, T. E., & Aldridge, J. W. (2009). Dissecting components of reward: ‘liking’, ‘wanting’, and learning. *Current Opinion in Pharmacology*, 9(1), 65–73. doi: 10.1016/j.coph.2008.12.014.
- Bliss, T. V. P., & Collingridge, G. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361(6407), 31–39. doi:10.1038/361031a0.

- Bray, S., Rangel, A., Shimojo, S., Balleine, B., & O'Doherty, J. P. (2008). The neural mechanisms underlying the influence of pavlovian cues on human decision making. *The Journal of Neuroscience*, 28(22), 5861–5866. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0897-08.2008.
- Carelli, R. M. (2002). Nucleus accumbens cell firing during goal-directed behaviors for cocaine vs. 'natural' reinforcement. *Physiology & Behavior*, 76(3), 379-387. DOI:10.1016/S0031-9384(02)00760-6.
- Carroll, M. E., & Comer, S.D. (1996). Animal Models of Relapse. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 4(1), 11-18. doi: 10.1037/1064-1297.4.1.11.
- Catania, A. (1999). *Aprendizagem: Comportamento, Linguagem e Cognição* (Deisy das Graças de Souza, Trad.). Porto Alegre: Artmed Editora.
- Chang, J. Y., Paris, J. M., Sawyer, S. F., Kirillov, A. B., & Woodward, D. J. (1996). Neuronal spike activity in rat nucleus accumbens during cocaine self-administration under different fixed-ratio schedules. *Neuroscience*, 74(2), 483-497. doi: 10.1016/0306-4522(96)00144-3.
- Chen, W. W., Schoeberl, B., Jasper, P. J., Niepel, M., Nielsen, U. B., Lauffenburger, D. A. et al. (2008), Input-output behavior of ErbB signaling pathways as revealed by a mass action model trained against dynamic data. *Molecular Systems Biology*, 5:239. doi: 10.1038/msb.2008.74.
- Childress, A. R., McLellan, A. T., Ehrman, R., & O'Brien, C. P. (1988). Classically conditioned responses in opioid and cocaine dependence: A role in relapse? In B. A. Ray, *Learning factors in substance abuse*. NIDA Research Monograph No. 84, pp. 44-61. Washington, DC: U.S. Government Printing Office. PMID: 3147384.
- Choi, K. H., Edwards, S., Graham, D. L., Larson, E. B., Whisler, K. N., Simmons, D., Friedman, A. K., Walsh, J. J., & Rahman, Z. (2011). Reinforcement-Related Regulation of AMPA Glutamate Receptor Subunits in the Ventral Tegmental Area Enhances Motivation for

- Cocaine. *Journal of Neuroscience*, 31(21), 7927-7937. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6014-10.2011.
- Christie, M. J. (2008). Cellular neuroadaptations to chronic opioids: tolerance, withdrawal and addiction. *British Journal of Pharmacology*, 154(2), 384-396. doi: 10.1038/bjp.2008.100.
- Ciccocioppo, R., Angeletti, S., & Weiss, F. (2001). Long-lasting resistance to extinction of response reinstatement induced by ethanol-related stimuli: role of genetic ethanol preference. *Alcoholism: Clinical & Experimental Research*, 25(10), 1414-1419. doi: 10.1111/j.1530-0277.2001.tb02141.x.
- Ciccocioppo, R., Economidou, D., Fedeli, A., Angeletti, S., Weiss, F., Heilig, M., et al. (2004). Attenuation of ethanol self-administration and of conditioned reinstatement of alcohol-seeking behaviour by the antiopioid peptide nociceptin/orphanin FQ in alcohol-preferring rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 172(2), 170-178. doi: 10.1007/s00213-003-1645-1.
- Cicero, T. J., Aylward, S. C., & Meyer, E. R. (2003). Gender differences in the intravenous self-administration of mu opiate agonists. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 74(3), 541-549. doi: 10.1016/S0091-3057(02)01039-0.
- Cole, A. J., Saffen, D. W., Baraban, J. M., & Worley, P. (1989). Rapid increase of an immediate early gene messenger RNA in hippocampal neurons by synaptic NMDA receptor activation. *Nature*, 340(6233), 474-476. doi: 10.1038/340474a0.
- Colwill, R. M., & Motzkin, D.K. (1994). Encoding of the unconditioned stimulus in Pavlovian conditioning. *Animal Learning & Behavior*, 22(4), 384-394. doi: 10.3758/BF03209158.
- Colwill, R. M., & Rescorla, R. A. (1988). Associations between the discriminative stimulus and the reinforcer in instrumental learning. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 14(2), 155-164. doi: 10.1037/0097-7403.14.2.155.
- Comer, S. D., Zacny, J. P., Dworkin, R. H., Turk, D. C., Bigelow G. E., Foltin R. W., et al. (2012). Core outcome measures for opioid abuse liability laboratory assessment studies in

- humans: IMMPACT recommendations. *Pain*, 153(12), 2315-2324. doi: 10.1016/j.pain.2012.07.035.
- Conklin, C. A., & Tiffany, S. T. (2002). Applying extinction research and theory to cue-exposure addiction treatments. *Addiction*, 97(2), 155-167. doi: 10.1046/j.1360-0443.2002.00014.x.
- Craft, R. M., Stratmann, J. A., Bartok, R. E., Walpole, T. I., & King, S. J. (1999). Sex differences in development of morphine tolerance and dependence in the rat. *Psychopharmacology*, 143(1), 1–7. doi: 10.1007/s002130050911.
- Criswell, H. E., & Ridings, A. (1983). Intravenous self-administration of morphine by naive mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 18(3), 467-470. doi: 10.1016/0091-3057(83)90471-9.
- Crombag, H. S., Galarce, E. M., & Holland, P. C. (2008). Pavlovian influences on goal-directed behavior in mice: the role of cue-reinforcer relations. *Learning & Memory*, 15(5), 299-303. doi: 10.1101/lm.762508.
- Crombag, H. S., Sutton, J. M., Takamiya, K., Holland, P. C., Gallagher, M., & Huganir, R. L. (2008). A role for alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid GluR1 phosphorylation in the modulatory effects of appetitive reward cues on goal-directed behavior. *The European Journal of Neuroscience*, 27(12), 3284–3291. doi: 10.1111/j.1460-9568.2008.06299.x.
- Dacher, M., & Nugent, F. S. (2011). Opiates and plasticity. *Neuropharmacology*, 61(7), 1088-1096. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.01.028.
- Dafters, R., Hetherington, M., & McCartney, H. (1983). Blocking and sensory preconditioning effects in morphine analgesic tolerance: Support for a pavlovian conditioning model of drug tolerance. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B: Comparative and Physiological Psychology*, 35, 1-11. doi: 10.1080/14640748308400910.

- Day, H. E., Kryskow, E. M., Nyhuis, T. J., Herlihy, L., & Campeau, S. (2008). Conditioned Fear Inhibits c-fos mRNA Expression in the Central Extended Amygdala. *Brain Research*, 1229, 137-146. doi: 10.1016/j.brainres.2008.06.085.
- De Vries, T. J., & Shippenberg, T. S. (2002). Neural systems underlying opiate addiction. *Journal of Neuroscience*, 22(9), 3321-3325. PMID: 11978806.
- Dickinson, A., & Balleine, B. (2007). The role of learning in the operation of motivational systems. In H. Pashler & R. Gallistel, *Stevens' handbook of experimental psychology: Learning, motivation and emotion* (pp. 497–534). Wiley and Sons. New York. doi: 10.1002/0471214426.pas0312.
- Donahoe, J. W., Burgos, J. E., & Palmer, D. C. (1993). A selectionist approach to reinforcement. *Journal of the experimental analysis of behavior*, 60(1), 17-40. doi: 10.1901/jeab.1993.60-17.
- Donahoe, J. W., & Palmer, D. C. (1994). *Learning and complex behavior*. Boston / London: Allyn and Bacon.
- Epstein, D. H., Preston, K. L., Stewart, J., & Shaham, Y. (2006). Toward a model of drug relapse: an assessment of the validity of the reinstatement procedure. *Psychopharmacology (Berl)*, 189(1), 1-16. doi: 10.1007/s00213-006-0529-6.
- Estes, W. K. (1948). Discriminative conditioning; effects of a Pavlovian conditioned stimulus upon a subsequently established operant response. *Journal of Experimental Psychology*, 38(2), 173–177. doi: 10.1037/h0057525.
- Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2005). Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nature Neuroscience*, 8(11), 1481–1489. doi: 10.1038/nn1579.
- Fowler, H., Fago, G., Domber, E. A. & Hochhauser, M. (1973). Signaling and affective functions in Pavlovian conditioning. *Animal Learning & Behavior*, 1 (2), 81-89. doi: 10.3758/BF03214567.

- Freeman, W. M., Brebner, K., Patel, K. M., Lynch, W. J., Roberts, D. C., & Vrana, K. E. (2002). Repeated cocaine self-administration causes multiple changes in rat frontal cortex gene expression. *Neurochemical Research*, 27(10), 1181–1192. doi: 10.1023/A:1020929526688.
- Frenois, F., Stinus, L., Di Blasi, F., Cador, M., & Le Moine, C. (2005). A specific limbic circuit underlies opiate withdrawal memories. *Journal of Neuroscience*, 25(6), 1366–1374. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3090-04.2005.
- Galarce, E. M., Crombag, H. S., & Holland, P. C. (2007). Reinforcer-Specificity of Appetitive and Consummatory Behavior of Rats After Pavlovian Conditioning with Food Reinforcers. *Physiology & Behavior*, 91(1), 95–105. doi: 10.1016/j.physbeh.2007.01.021.
- Galesi, F., Silva, M. T. A., & Garcia-Mijares, M. (2012). Análise comportamental do modelo animal de recaída ao uso de drogas cue-induced. *Acta Comportamentalia*, 20(3), 269–285.
- Garcia-Mijares, M., & Silva, M. T. A. (2006). Dependência de drogas. *Psicologia USP*, 17(4), 213–240. doi: 10.1590/S0103-65642006000400012.
- Goldberg, S. R., & Schuster, C. R. (1967). Conditioned suppression by a stimulus associated with nalorphine in morphine-dependent monkeys. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 10(3), 235–242. doi: 10.1901/jeab.1967.10-235.
- Goldberg, S. R., Spealman, R. D. & Kelleher, R. T. (1979). Enhancement of drug-seeking by environmental stimuli associated with cocaine or morphine injections. *Neuropharmacology*, 18(12), 1015–1017. doi: 10.1016/0028-3908(79)90169-2.
- Goldberg, S. R., & Tang, A. H. (1977). Behavior maintained under second-order schedules of intravenous morphine injection in squirrel and rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl)*, 51(3), 235–242. doi: 10.1007/BF00431630.
- Henton, W. W., & Brady, J. V. (1970). Operant acceleration during a pre-reward stimulus. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 13(2), 205–209. doi: 10.1901/jeab.1970.13-205.

- Hernstein, R. J., & Morse, W. H. (1957). Some effects of response-independent positive reinforcement on maintained operant behavior. *Journal of Comparative Physiological Psychology*, 50(5), 461–467. doi: 10.1037/h0041506.
- Hinson, R. E., Poulos, C. X., Thomas, W., & Cappell, H. (1986). Pavlovian conditioning and addictive behavior: Relapse to oral self-administration of morphine. *Behavioral Neuroscience*, 100(3), 368-375. doi: 10.1037/0735-7044.100.3.368.
- Hogarth, L., Dickinson, A., Wright, A., Kouvaraki, M., & Duka, T. (2007). The role of drug expectancy in the control of human drug seeking. *Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes*, 33(4), 484–496. PMID: 17924795.
- Holland, P. (2004). Relations Between Pavlovian-Instrumental Transfer and Reinforcer Devaluation. *Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes*, 30(2), 104–117. doi: 10.1037/0097-7403.30.2.104.
- Holmes, N. M., Marchand, A. R., & Coutureau, E. (2010). Pavlovian to instrumental transfer: A neurobehavioural perspective. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 34(8), 1277–1295. doi: 10.1016/j.neubiorev.2010.03.007.
- Hyde, T. & Trapold, M. A. (1967). Enhanced stimulus generalization of a food reinforced response to a CS for water. *Psychonomic Science*, 9, 513-514. doi: 10.3758/BF03327865.
- Hyman, S. E., & Malenka, R. C. (2001). Addiction and the brain: The neurobiology of compulsion and its persistence. *Nature Reviews Neuroscience*. 2, 695-703. doi: 10.1038/35094560.
- Hyman, S. E., Malenka, R. C., & Nestler, E. J. (2006). Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annual Review of Neuroscience*, 29, 565-598. doi: 10.1146/annurev.neuro.29.051605.113009.
- Jacobs, E. H., Smit, A. B., De Vries, T., J., & Schoffelmeer, A. N. (2003). Neuroadaptive effects of active versus passive drug administration in addiction research. *Trends Pharmacological Sciences*, 24(11), 566-573. doi: 10.1016/j.tips.2003.09.006.

- Jacobs, E. H., Spijker, S., Verhoog, C. W., Kamprath, K., de Vries, T. J., Smit, A. B. et al. (2002). Active heroin administration induces specific genomic responses in the nucleus accumbens shell. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 16(14), 1961–1963. doi: 10.1096/fj.02-0272fje.
- Kalivas, P. W., & O'Brien, C. (2008). Drug addiction as a pathology of staged neuroplasticity. *Neuropsychopharmacology Reviews*, 33(1), 166-180. doi: 10.1038/sj.npp.1301564.
- Kalivas, P. W., Peters, J., & Knackstedt, L. (2006). Animal models and brain circuits in drug addiction. *Molecular interventions*, 6(6), 339-344. doi: 10.1124/mi.6.6.7.
- Katner, S. N., Magalong, J. F., & Weiss, F. (1999). Reinstatement of alcohol-seeking behavior by drug-associated discriminative stimuli after prolonged extinction in the rat. *Neuropsychopharmacology*, 20(5), 471-479. doi: 10.1016/S0893-133X(98)00084-0.
- Koob, G. F. (1992). Dopamine, addiction and reward. *Seminars in Neuroscience*, 4, 139–148. doi: 10.1016/1044-5765(92)90012-Q.
- Kuzmin, A., & Johansson, B. (1999). Expression of c-Fos, NGFI-A and secretogranin II mRNA in brain regions during initiation of cocaine self-administration in mice. *European Journal of Neuroscience*, 11(10), 3694-3700. doi: 10.1046/j.1460-9568.1999.00795.x.
- LeBlanc, K. H., Ostlund, S. B., & Maidment, N. T. (2012). Pavlovian-to-instrumental transfer in cocaine seeking rats. *Behavioral Neuroscience*, 126(5), 681-689. doi: 10.1037/a0029534.
- LoLordo, V. M. (1971). Facilitation of food-reinforced responding by a signal for response-independent food. *Journal of The Experimental Analysis of Behavior*, 15(1), 49–55. doi: 10.1901/jeab.1971.15-49..
- Lovibond, P. F. (1981). Appetitive Pavlovian-Instrumental interactions: effects of inter-stimulus interval and baseline reinforcement conditions. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology. Section B: Comparative and Physiological Psychology*, 33(4), 257–269. doi: 10.1080/14640748108400811.

- Lovibond, P. F. (1983). Facilitation of instrumental behavior by a Pavlovian appetitive conditioned stimulus. *Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes*, 9(3), 225–247. doi: 10.1037/0097-7403.9.4.389.
- Lubow, R. E. (1989). *Latent Inhibition and Conditioned Attention Theory*. Cambridge. University Press. doi: 10.1017/CBO9780511529849.
- Lubow, R. E., & Moore, A. U. (1959). Latent inhibition: The effect of non-reinforced preexposure to the conditioned stimulus. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 52, 415–419. doi: 10.1037/h0046700.
- Lüscher, C., & Malenka, R. (2011). Drug-evoked synaptic plasticity in addiction: from molecular changes to circuit remodeling. *Neuron*, 69(4), 650–663. doi: 10.1016/j.neuron.2011.01.017.
- McDonald, R. V., & Siegel, S. (2004). The potential role of drug onset cues in drug dependence and withdrawal. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 12(1), 23–26. doi: 10.1037/1064-1297.12.1.23.
- Meltzer, D., & Hamm, R. J. (1974a). Conditioned enhancement as a function of schedule of reinforcement. *Bulletin of Psychonomic Society*, 3(2), 99–101. doi: 10.3758/BF03333406.
- Meltzer, D., & Hamm, R. J. (1974b). Conditioned enhancement as a function of the percentage of CS-US pairings and CS duration. *Bulletin of Psychonomic Society*, 4(5), 467–470. doi: 10.3758/BF03334258.
- Meltzer, D., & Hamm, R. J. (1978). Differential conditioning of conditioned enhancement and positive conditioned suppression. *Bulletin of Psychonomic Society*, 11(1), 29–32. doi: 10.3758/BF03336757.
- Melzack, R. (1990). The tragedy of needless pain. *Scientific American*, 262(2), 27–33. doi: 10.1038/scientificamerican0290-27.
- Miguens, M., Crespo, J. A., Del Olmo, N., Higuera-Matas, A., Montoya, G. L., Garcia-Lecumberri, C., & Ambrosio, E. (2008). Differential cocaine-induced modulation of

- glutamate and dopamine transporters after contingent and non-contingent administration. *Neuropharmacology*, 55(5), 771–779. doi: 10.1016/j.neuropharm.2008.06.042.
- Miller, R. R., Kaspro, W., & Schachtman, T. (1986). Retrieval variability: sources and consequences. *American Journal of Psychology*, 99(2), 145–218. doi: 10.2307/1422275.
- O'Brien, C. P., Childress, A. R., Ehrman, R., & Robbins, S. J. (1998). Conditioning factors in drug abuse: can they explain compulsion? *Journal of Psychopharmacology*, 12(1), 15–22. doi: 10.1177/026988119801200103.
- O'Brien, C. P., Ehrman, R. N., & Ternes, J. W. (1986). Classical conditioning in human opioid dependence. In S. R. Goldberg, & I. P. Stolerman (Eds.), *Behavioral analysis of drug dependence* (pp. 329-356). New York: Academic Press.
- Panlilio, L. V., Weiss, S. J., & Schindler, C. W. (2000). Effects of compounding drug-related stimuli: escalation of heroin self-administration. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 73, 211–224. doi: 10.1901/jeab.2000.73-211.
- Paredes-Olay, C., Abad, M. J., Gamez, M., & Rosas, J. M. (2002). Transfer of control between causal predictive judgments and instrumental responding. *Animal Learning & Behavior*, 30(3), 239–248. doi: 10.3758/BF03192833.
- Pear, J. J., & Eldridge, G. D. (1984). The operant-respondent distinction: Future directions. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 42(3), 453–467. doi: 10.1901/jeab.1984.42-453.
- Rehfeldt, R. A., & Hayes, L. J. (1998). Untrained temporal differentiation and equivalence class formation. *The Psychological Record*, 48, 481-509.
- Reid, L. D., Marglin S. H., Mattie M. E., & Hubbell C. L. (1989). Measuring morphine's capacity to establish a place preference. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 33(4), 765-775. doi: 10.1016/0091-3057(89)90468-1.
- Rescorla, R. A. (1967), Pavlovian Conditioning and Its Proper Control Procedures, *Psychological Review*, 74 (1), 71-80. doi: 10.1037/h0024109.

- Rescorla, R. A. (1985). Associationism in animal learning. In L. G. Nilsson & T. Archer (Eds.), *Perspectives in learning and memory* (pp.39-61). New Jersey: Erlbaum.
- Rescorla, R. A. (1994). Transfer of instrumental control mediated by a devalued outcome. *Animal Learning & Behavior*, 22(1), 27–33. doi: 10.3758/BF03199953.
- Rescorla, R.A. (1997). Response inhibition in extinction. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology. Section B: Comparative and Physiological Psychology*, 50(3), 238–252. doi: 10.1080/713932655.
- Rescorla, R. A. (2000). Associative changes in excitors and inhibitors differ when they are conditioned in compound. *Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes*, 26(4), 428-438. doi: 10.1037/0097-7403.26.4.428.
- Rescorla, R. A., & Solomon, R. L. (1967). Two process learning theory: Relationships between Pavlovian conditioning and instrumental learning. *Psychological Review*, 74(3), 151–182. doi: 10.1037/h0024475.
- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (1993). The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 18(3), 247-291. PMID: 8401595.
- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (2003). Addiction. *Annual Review of Psychology*, 54, 25-53. doi: 10.1146/annurev.psych.54.101601.145237.
- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (2008). Review. The incentive sensitization theory of addiction: some current issues. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 363(1507), 3137–3146. doi: 10.1098/rstb.2008.0093.
- Sanchez-Ramos. J. R., & Schuster. C. R. (1977). Second-order schedules of intravenous drug self-administration in rhesus monkeys. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 7(5), 443-450. doi: 10.1016/0091-3057(77)90212-X.

- Sanchis-Segura, C., & Spanagel, R. (2006). Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. *Addiction Biology*, 11(1), 2–38. doi: 10.1111/j.1355-6215.2006.00012.x.
- Schuster, C. R., & Woods, J. H. (1968). The conditioned reinforcing effects of stimuli associated with morphine reinforcement. *Substance Use & Misuse*, 3(1), 223–230. doi: 10.3109/10826086809042897.
- Shahan, T. A. (2013). Attention and conditioned reinforcement. In G. J. Madden, W. V. Dube, T. D. Hackenberg, G. P. Hanley, K. A. Lattal (Eds). *APA handbook of behavior analysis, Vol. 1: Methods and principles* (pp. 387-410). Whashington, DC US: American Psychological Association. doi: 10.1037/13937-017
- Siegel, S. (1976). Morphine analgesic tolerance: its situation specificity supports a Pavlovian conditioning model. *Science*, 193, 323-325. doi: 10.1126/science.935870.
- Siegel, S. (1983). Classical conditioning, drug tolerance, and drug dependence. *Research Advances in Alcohol and Drug Problems*. 7, 207-246. doi: 10.1007/978-1-4613-3626-6_6.
- Siegel, S. (1988). State dependent learning and morphine tolerance. *Behavioral Neuroscience*, 102(2), 228-232. doi: 10.1037//0735-7044.102.2.228.
- Siegel, S. (2001). Pavlovian conditioning and drug overdose: when tolerance fails. *Addiction Research and Theory*, 9(5), 503-513. doi: 10.3109/16066350109141767.
- Siegel, S. (2005). Drug tolerance, drug addiction, and drug anticipation. *Current Directions in Psychological Science*, 14, 296-300. doi: 10.1111/j.0963-7214.2005.00384.x.
- Siegel, S., Hinson, R. E., & Krank, M. D. (1978). The role of predrug signals in morphine analgesic tolerance: Support for a Pavlovian conditioning model of tolerance. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 4(2), 188-196. doi: 10.1037/0097-7403.4.2.188.

- Siegel, S., & Ramos, B. C. (2002). Applying laboratory research: drug anticipation and the treatment of drug addiction. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 10(3), 162-183. doi: 10.1037//1064-1297.10.3.162.
- Silva, M. T. A., & Heyman, G. M. (2001). Chronic morphine consumption decrease wheel running and wheel-running reinforced behavior in rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 69(1-2), 51-57. doi: 10.1016/S0091-3057(01)00498-1.
- Stefanski, R., Ladenheim, B., Lee, S.H., Cadet, J.L., & Goldberg, S.R. (1999). Neuroadaptations in the dopaminergic system after active self-administration but not after passive administration of methamphetamine. *European journal of pharmacology*, 371(2-3), 123-135. doi: 10.1016/S0014-2999(99)00094-1.
- Talmi, D., Seymour, B., Dayan, P., & Dolan, R.J. (2008). Human pavlovian-instrumental transfer. *Journal of Neuroscience*, 28(2), 360–368. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4028-07.2008.
- Thomas, K. L., Arroyo, M., & Everitt, B. J. (2003). Induction of the learning and plasticity-associated gene Zif268 following exposure to a discrete cocaine-associated stimulus. *European Journal of Neuroscience*, 17(9), 1964–1972. doi: 10.1046/j.1460-9568.2003.02617.x.
- Thomas, K. L., & Everitt, B. J. (2001). Limbic-cortical-ventral striatal activation during retrieval of discrete cocaine-associated stimulus: a cellular imaging study with gamma protein kinase C expression. *The journal of neuroscience*, 21(7), 2526-2535.
- Thomsen, M., & Caine, S. B. (2006). Intravenous Drug Self-administration in mice: practical considerations. *Behavior Genetics*, 37(1), 101-118. doi: 10.1007/s10519-006-9097-0.
- Thompson, T., & Ostlund, W. Jr. (1965). Susceptibility to readdiction as a function of the addiction and withdrawal environments. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 60(3), 388-392. doi: 10.1037/h0022588.

- Terrace, H. S. (1966) Stimulus Control. In W. K. Honig, *Operant behavior: Areas of research and application* (pp. 271-344). Apple ton-Century-Crofts. New York.
- Torres, G., & Horowitz, J. M. (1999). Drugs of abuse and brain gene expression. *Psychosomatic Medicine*, 61(5), 630-645. PMID: 10511013.
- Trapold, M. A., Gross, D. M., & Lawton, G. W. (1968). Reversal of an instrumental discrimination by classical discriminative conditioning. *Journal of Experimental Psychology*, 78 (4), 686-689. doi: 10.1037/h0026663.
- Trapold, M. A., Lawton G. W., & Dick, R. A. (1968). Transfer of training from differential classical to differential instrumental conditioning. *Journal of Experimental Psychology*, 76 (4), 568-573. doi: 10.1037/h0025709.
- Trapold, M. A., & Winkour, S. (1967). Transfer from classical conditioning and extinction to acquisition, extinction, and stimulus generalization of a positively reinforced instrumental response. *Journal of Experimental Psychology*, 73 (4), 517-525. doi: 10.1037/h0024374.
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., & Telang, F. (2008). Overlapping neuronal circuits in addiction and obesity: evidence of systems pathology. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 363(1507), 3191–3200. doi: 10.1098/rstb.2008.0107.
- Weiss, S. J., Kearns, D. N., Cohn, S. I., Schindler, C. W., & Panlilio, L. V. (2003). Stimulus control of cocaine self-administration. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 79(1), 111-135. doi: 10.1901/jeab.2003.79-111.
- Wetherington, C. L. (1982). Is adjunctive behavior a third class of behavior? *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 8(3), 329-350. doi: 10.1016/0149-7634(82)90045-8.
- Wikler, A. (1971). Some implications of conditioning theory for problems of drug abuse. *Behavioral Sciences*, 16(1), 92-97. doi: 10.1002/bs.3830160108.
- Wikler, A., & Pescor, F. T. (1967). Classical conditioning of a morphine abstinence phenomenon, reinforcement of opioid drinking behavior and "relapse" in morphine addicted rats. *Psychopharmacologia*, 10(3), 255-284. doi: 10.1007/BF00401386.

- Williams, J. T., Christie, M. J., & Manzoni, O. (2001). Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *Physiological Reviews*, 81(1), 299-343. PMID: 11152760.
- Wisen, W., Errington, M. L., Williams, S., Dunnett, S. B., Waters, C., Hitchcock, D. et al. (1990). Differential expression of immediate early genes in the hippocampus and spinal cord. *Neuron*, 4(4), 603–614. doi: 10.1016/0896-6273(90)90118-Y.
- Wyvell, C. L., & Berridge, K. C. (2001). Incentive sensitization by previous amphetamine exposure: Increased cue-triggered “wanting” for sucrose reward. *Journal of Neuroscience*, 21(19), 7831-7840. PMID: 11567074.

Anexo 1

Anexo 1 - Frequência de respostas na roda operante durante a Fase 2 do Experimento 1. O gráfico mostra as curvas de aquisição formadas pela frequência de respostas na barra dos sujeitos do grupo CONT durante a Fase 2 do Experimento 1.

Anexo 2

<i>Anexo 2 - $p(US/CS)$ das sessões da Fase 2 no Experimento 1</i>										
Trio/Sessão	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0,033	0,067	0,033	0,000	0,000	0,067	0,067	0,033	0,033	0,033
2	0,100	0,100	0,100	0,033	0,033	0,133	0,100	0,133	0,067	0,033
3	0,233	0,000	0,133	0,067	0,067	0,033	0,067	0,267	0,067	0,033
4	0,133	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,033
Trio/Sessão	11	12	13	14	15	16	17	18	Média	Desvio P.
1	0,033	0,033	0,033	0,033	0,033	0,033	0,067	0,067	0,039	0,021
2	0,067	0,033	0,133	0,067	0,367	0,100	0,233	0,167	0,111	0,085
3	0,033	0,033	0,033	0,100	0,033	0,067	0,133	0,100	0,083	0,062
4	0,100	0,033	0,133	0,133	0,167	0,067	0,167	0,100	0,059	0,064

Anexo 2 - Valores da $p(US\backslash CS)$ durante todas as sessões da Fase 2 do Experimento 1. A tabela mostra os valores da $p(US\backslash CS)$ durante todas as sessões da Fase 2 do Experimento 1. Os valores das médias aritméticas e desvios padrão são mostrados.

Anexo 3

Anexo 3 - Frequência de respostas totais na barra na Fase 4 do Experimento 1. O gráfico mostra as curvas de extinção formadas pela frequência de respostas na barra dos sujeitos de cada trio durante a Fase 4 do Experimento 1, tendo como ponto de comparação as frequências de respostas na última sessão (sessão 10) da Fase 3. Grupo CONT (♦), Grupo ACOP (■) e Grupo VEÍC (▲).

Anexo 4

Anexo 4 - Frequência de respostas na barra em S1 e S2 na Fase 4 do Experimento 1. O gráfico mostra as curvas de extinção formadas pela frequência de respostas na barra em S1 e S2 dos sujeitos de cada trio durante a Fase 4 do Experimento 1.

Anexo 5

<i>Anexo 5 - p(US/CS) das sessões da Fase 2 no Experimento 2</i>																
Trio/Sessão	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Média	Desvio P.
1	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,167	0,100	0,133	0,133	0,133	0,033	0,100			0,150	0,054
2	0,067	0,067	0,133	0,067	0,033	0,233	0,167	0,067	0,167	0,067	0,100	0,100			0,106	0,058
3	0,067	0,100	0,100	0,100	0,067	0,067	0,100	0,100	0,133	0,100	0,067	0,067			0,089	0,022
4	0,133	0,167	0,167	0,100	0,133	0,133	0,167	0,133	0,100	0,100	0,100	0,067			0,125	0,032
5	0,200	0,167	0,200	0,133	0,067	0,067	0,167	0,167	0,300	0,100	0,167	0,233	0,233	0,133	0,167	0,065
6	0,133	0,267	0,233	0,200	0,167	0,133	0,133	0,200	0,267	0,233	0,233	0,067	0,100	0,133	0,179	0,064
7	0,167	0,033	0,100	0,200	0,100	0,033	0,100	0,167	0,033	0,167	0,067	0,200	0,100	0,033	0,107	0,063
8	0,100	0,133	0,100	0,067	0,100	0,067	0,067	0,067	0,067	0,167	0,067	0,067	0,133	0,067	0,090	0,033

Anexo 5 – Valores da p(US\CS) durante todas as sessões da Fase 2 do Experimento 2. A tabela mostra os valores de p(US\CS) durante as 12 ou 14 sessões desta fase, assim como os valores das médias aritméticas e dos desvios padrão. O número de sessões difere devido a uma diferença de dois dias entre a primeira metade do grupo CONT em atingir o critério de discriminação em relação à segunda metade do grupo.

Anexo 6

Anexo 6 – Frequência de respostas na barra durante a Fase 3 do Experimento 2. O gráfico mostra as curvas de aquisição formadas pela frequência de respostas na barra dos sujeitos de cada trio durante a Fase 3 do Experimento 2. Grupo CONT (♦), Grupo ACOP (■) e Grupo VEÍC (▲).

Anexo 7

Anexo 7 – Porcentagem relativa à frequência de respostas na última sessão da Fase3 do Experimento 2. O gráfico as curvas de extinção em porcentagem relativa às frequências de respostas na última sessão da Fase3. Grupo CONT (♦), Grupo ACOP (■) e Grupo VEÍC (▲).

Anexo 8

Anexo 8 – Frequência de respostas totais na barra na Fase 4 do Experimento 2. O gráfico mostra as curvas de aquisição formadas pela frequência de respostas na barra dos sujeitos de cada trio durante a Fase 4 do Experimento 2, tendo como ponto de comparação as frequências de respostas na última sessão (sessão 11) da Fase 3. Grupo CONT (♦), Grupo ACOP (■) e Grupo VEÍC (▲).

Anexo 9

Anexo 9 – Frequência de respostas na barra em S1 e S2 do grupo CONT na Fase 4 do Experimento 2. O gráfico mostra as curvas de extinção formadas pela frequência de respostas na barra em S1 e S2 dos sujeitos do grupo CONT durante a Fase 4 do Experimento 2.

Anexo 10

Anexo 10 – Frequência de respostas na barra em S1 e S2 do grupo ACOP na Fase 4 do Experimento 2.O gráfico mostra as curvas de extinção formadas pela frequência de respostas na barra em S1 e S2 dos sujeitos do grupo ACOP durante a Fase 4 do Experimento 2.

Anexo 11

Anexo 11 - Frequência de respostas na barra em S1 e S2 do grupo VEÍC na Fase 4 do Experimento 2. O gráfico mostra as curvas de extinção formadas pela frequência de respostas na barra em S1 e S2 dos sujeitos do grupo VEÍC durante a Fase 4 do Experimento 2.