UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE PSICOLOGIA

Departamento de Psicologia Experimental

IMUNIZAÇÃO DO DESAMPARO APRENDIDO COM REFORÇO POSITIVO EM RATOS EM FUNÇÃO DA PREVISIBILIDADE, CONTROLABILIDADE E SEXO

Tatiany Honório Porto

São Paulo
2014

TATIANY HONÓRIO PORTO

IMUNIZAÇÃO DO DESAMPARO APRENDIDO COM REFORÇO POSITIVO EM RATOS EM FUNÇÃO DA PREVISIBILIDADE, CONTROLABILIDADE E SEXO

(Versão Modificada)

Tese apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor

Área de concentração: Psicologia Experimental

Orientadora: Profª. Dra. Maria Helena Leite Hunziker

São Paulo
2014

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catalogação na publicação
Biblioteca Dante Moreira Leite
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo

Porto, Tatiany Honório
Imunização do desamparo aprendido com reforço positivo em ratos em função da previsibilidade, controlabilidade e sexo / Tatiany Honório Porto; orientadora Maria Helena Leite Hunziker. -- São Paulo, 2014.
114 f.
Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Psicologia. Área de Concentração: Psicologia Experimental) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo.

1. Desamparo aprendido 2. Imunização 3. Previsibilidade 4. Controlabilidade 5. Diferenças de sexo I. Título.

BF575.H4

Nome: Porto, Tatiany Honório

Título: Imunização do desamparo aprendido com reforço positivo em função da previsibilidade, controlabilidade e do sexo.

Tese apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Psicologia.

Aprovada em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Instituição:

Julgamento Assinatura:

Prof. Dr. Instituição:

Julgamento Assinatura:

Prof. Dr. Instituição:

Julgamento Assinatura:

Prof. Dr. Instituição:

Julgamento Assinatura:

Prof. Dr. Instituição:

Julgamento Assinatura:

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”.

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus pais Noraldino Porto e Syneide Maria Honório Porto por todo amor, apoio e por me incentivarem ao estudo, sem vocês não seria possível ser doutora.

À meu marido Mateus Nóbrega Aoki por toda ajuda, companheirismo e amor, a vida fica muito mais fácil com você.

À Tatu, grande mestre que sempre esteve presente quando eu precisei, soube dar seu apoio e sugestões quando foi necessário, mas também teve a sensibilidade que perceber quando era melhor me deixar caminhar sozinha para que eu pudesse avançar. Você é um exemplo de profissional e serei eternamente grata.

À Christina Dalla e todos seus alunos, que me apoiaram durante o doutorado sanduíche, me receberam muito bem na Grécia e me proporcionaram grandes aprendizagens na área de neurociências e diferenças de sexo.

À todo o LABC: Marcos Takashi Yamada, Tauane Paula Gehm, Angélica Yochiy, Pedro Zucollo, Carol Trousdell, Mariana Januário, Amilcar Fonseca Júnior, Bruno Strapasson, Luana Flor, Diego Zílio, Lígia Mosollino de Carvalho e Carlos Eduardo Tavares pelas sugestões, apoio e companheirismo. Um agradecimento especial ao Marcos e para a Tauane por toda ajuda durante o doutorado, vocês me ensinaram muita coisa, me ajudaram muito, obrigada por toda generosidade e carinho, foi muito divertido ter conhecido vocês.

Aos funcionários Sonia Maria Caetano por ser sempre tão solicita e me ajudar muito em todo o processo do doutorado. Marcelo e Graziela Hagihara ex e atual técnicos de laboratório, sua ajuda foi imprescindível para que eu conseguisse cumprir essa jornada.

À todos os professores do programa de Psicologia Experimental da USP, em especial à Miriam Garcia pelas ótimas discussões e por ser sempre tão querida.

À Tatiane Maldonato por me ensinar a medir e analisar o ciclo estral das fêmeas.

À Adriana Saavedra pela ajuda com a castração dos animais.

À Carolina Silva que veio para USP aprender sobre desamparo, mas posso dizer que aprendi muito com ela. Obrigada pela companhia e pela ajuda na coleta de dados.

À Liane Dahás, Ariene Coelho, Carla Suares, Talita Cunha e Fernanda Libardi, por serem mais que amigas, minhas irmãs para toda a vida. São Paulo foi muito mais fácil com vocês.

À Roberto Banaco e Maria Cristina Zago Castelli pelas ótimas contribuições durante a qualificação.

Ao Marcio Bandeira pela confecção dos programas.

Ao CNPQ e a CAPES pelo apoio financeiro.

RESUMO

Porto, T. H. (2014). Imunização do desamparo aprendido com reforço positivo em função da previsibilidade, controlabilidade e do sexo. Tese de Doutorado. Instituto de Psicologia. Universidade de São Paulo.

Estudos sobre imunização do desamparo aprendido apresentam resultados contraditórios quando utilizam estímulos apetitivos na fase de imunização. Uma análise dos procedimentos utilizados nesses estudos sugere que eles diferem no grau de controle e previsibilidade da liberação do estímulo apetitivo. Além disso, foi demonstrado que quando a previsibilidade do estímulo é manipulada ela produz efeitos dependentes do sexo do sujeito. O presente estudo teve por objetivos avaliar se: 1) a previsibilidade e a controlabilidade de estímulos apetitivos na fase de imunização são variáveis críticas para imunizar ratos contra o desamparo; 2) esses efeitos são dependentes do sexo. Em paralelo, buscou-se explorar alguns efeitos das variáveis hormonais nesses comportamentos. Um Estudo Piloto demonstrou não haver diferença quanto ao desamparo em fêmeas nas fases de estro e diestro do ciclo estral. Quanto à imunização (Experimento 1), foi utilizado reforçamento positivo combinando-se as variáveis de controle (VI e VT) e previsão (com ou sem sinal antecedendo a disponibilização do reforço), utilizando-se grupos (n=16) com ratos machos e fêmeas em igual proporção. Em seguida esses animais foram submetidos a choques incontroláveis e por fim a um teste de fuga. Outro grupo de machos e fêmeas passou apenas pelas duas últimas fases e um grupo apenas pela fase final. Os resultados mostraram que o sexo dos animais não é uma variável importante para o desamparo, mas que essa é uma variável que interfere na imunização do desamparo aprendido. Fêmeas expostas a estímulos previsíveis e controláveis na fase de imunização apresentam um comportamento muito semelhante as fêmeas e machos do Grupo não choque. Por outro lado, apenas metade dos machos expostos a estímulos apetitivos previsíveis e controláveis na fase de imunização aprenderam a resposta de fuga no teste. Esses resultados sugerem que o sexo é uma variável que precisa ser mais investigada em experimentos que estudam o comportamento. No Experimento 2 as fêmeas foram distribuídas em dois grupos (castradas e *sham*), foram retirados os ovários dos animais do primeiro grupo, responsáveis pela produção do estrógeno, hormônio que as diferencia dos machos. Após a recuperação da cirurgia os animais de ambos os grupos foram expostos ao mesmo procedimento de imunização do Grupo imprevisível e controlável do Experimento 1, o único em que foram obsevadas diferenças estatísticas entre machos e fêmeas. Os resultados mostraram aproximadamente metade das fêmeas, de ambos os grupos, aprenderam fuga apresentando latências semelhantes entre si, sugerindo que a presença ou ausência do hormônio sexual em fêmeas não foi, aparentemente, o fator determinante da diferença de gênero na imunização. Discute-se a relevância dos estudos comportamentais entre gêneros mostrando a interação de fatores ambientais com orgânicos.

Palavras chaves: desamparo aprendido, imunização, previsibilidade, controlabilidade, diferenças de sexo.

ABSTRACT

Porto, T. H. (2014). Immunization of learned helplessness with positive reinforcement as a function of predictability, controllability and sex. Doctoral Thesis. Psychology Institute. Universidade de São Paulo.

Studies on immunization against learned helplessness have different results when using appetitive stimuli during immunization. An analysis of these studies' procedures suggests that they differ in the degree of control and predictability of the release of appetitive stimulus. Furthermore, it was shown that when the predictability of the stimulus is manipulated it produces effects that depend of the subject's sex. The objective of the present study was to evaluate : 1) if the appetitive stimuli predictability and controllability during immunization are critical variables to immunize rats against learned helplessness; and if 2) these effects are sex dependent. In parallel, we explored t some effects of hormonal variables on these behaviors. A pilot study showed no difference regarding learned helplessness in estrus and diestrus phases of the estrous cycle. Concerning immunization (Experiment 1), positive reinforcement was used combining the variables of control (VI and VT) and predictability (with or without signal preceding the availability of reinforcement), using groups (n = 16) with equal proportion of male and female rats. Then these animals were subjected to uncontrollable shock and finally to an escape test. Another group with males and females was submitted only to the last two phases and a last group only to the final phase. The results showed that sex is not an important variable concerning learned helplessness, but it interferes with the immunization against learned helplessness. Females exposed to predictable and controllable stimuli during immunization showed similar behavior with females and males of Non Shock Group. On the other hand, only half of the males exposed to predictable and controllable appetitive stimuli during immunization phase learned the escape response during the test. These results suggest that sex is a variable that needs to be better investigated in behavior experiments. In Experiment 2, females were distributed into two groups (castrated and sham), the ovaries of the animals of the first group were removed, they are responsible for the estrogen production, a hormone that differentiates males from females. After recovery from surgery, both groups were exposed to the same immunization procedure of the unpredictable and controllable group from Experiment 1, the only group that statistical differences between males and females were observed. Females in both groups showed similar escape latencies suggesting that the presence or absence of sex hormone in females was apparently not the determining factor of gender difference in immunization. It is discussed the relevance of behavioral sex differences studies showing the interaction of environmental with organic factors.

Key words: learned helplessness, immunization, predictability, controllability, sex differences.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Latência média dos Grupos Estro e Diestro (gráfico superior) e dados individuais apresentados pelos sujeitos de ambos os grupos (gráficos inferiores).....30

Figura 2 - Representação esquemática do VI 30 s. Notar que apenas um reforço pode ser liberado a cada intervalo e que a contagem do intervalo transcorre independente da emissão de respostas pelo sujeito.....37

Figura 3 - Representação esquemática do VI sinalizado para o Grupo Previsível e Controlável.....39

Figura 4 - Taxa de respostas média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo IC (imprevisível e controlável).....42

Figura 5 - Taxa de respostas média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo PC (previsível e controlável).....44

Figura 6 - Registro cumulativo representativo, dos dez primeiros minutos da décima sessão, de um animal do Grupo Imprevisível e Controlável.....47

Figura 7 - Registro cumulativo representativo, dos dez primeiros minutos da décima sessão, de um animal do Grupo Previsível e Controlável.....47

Figura 8 - Respostas de pressão a barra por minuto, emitidas por fêmeas (gráfico superior) e por machos (gráfico inferior) do Grupo Previsível e Controlável, na presença e na ausência da luz.....49

Figura 9 - Índice discriminativo de fêmeas (gráfico superior) e de machos (gráfico inferior) do Grupo Previsível e Controlável em cada uma das dez sessões de exposição ao VI sinalizado.....51

Figura 10 - Número de reforços recebidos em cada sessão, por fêmeas (gráfico superior) e por machos (gráfico inferior) do Grupo Previsível e Controlável, quando a resposta foi emitida na presença e na ausência da luz.....53

Figura 11 - Latência média da resposta de pressão a barra a partir do acendimento da luza, em segundos, de fêmeas (gráfico superior) e de machos (gráfico inferior) do Grupo Previsível e Controlável.....55

Figura 12 - Taxa de respostas média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo PI (previsível e incontrolável). Os números nos gráficos inferiores correspondem a identificação dos sujeitos.....60

Figura 13 - Taxa de respostas média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo II (imprevisível e incontrolável). Os números nos gráficos inferiores correspondem a identificação dos sujeitos.....61

Figura 14 - Latência média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo Choque Incontrolável.....63

Figura 15 - Latência média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo Não Choque.....65

Figura 16 - Latência média, em segundos, da resposta de saltar, de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) dos Grupos Choque Incontrolável (I) e Não choque (N).....66

Figura 17 – Latência média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo Previsível e Controlável.....69

Figura 18 - Latência média do Grupo Imprevisível e Controlável (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de machos e fêmeas.....72

Figura 19 - Latência média do Grupo Previsível e Incontrolável (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de machos e fêmeas.....74

Figura 20 - Latência média do Grupo Imprevisível e Incontrolável (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de machos e fêmeas.....76

Figura 21 - Latências média, em segundos, da resposta de saltar de um compartimento para o outro da *shuttlebox* de fêmeas de todos os Grupos: Não choque (N), Choque incontrolável (I), Previsível e controlável (VI + luz), Previsível e incontrolável (VT + luz), Imprevisível e controlável (VI) e Imprevisível e incontrolável (VT).....78

Figura 22 - Latência média, em segundos, da resposta de saltar de um compartimento para o outro da *shuttlebox* de machos de todos os grupos: Não choque (N), Choque incontrolável (I), Previsível e controlável (VI + luz), Previsível e incontrolável (VT + luz), Imprevisível e controlável (VI) e Imprevisível e incontrolável (VT).....79

Figura 23 - Taxas médias de respostas dos grupos (gráfico superior) e individuais das (gráficos inferiores) expostas ao esquema de VI das fêmeas dos Grupos Castradas e Sham.....89

Figura 24 - Registro cumulativo representativo dos dez primeiros minutos, de uma das fêmeas, na décima sessão de exposição ao esquema de VI.....92

Figura 25 - Latência média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) das fêmeas dos Grupos Sham e Castradas.....93

Figura 26 - Figura 26. Latências médias de machos, fêmeas, fêmeas sham e fêmeas castradas expostas a imunização com estímulos imprevisíveis e controláveis.....95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo do procedimento experimental do Estudo Piloto.....28

Tabela 2 - Resumo do procedimento experimental utilizado Experimento no 1.....36

Tabela 3 – Resumo do procedimento para cada grupo do experimento 2.....87

Tabela 4 - Relação entre o peso corporal e a taxa de resposta das fêmeas dos Grupos *Sham* e Castradas.....91

Tabela 5. Taxa média de respostas, de machos e fêmeas de todos os grupos, durante as 10 sessões de exposição a estímulos apetitivos.....113

Tabela 6. Taxa média de respostas na luz e no escuro, de machos e fêmeas dos grupos PC, durante as 10 sessões de exposição a estímulos apetitivos.....113

Tabela 7. Taxa média de reforços, de machos e fêmeas de todos os grupos, durante as 10 sessões de exposição a estímulos apetitivos.....114

Tabela 8. Taxa média de reforços na luz e no escuro, de machos e fêmeas, durante as 10 sessões de exposição ao esquema de VI sinalizado.....114

SUMÁRIO

RESUMO.....viii

Introdução 1

O desamparo como um modelo animal de depressão..... 7

A imprevisibilidade dos estímulos como uma variável possivelmente relevante na produção do desamparo..... 14

Desamparo aprendido e diferenças de sexo..... 17

Estudo Piloto.....23

Método..... 26

Sujeitos..... 26

Equipamento..... 26

Procedimento..... 27

Resultados e Discussão.....29

Experimento 1.....33

Método..... 34

Sujeitos..... 34

Equipamento..... 34

Procedimento..... 35

Resultados e Discussão.....40

Considerações Adicionais.....82

Experimento 2.....84

Método..... 84

Sujeitos..... 84

Equipamento..... 84

Procedimento..... 84

Resultados e Discussão.....87

Referências..... 97

Anexos.....113

Segundo a perspectiva analítico comportamental, o comportamento de um organismo é determinado tanto pelas contingências atuais quanto pela história de interações entre o organismo e o ambiente (Skinner, 1953/2003). Os estudos sobre desamparo aprendido podem ser descritos como estudos que investigam como um tipo específico de história pode interferir no comportamento atual dos indivíduos. Para isso, cria-se experimentalmente uma história de contato com estímulos (geralmente aversivos), controláveis e/ou incontroláveis, e posteriormente testa-se a aprendizagem desses sujeitos frente a uma nova contingência aversiva. O padrão de aprendizagem desses sujeitos é comparado ao de indivíduos sem a história experimental, sendo as diferenças observadas atribuídas às particularidades dessa experiência passada, tanto no que diz respeito à aversividade quanto à possibilidade de controle do sujeito sobre os estímulos aversivos (Hunziker, 2005).

Conceitualmente, um estímulo é definido como incontrolável se tem probabilidade de ocorrência independente da emissão de respostas pelo sujeito. Inversamente, um estímulo é controlável se sua probabilidade de ocorrer difere em função do sujeito emitir determinadas repostas (Maier & Seligman, 1976). Em outras palavras, o estímulo incontrolável é não contingente às respostas do sujeito, enquanto o controlável é passível de ser modificado pela ação do sujeito, o que implica que é parte de contingências operantes.

Estudos demonstraram que organismos expostos a estímulos aversivos incontroláveis se forem posteriormente expostos a estímulos aversivos escapáveis (portanto, controláveis), apresentam dificuldade em aprender uma resposta de fuga e/ou de esquiva. O mesmo não se observa, contudo, se a primeira experiência for com estímulos aversivos controláveis. Essa dificuldade de aprendizagem, que se dá em

função da exposição prévia a estímulos aversivos incontroláveis, foi chamada de "desamparo aprendido" (Maier & Seligman, 1976; Peterson, Maier & Seligman, 1993).

O desamparo aprendido geralmente é estudado utilizando o delineamento de tríades, inicialmente proposto por Seligman e Maier (1967). Nesse experimento cachorros[1] foram distribuídos em três grupos: Controlável (C), Incontrolável (I) e Não choque (N). Os animais dos dois primeiros grupos permaneciam em caixas que poderiam ter o piso eletrificado concomitantemente, enquanto os do último grupo permaneciam em caixas sem eletrificação do piso. Na primeira fase, os sujeitos dos dois primeiros grupos foram presos a arreios e expostos, de tempos em tempos, a choques que poderiam ser evitados ou desligados a partir da emissão de uma resposta de pressionar um painel com o focinho pelo animal do Grupo C, não sendo modificados pelas respostas do animal do Grupo I. Assim, eles eram expostos ao mesmo número, duração e intensidade de choques, com a diferença de que apenas os animais do primeiro grupo tinham controle sobre a sua ocorrência ou duração, enquanto os animais do segundo grupo recebiam os choques independentemente das suas respostas. Os sujeitos do Grupo N não foram expostos a manipulações experimentais nessa fase. Posteriormente, todos os animais foram submetidos a um procedimento de fuga no qual a resposta exigida era saltar uma barreira. Os resultados mostram que apenas os sujeitos que não puderam controlar os choques na primeira fase (Grupo I) não aprenderam fuga na sessão final: eles apresentaram muitas falhas em evitar ou terminar o estímulo aversivo, sendo as poucas respostas de saltar emitidas com altas latências. Diferentemente, os sujeitos dos Grupos C e N aprenderam a resposta de fuga com padrão semelhante entre si, esse resultado demonstrou que a variável crítica para a

1 Na presente tese sempre que não for mencionado o sexo dos sujeitos se tratam de sujeitos machos, que é o sexo dos sujeitos utilizados na maioria das pesquisas.

determinação da dificuldade de aprendizagem da resposta de fuga não foi a exposição ao estímulo aversivo em si, mas à incontrolabilidade desse estímulo.

O desamparo aprendido tem sido obtido em diferentes espécies, tais como ratos (Maier, Albin & Testa, 1973; Seligman, Rosellini & Kozak, 1975), cachorros (Overmier & Seligman, 1967), baratas (Brown & Stroup, 1988), humanos (Peterson, Maier & Seligman, 1993), entre outras. Como diversos estudos replicaram a demonstração de que a incontrolabilidade do estímulo aversivo é o evento crítico na determinação do efeito de desamparo aprendido, posteriormente muitos estudos dispensaram a utilização do Grupo Controlável na investigação desse efeito, entre outros motivos, por questões éticas (e.g., Caldarone, George, Zachariou, Picciotto, 2000; Graeff & Hunziker, 1988; Hunziker & Lima, 2006; Jackson, Maior & Rapaport, 1978 – Experimento 1; Maier, Coon, McDaniel, Jackson & Grau, 1971 – Experimentos 1, 2 e 3; Yano & Hunziker, 2000 – Experimento 1).

Maier, Seligman e Solomon (1969) foram os primeiros autores a propor uma hipótese para explicar o desamparo aprendido. Segundo eles, a exposição a eventos incontroláveis geraria uma "expectativa" de que o controle sobre aspectos do ambiente não é possível, dificultando, posteriormente, novas aprendizagens operantes que, por definição, envolvem esse controle do sujeito sobre seu ambiente. É importante destacar que na proposição dessa hipótese (também denominada "desamparo aprendido" [2]) essa expectativa é a variável independente central para análise. Porém, o uso de eventos internos na explicação de comportamentos leva a explicações circulares e tira o foco das variáveis ambientais que os controlam. Excluindo-se a interpretação cognitivista

2 Como o termo desamparo aprendido tem sido utilizado com significados descritivo e explicativo, para efeito da clareza do texto aqui ele terá sempre a conotação de efeito comportamental, sendo explicitado quando o uso se referir a hipótese explicativa.

inerente a essa hipótese, pode-se considerar que a exposição à condição de incontrolabilidade produz uma aprendizagem de independência entre o que o indivíduo faz e o que ocorre no ambiente, aprendizagem essa que é oposta à condição subsequente de contingência operante. Logo, a reinterpretação dessa hipótese com base em uma análise funcional, é que a primeira condição estabelece uma aprendizagem oposta à do teste final, interferindo na sua ocorrência (Hunziker, 2005). [3]

Uma segunda hipótese explicativa que foi proposta para explicar o desamparo aprendido é a da inatividade aprendida, ela considera que o desamparo não é função da incontrolabilidade em si, mas sim do reforçamento acidental da inatividade motora. Na condição de incontrolabilidade o início do choque coincide com uma alta movimentação corporal reflexa eliciada pelo choque e, essa relação de contiguidade, favoreceria o estabelecimento de uma contingência acidental de punição da atividade corporal (Bracewell & Black, 1974). Por outro lado, a inatividade motora coincide com o término do choque e, novamente, a contiguidade favoreceria a criação de uma contingência acidental de reforçamento negativo (Glazer & Weiss, 1976 a, b). Segundo essa hipótese esses dois processos acidentais isoladamente ou em conjunto estariam contribuindo para a aprendizagem da inatividade motora, causando dificuldade de aprendizagem da resposta de fuga, resposta essa que exige alta atividade motora.

Dentre as duas hipóteses, a primeira descrita na presente tese é a mais aceita e difundida, apesar disso ela não tem explicado alguns dados experimentais, tais como os relatados por Santos, Gehm e Hunziker (2011). Nesse estudo, ratos foram expostos a choques incontroláveis e posteriormente submetidos a diversas sessões de fuga sucessivas, com intervalo de 24 h entre si. Os animais apresentaram dificuldade de

---

3 No presente trabalho, sempre que nos referirmos à hipótese do desamparo aprendido, será com essa conotação não cognitivista.

aprendizagem quando a resposta de fuga utilizada no teste foi a de saltar, porém esse mesmo efeito não foi observado quando a resposta de fuga utilizada foi a de focinhar. Essa diferença de resultados se deu independente da ordem de apresentação entre essas contingências de fuga, ou seja, os mesmos animais que apresentaram desamparo na condição onde a resposta de fuga era saltar aprenderam em seguida a resposta de fuga de focinhar, mas voltaram a mostrar desamparo quando novamente testados em fuga com a resposta de saltar. Se a dificuldade de aprendizagem é decorrente da história de incontrolabilidade, como é possível que um mesmo animal demonstre o efeito de desamparo frente a uma contingência de fuga, mas não frente a outra?

Em outro estudo, que apresentou resultados contrários à hipótese do desamparo, descrito por Lee e Maier (1988), ratos foram submetidos a uma sessão de choques incontroláveis seguida de uma sessão de fuga em uma *shuttlebox* aquática com ou sem sinalização da opção correta da saída do labirinto. Obteve-se que na condição em que estímulos visuais indicavam pra que lado da caixa o animal deveria nadar para sair da água (resposta de fuga), os animais com história de incontrolabilidade aprendiam essa resposta mais rapidamente do que os ratos expostos diretamente à sessão de fuga. Por outro lado, quando a contingência de fuga não era sinalizada, tanto os animais anteriormente expostos a choques incontroláveis quanto aqueles diretamente expostos à sessão de fuga apresentaram comportamentos semelhantes. Portanto, a história de incontrolabilidade produziu facilitação da aprendizagem de fuga sinalizada e não interferiu na aprendizagem sem sinalização.

Oliveira e Hunziker (no prelo) também mostraram dados incompatíveis com a hipótese do desamparo aprendido. Ratos, com história de incontrolabilidade que mostraram desamparo frente a uma contingência de fuga (resposta de saltar), aprenderam comportamento discriminativo de pressão à barra positivamente reforçado.

Quando, após essa aprendizagem foram reexpostos a contingência de fuga, mantiveram o padrão de não aprendizagem.

Segundo Hunziker e Gehm (2010) esses dados sugerem que, diferentemente do proposto pela hipótese do desamparo aprendido, a exposição a estímulos aversivos incontroláveis torna o comportamento dos indivíduos mais sensível ao controle exercido por algumas relações entre o organismo e o ambiente (tais como controle discriminativo, contiguidades entre estímulos, entre outras), facilitando ou dificultando novas aprendizagens a depender de qual aprendizagem se trata. Por exemplo, o estímulo discriminativo (Sd) teria seu controle aumentado na fuga sinalizada (Lee & Maier, 1988) e na discriminação por reforço positivo (Oliveira & Hunziker, no prelo), enquanto a contiguidade entre resposta e término do choque, que é menor na contingência de fuga com a resposta de saltar do que naquela que envolve o focinhar que requer apenas inserir o focinho em um orifício na parede, teria seus efeitos potencializados pela história de incontrolabilidade dificultando a aprendizagem da primeira, mas não da segunda conforme mostraram Santos et al. (2011) (para mais detalhes dessa interpretação ver Hunziker & Gehm, 2010). Embora aparentemente lógica essa interpretação ainda precisa ser diretamente testada.

Portanto, o que se tem replicado até o momento é o desamparo aprendido como efeito comportamental em diversos (mas não todos) arranjos experimentais, bem como a demonstração de que a incontrolabilidade é uma variável necessária (mas talvez não suficiente) para a sua ocorrência. Note-se que na maioria dos estudos sobre desamparo aprendido os choques além de incontroláveis são também imprevisíveis, apesar da previsibilidade não se tratar de uma variável comumente analisada. A previsibilidade é definida como a probabilidade de um estímulo ocorrer depois de outro, ou na ausência dele. Quando um estímulo tem igual probabilidade de ocorrência na presença e na

ausência de outro estímulo temos uma condição de imprevisibilidade, por outro lado, quanto maior for a diferença da probabilidade de ocorrência de um estímulo na presença e na ausência de outro maior é o grau de previsão dessa condição (Seligman, Maier & Solomon, 1971). Como se verá mais adiante, para alguns autores a previsibilidade pode ser tão importante quanto à incontrolabilidade no desamparo (Overmier, 1985).

O desamparo como um modelo animal de depressão

O desamparo aprendido foi proposto como um modelo animal de depressão devido alguns aspectos que se assemelham com a depressão humana, tais como a sintomatologia, a etiologia, a cura e a prevenção (Hunziker, 1993; Seligman, 1975). Como sintomas partilhados entre depressão e o desamparo temos a baixa frequência de respostas e baixa magnitude do reforço em relações anteriormente tida como reforçadoras. Quanto à etiologia, há variáveis ambientais e históricas que muitas vezes são identificadas como desencadeadoras de alguns comportamentos depressivos em humanos, dentre elas a exposição a eventos ambientais traumáticos (aversivos), especialmente se eles são impossíveis de ficarem sob controle do indivíduo. No que diz respeito à cura, especialmente a farmacoterapia tem fornecido dados de similaridades entre o desamparo e a depressão: por exemplo, a administração de imipramina, droga alopática utilizada clinicamente como antidepressivo em humanos, demonstrou evitar o desamparo aprendido em ratos quando administrada após a exposição a choques incontroláveis (Gouveia Jr, 2001; Petty & Sherman, 1979; Sherman, Sacquitine & Petty, 1982). O mesmo efeito “terapêutico” foi observado em um estudo com ratos quando uma droga homeopática antidepressiva, o *hypericum perforatum*, foi administrada após os choques incontroláveis (Batista, 2006).

Sem o uso de fármacos, a “cura” ou reversão do desamparo foi demonstrada forçando o indivíduo a experimentar uma nova condição de controle (Seligman, Maier & Geer, 1968; Seligman et al., 1975). A primeira demonstração dessa reversão do desamparo foi feita por Seligman et al. (1968). Cães foram expostos a 64 choques incontroláveis de 6mA de intensidade, sendo posteriormente submetidos a uma sessão de fuga na qual a reposta que desligava os choques era saltar uma barreira, em uma caixa de dois compartimentos (*shuttlebox*). Os animais que apresentaram forte desamparo foram selecionados para etapa seguinte, que consistiu na exposição à igual contingência de fuga, porém com o experimentador forçando a emissão da resposta: quando o choque iniciava, os experimentadores puxavam correias presas nos corpos dos animais direcionando-os a saltar a barreira. Após a exposição a algumas tentativas de fuga forçada (em média 35 tentativas), os animais passaram a emitir essa resposta de saltar a barreira sem que fosse necessária a intervenção dos experimentadores.

Porém, como vimos em Santos, Gehm e Hunziker (2011), e em Oliveira e Hunziker (no prelo), nem sempre a aprendizagem de controle reverte os efeitos do desamparo. Portanto, os procedimentos não farmacológicos de “cura” precisam ser mais bem investigados.

Quanto à prevenção do desamparo, estudos demonstram que se antes da exposição aos estímulos aversivos incontroláveis os animais forem expostos a uma condição de controle (contingência operante), o desamparo não ocorre (Anisman, Irwin, Beauchamp & Zacharko, 1983; Hunziker, Manfré & Yamada, 2006; Seligman & Maier, 1967; Seligman et al., 1975). A esse efeito deu-se o nome de “imunização”.

Seligman e Maier (1967 – Experimento 2) foram os primeiros a demonstrar a imunização ao desamparo. Cães foram expostos a 10 tentativas nas quais a resposta de saltar de um compartimento para o outro da *shuttlebox* desligava choques de 6mA. Na

ausência dessa resposta esses choques tinham a duração máxima de 30 s. Vinte e quatro horas depois os animais foram presos a arreios e expostos a uma sessão composta por 64 choques incontroláveis de 6mA, 5s de duração. E, finalmente, no terceiro dia, os animais foram expostos a 30 tentativas de fuga ou esquiva: dada a apresentação de luzes (CS) por 10 segundos antes da apresentação do choque, os animais poderiam saltar uma barreira durante a luz e evitar o choque, ou saltar durante o choque e desligá-lo. Os choques continham os mesmos parâmetros da primeira fase do experimento. Esses animais aprenderam a resposta operante no teste, com padrão semelhante aos dos animais que não tinham história com choques, sugerindo que uma primeira experiência de controle pode "imunizar" os sujeitos contra os efeitos da incontrolabilidade.

Assim como o efeito de desamparo, o efeito da imunização foi demonstrado com uma variedade de espécies: ratos (Seligman et al., 1975), cachorros (Seligman & Maier, 1967), baratas (Brown et al., 1990), humanos (Ramirez, Maldonado & Martos, 1992), entre outras. Apesar da generalidade entre espécies, alguns estudos mostram problemas de controle experimental que impedem uma conclusão inequívoca sobre os resultados obtidos. Por exemplo, foram utilizadas respostas com topografias semelhantes nas fases de imunização e teste, o que inviabiliza a análise da aprendizagem da resposta utilizada na fase de teste, fazendo com que seja possível avaliar somente a manutenção de uma resposta anteriormente aprendida (Seligman & Maier, 1967). Contudo, outros estudos controlaram essa variável e obtiveram igualmente o efeito de imunização (e.g., Hannum, Rosellini & Seligman, 1976; Hunziker, Manfré & Yamada, 2006; Kirk & Blampied, 1986; Seligman, Rosellini & Kozak, 1975; Williams & Maier, 1977; Yano & Hunziker, 2000 – Experimento 2).

A maioria dos estudos sobre imunização citados acima utilizaram choques nas diferentes fases experimentais. Porém, se a imunização é definida como uma

experiência de controle, anterior à exposição a uma condição de incontrolabilidade que preveniria o desamparo, esse efeito deveria ocorrer a partir do controle sobre qualquer estímulo, não apenas sobre os mesmos que posteriormente serão experimentados como incontroláveis (choques elétricos). Os poucos estudos que variaram os estímulos utilizados nas diferentes fases, utilizaram água contingente ao comportamento do animal na fase de pré-tratamento e choque elétrico nas fases de tratamento e teste. Esses estudos mostraram resultados contraditórios (Hunziker & Lima, 2006; Hunziker, Manfré & Yamada, 2006; Mestre & Hunziker[4], 1996).

No estudo de Mestre e Hunziker (1996) a resposta de pressão à barra foi modelada com reforçamento positivo e ratos foram expostos ao esquema de reforçamento contínuo até que emitissem 100 respostas ou ficassem 10 minutos sem pressionar a barra, o que viesse primeiro. Durante essa sessão os sujeitos emitiram, em média, 75 respostas de pressões à barra seguidas de água em CRF. Posteriormente, os ratos foram distribuídos em três grupos: Não Choque (N), Choque Escapável (C) e Choque Inescapável (I). Na segunda sessão os sujeitos do Grupo N permaneceram na caixa, durante o tempo de uma sessão, porém sem nenhuma manipulação experimental. Os sujeitos do Grupo C foram expostos a 60 choques de 1 mA, com a duração máxima de 30 s, se o animal emitisse a resposta de pressionar a barra o choque era desligado. Cada sujeito do Grupo I foi acoplado a um sujeito do Grupo C e exposto a mesma quantidade de choques que o animal do choque C, com a diferença de que nada do que eles faziam poderia desligar o choque. Na terceira sessão todos os sujeitos foram expostos a 30 choques que poderiam ser desligados caso o animal emitisse a resposta de saltar de um

4 Esse trabalho não teve como objetivo testar os efeitos da imunização do desamparo, porém contou com uma sessão de treino de pressão à barra reforçada positivamente, anterior à exposição a choques incontroláveis. Assim, essa exposição à uma experiência de controlabilidade anterior à uma experiência de incontrolabilidade permite analisar os resultados do teste à luz da imunização do desamparo.

compartimento para o outro da *shuttlebox*. A única sessão de reforçamento positivo da resposta de pressão à barra anterior a sessão de choques incontroláveis não foi suficiente para imunizar os animais do Grupo I contra o desamparo, uma vez que esses animais não aprenderam a resposta de fuga no teste, apresentando altas latências durante toda a sessão. Os animais dos Grupos C e N apresentaram latências de fuga muito semelhantes entre si, com padrão decrescente ao longo da sessão de teste.

No estudo de Hunziker e Lima (2006) ratos foram expostos a sessões de reforço positivo que variaram quanto à complexidade da contingência e número de sessões: Reforçamento contínuo (CRF - cinco sessões), Razão Fixa 6 (FR - cinco sessões), múltiplo FR6-Extinção (FR/Ext - 14 sessões). Cada sessão teve a duração de 40 minutos ou 150 reforços, o que viesse primeiro. Após esse treino com reforço positivo, os sujeitos foram expostos a uma sessão com 60 choques incontroláveis com 1mA de intensidade, 10 segundos de duração. Vinte e quatro horas depois eles foram expostos a uma sessão de fuga (com a resposta de saltar), composta por 30 choques de 1mA, com duração máxima de 10 s. Outros sujeitos, compondo o Grupo Choque Incontrolável (I), foram expostos somente a sessão de tratamento com choques incontroláveis e, posteriormente, à sessão de teste. Enquanto outros, de um terceiro grupo, foram expostos somente a última sessão de teste de fuga (Grupo Não Choque, ou N). Os resultados replicaram o desamparo aprendido na comparação entre os Grupos I e N. Em relação aos animais previamente expostos ao reforçamento positivo, os resultados variaram: os sujeitos expostos à contingência de CRF na fase de imunização tiveram desempenho relativamente semelhante ao do Grupo N. Nos demais grupos, houve resultados intermediários entre os Grupos N e I. Como os esquemas de reforço utilizados nesse estudo variavam quanto ao grau de previsão e controle da liberação dos estímulos apetitivos na fase de imunização, analisou-se que essas variáveis podem

interferir na imunização com reforçamento positivo. Ao analisar os diferentes esquemas sob essa perspectiva, pode-se apontar que a exposição ao esquema de CRF corresponde ao maior grau de previsão e controle na liberação do estímulo apetitivo em comparação aos demais esquemas, pois a cada vez que o sujeito emite uma resposta há a liberação de uma gota de água. Porém, como em Mestre e Hunziker (1996) a exposição a apenas uma sessão de CRF não produziu menores latências em comparação ao grupo exposto diretamente a choques incontroláveis, em contraposição ao estudo de Hunziker e Lima (2006) em que os animais foram expostos a cinco sessões. Pode-se sugerir que o número de sessões em que o animal é exposto na fase de imunização, juntamente com o grau de previsão e controle dos esquemas de reforçamento utilizados, podem ser variáveis relevantes para o fenômeno em estudo.

Em Hunziker, Manfré e Yamada (2006) ratos foram submetidos a 10 sessões na fase de imunização com dois procedimentos diferentes de reforçamento positivo: reforço contingente à variação (VAR) e ou à repetição (REP) de sequências de quatro respostas de pressão á barra. Os sujeitos do Grupo VAR foram expostos a três sessões em que as contingências foram, respectivamente, CRF, FR2, FR4, seguidas por 10 sessões sob um esquema de reforçamento diferencial da variação (rdf). Os sujeitos do Grupo REP foram expostos igualmente ao CRF, FR2 e FR4, porém por três sessões nas quais apenas respostas na barra da esquerda eram reforçadas. Elas foram seguidas por 10 sessões nas quais emitir quatro respostas na barra da esquerda tinha 50% de probabilidade de reforçamento. Na fase de tratamento, metade dos sujeitos de cada grupo recebeu 60 choques incontroláveis de 1 mA, com 10 s de duração. A outra metade não foi exposta a esses choques. Outro grupo de animais foi exposto apenas ao tratamento com choques incontroláveis. No teste final, todos os animais foram expostos a 60 choques com os mesmos parâmetros da fase de tratamento, com a diferença de que

eles poderiam ter sua duração abreviada caso os animais emitissem a resposta de fuga (saltar). Tanto os ratos expostos às sessões de reforçamento positivo da variação quanto da repetição aprenderam a resposta de fuga no teste com padrão semelhante ao dos animais não expostos aos choques incontroláveis. Por outro lado, os ratos expostos somente às sessões de tratamento e teste apresentaram dificuldade de aprendizagem da resposta de fuga. Esses resultados indicaram que o reforçamento positivo na primeira fase do experimento impediu o aparecimento do desamparo aprendido testado com contingências aversivas. Como esse estudo utilizou um grande número de sessões na fase de imunização, mais uma vez, os resultados sugerem que essa pode ser uma variável que possibilite a observação desse efeito quando a fase de imunização é realizada utilizando estímulos apetitivos.

Tomados em conjunto, os resultados dos estudos citados aqui, que utilizaram reforçamento positivo na fase de imunização e choque nas demais, colocam em xeque a definição tradicional da imunização do desamparo. Segundo essa definição, a experiência com eventos controláveis (de qualquer natureza) deveria imunizar os animais contra os efeitos da incontrolabilidade dos estímulos aversivos. Isso parece ser verdade apenas quando a primeira experiência de controle é com estímulos aversivos (fuga), mas quando essa experiência é com estímulos apetitivos, outras variáveis, além da história de controlabilidade, parecem influenciar a imunização dos animais. Como existem variações nos estudos citados quanto aos esquemas de reforço utilizados, envolvendo diferentes graus de controle e previsão, além de diferentes números de sessões que compunham a fase de imunização, a comparação entre eles sugere que essas variáveis podem ter interferido na imunização do desamparo, causando as diferenças entre os resultados dos estudos acima. Portanto, um dos objetivos do presente estudo

será testar a manipulação sistemática da previsibilidade e da controlabilidade em uma fase de imunização com reforçamento positivo, realizada em 10 sessões consecutivas.

A imprevisibilidade dos estímulos como uma variável possivelmente relevante na produção do desamparo aprendido

Poucos autores destacam a importância da previsibilidade argumentando que o arranjo experimental utilizado no desamparo aprendido não permite que os efeitos da incontrolabilidade e da imprevisibilidade sejam separados (Overmier, 1985).

Alguns estudos mostram que em procedimentos em que é possível que os animais escolham entre choques imprevisíveis e previsíveis, eles tendem a escolher choques previsíveis mesmo quando não é possível controlá-los, o que indica que a imprevisibilidade pode ser, em si, aversiva (Abbott & Badia, 1984; Badia & Cullbertons, 1972).

Entre os estudos que utilizaram o delineamento triádico e manipularam a previsibilidade na fase de tratamento, juntamente com a sua incontrolabilidade, está o de Bersh, Blustein, Whitehouse e Alloy (1986 – experimento 1) que demonstrou que a previsibilidade dos choques, associada à sua incontrolabilidade na fase de tratamento, dificulta ainda mais a aprendizagem dos sujeitos, produzindo altas latências da resposta de fuga no teste. Weiss (1970), também manipulou a previsibilidade dos choques e encontrou que animais expostos a estímulos incontroláveis e imprevisíveis formaram mais úlceras, aumentam o grau de corticosterona no plasma sanguíneo e variaram mais seu peso corporal (efeitos esses geralmente considerados como função da aversividade do estímulo) em comparação aos animais expostos a choques incontroláveis, porém previsíveis.

Castelli (2004) manipulou a previsibilidade dos choques nas diferentes fases do experimento (tratamento, teste ou ambas) utilizando o procedimento típico do estudo do desamparo. Por questões meramente práticas, nesse estudo foram utilizados ratos de ambos os sexos. Seus resultados demonstraram que o desamparo aprendido foi observado tanto em ratos machos como fêmeas com o procedimento padrão, quando todos os choques foram imprevisíveis, replicando dados anteriores do mesmo laboratório (Castelli, 2004; Damiani & Hunziker, 1991; Gouveia Jr., 2001; Yano & Hunziker, 2000). Porém, surpreendentemente, quando a previsibilidade foi introduzida em qualquer das fases do experimento, o desempenho diferiu entre os gêneros: os machos apresentaram o desamparo enquanto as fêmeas mostraram aprendizagem de fuga equivalente à dos animais que não foram expostos à fase de tratamento. Portanto, nesse estudo, a previsibilidade dos choques se mostrou variável crítica apenas para fêmeas, mas não para machos. Portanto, esse estudo não apenas sugere que a previsibilidade pode ser uma variável relevante na produção do desamparo, mas também que o sexo dos sujeitos também pode interagir com uma (ou mais) das variáveis ambientais responsáveis pelo desamparo.

No geral, a previsilibidade foi uma variável pouco explorada no estudo do efeito de imunização. O estudo de Vicente, Ferrándiz e Pardo (1991) foi o único encontrado que manipulou a controlabilidade e a previsibilidade nessa fase. O estudo foi composto de três fases: pré-tratamento, tratamento e teste. Os ratos machos foram distribuídos em seis grupos: 1) Imunizados com choques controláveis e previsíveis; 2) Imunizados com choques controláveis, porém imprevisíveis; 3) Imunizados com choques previsíveis, porém incontroláveis; 4) Imunizados com choques incontroláveis e imprevisíveis; 5) Grupo I – expostos somente à fase de tratamento e a fase de teste e 6) Grupo N – exposto somente ao teste de fuga. Para todos os sujeitos dos grupos expostos à fase de

imunização, essa fase foi composta de 60 tentativas de fuga ou esquiva (resposta de saltar de um compartimento ao outro da caixa) com choques de 1mA, 5 segundos de duração máxima. Para aqueles expostos a estímulos previsíveis, um estímulo sonoro de 400 Hz e com 10 segundos de duração ocorria antes dos choques. Na fase de tratamento os animais foram expostos a 60 choques incontroláveis de 1 mA de intensidade. Após essa sessão os animais foram colocados, dois dias seguidos, 30 minutos por dia na caixa, mas sem qualquer tratamento. No terceiro dia, os animais foram submetidos ao teste de fuga, com a resposta de correr em FR 1, composto por 60 choques de 0,5 mA de intensidade, com a duração máxima de 5s. Os resultados indicaram que apenas os ratos expostos na primeira fase à choques previsíveis e controláveis apresentaram imunização.

Todavia, esses resultados não permitem uma avaliação clara dos efeitos da previsibilidade sobre a imunização do desamparo aprendido, pois foram utilizados o mesmo estímulo (choque elétrico), a mesma resposta (correr de um compartimento para o outro da caixa), além do mesmo aparato tanto na fase de imunização quanto na fase de teste. Como já foi discutido anteriormente, esse uso de igual resposta nas fases de imunização e teste impede a verificação da ocorrência da imunização. Dessa forma, não é possível dizer se o indivíduo aprendeu uma nova resposta ou se ele apenas reproduziu um comportamento aprendido anteriormente, uma vez que a resposta utilizada no teste foi aprendida na fase de imunização no mesmo equipamento utilizado no teste. Além disso, a contingência de fuga para a resposta de correr em FR 1 não é adequada para o estudo da aprendizagem operante, conforme analisado por Hunziker e Santos (2007). Portanto, para verificar a relevância da previsibilidade dos estímulos na produção do efeito de imunização, será necessária a proposição de um procedimento que permita a avaliação em separado dos efeitos da (im)previsibilidade dos da (in)controlabilidade do

estímulo na fase de imunização em um procedimento que não contenha os problemas metodológicos acima citados.

Desamparo aprendido e diferenças de sexo

Em humanos, sabe-se que mulheres apresentam maior incidência de depressão que homens, principalmente após a puberdade e até o climatério (Dalla, Pitychoutis, Kokras & Papadopoulou-Daifoti, 2009; Palanza, 2001). É difícil chegar a um consenso a respeito dos fatores que explicam a diferença na incidência de depressão em mulheres e homens, uma vez que a depressão é multifatorial (Piccinelli & Wilkinson, 2000). Porém, duas principais explicações dessas diferenças na incidência de depressão foram propostas: a psicossocial e a biológica. A abordagem psicossocial leva em conta as diferenças nas condições socioeconômicas e nas condições de vida que poderiam atuar como estímulos estressores. Por sua vez, diversos autores que defendem a abordagem biológica propõem que anormalidades genéticas ligadas ao cromossomo sexual feminino fariam com que ele carregasse maior pré-disposição a desenvolver transtornos de humor, como a depressão (e.g., Gershon & Bunney, 1976; Winokur & Tanna, 1969). Outros autores, também dentro da abordagem biológica, levam em conta que a diferença na incidência de depressão aumenta em épocas que acontecem as principais alterações hormonais, como a puberdade e o climatério, e sugerem que os hormônios sexuais femininos têm um papel importante na depressão (e.g., Naninck, Lucassen & Bakke, 2001; Weiss, Longhurst & Mazure, 1999). Quanto aos hormônios sexuais sabe-se que sua presença durante o desenvolvimento gera diferenças na anatomia, química e/ou funcionamento do cérebro (e.g., em estruturas como hipocampo, neocórtex e amídala) que por sua vez podem acarretar em diferenças na interação do organismo com o

ambiente a depender do sexo do indivíduo (Cahill, 2006; Crosgrove, Mazure & Staley, 2007; McCarthy, Arnold, Ball, Blaustein & De Vries, 2012).

Também é possível observar diferenças de gênero no tratamento da depressão. Alguns medicamentos com propriedades antidepressivas têm diferentes efeitos em homens e mulheres e/ou necessitam de dosagens diferentes a depender do gênero (Baca, Garcia-Garcia & Poras-Chavarino, 2004; Berlanga & Flores-Ramos, 2006; Dalla, kokras, Pitychoutis, Papadopoulou-Daifoti & Olivier, 2012).

Como o desamparo aprendido é considerado um modelo animal de depressão, seria possível observar diferenças no comportamento dos animais submetidos a esse modelo, a depender de seu sexo? Kirk e Blampied (1980), em uma revisão da literatura sobre desamparo aprendido, apontaram que o sexo dos sujeitos é uma variável pouco explorada. Esses autores relatam, contudo, que não foram raras as pesquisas em que se utilizaram machos e fêmeas, mas que elas parecem não ter considerado o sexo dos animais como uma variável relevante, pois não avaliaram seu efeito no comportamento dos animais expostos ao procedimento para o estudo do desamparo aprendido.

Mais de 30 anos após a revisão de Kirk e Blampied (1980) o panorama atual da área não mudou muito. Apenas alguns trabalhos foram conduzidos para analisar se os efeitos do choque incontrolável e imprevisível são dependentes do sexo dos sujeitos, e resultados contraditórios foram relatados. Em alguns estudos relatou-se que ratos fêmeas não apresentam desamparo, ao contrário dos ratos machos em que os efeitos são observados de forma consistente (Dallas, Edgecomb, Whetstone & Shors, 2008; Kirk, & Bamplied, 1985; Shors, Mathew, Sisti, Edgecomb, Beckoff & Dalla, 2007; Steenbergen, Heinsbroek, Van Haaren & Van de Poll, 1989; Steenberg, Heinsbroek, Van Hest & Van de Poll, 1990). No entanto, outros estudos relataram que ratos fêmeas apresentam desamparo da mesma forma que machos (Castelli, 2004; Damiani & Hunziker, 1991;

Gouveia Jr., 2001; Heinsbroek, Haaren, Poll & Steenbergen, 1991; Yano & Hunziker, 2000).

A grande maioria dos estudos sobre desamparo foi realizada com ratos machos. Na maior parte dos estudos que abordam diferenças no comportamento dos animais em função do sexo, a resposta de fuga utilizada no teste foi a de correr em FR 2 (i.e., o animal precisa emitir a primeira resposta de correr do compartimento que estava inicialmente posicionado na *shuttlebox* até o compartimento oposto da caixa e em seguida emitir a segunda resposta de correr de volta ao compartimento inicial). Hunziker (1983; 2003) e Hunziker e Santos (2007) já analisaram os problemas de se utilizar no teste de fuga a resposta de correr, em FR 2: o primeiro deles é que, em alguns estudos, os animais ingênuos também não aprendem a resposta de fuga (e.g., Dalla et al., 2008 – experimento 2; Freda & Klein, 1976 – experimento 1, Jackson, Maier & Rapaport, 1978 – experimentos 1a, 1b e 3; Maier & Testa, 1975), o que sugere um controle experimental precário. Conforme discutido por esses autores, a resposta de correr em uma caixa com piso eletrificado tem controles operantes e respondentes, de forma que o uso da contingência de FR 2 estabelece controles incompatíveis que dificultam sua aprendizagem: é possível que o local da caixa onde o animal estava posicionado quando o choque foi administrado se torne, por pareamento, um estímulo aversivo condicionado (CS aversivo). Então o animal emite a primeira resposta de correr como uma resposta eliciada pelo choque, mas por outro lado ele evita voltar para um local que se tornou aversivo através de condicionamento, sendo que essa segunda resposta que ele evita é a exigida para o reforçamento. Segundo essa análise, essa contingência estabelece controles competitivos que dificultam a análise de o quê está controlando o quê.

Outro problema é o atraso do reforço, pois o animal precisa emitir duas respostas de correr para que o choque seja desligado e é a segunda resposta que tem como consequência o término do choque. Ou seja, leva certo tempo desde o início da primeira resposta de correr até a interrupção do choque e é sabido que quando o reforço é administrado com atraso ele tem menos efeito sobre o comportamento dificultando uma aprendizagem operante (Hunziker, 2003).

Mas então porque fêmeas, da mesma forma que machos, não apresentam altas latências quando a resposta de correr em FR 2 é utilizada no teste? Uma possível interpretação é devido ao fato de que fêmeas apresentam maior movimentação corporal que machos quando choques são administrados (Dalla et al., 2009; Kirk & Blampied, 1985). Steenbergen, Heinsbroek, Van Haaren e Van de Poll (1989) mediram a movimentação corporal de machos e fêmeas diante do choque incontrolável e verificaram que fêmeas apresentam maior frequência da resposta de correr perante o choque do que machos, principalmente no início da sessão. Essa maior movimentação pode facilitar, no teste, a emissão das duas respostas de correr exigidas no teste como respostas reflexas para sujeitos desse gênero.

Outra crítica metodológica que pode ser feita é que os resultados dos estudos que utilizam a resposta de fuga de correr em FR 2 geralmente apresentam um único dado médio da latência da resposta de fuga no teste. Portanto, mesmo que os ratos fêmeas apresentem habituação e a alta movimentação corporal eliciada pelo choque seja observada apenas no início da sessão, esse curto período de baixas latências pode ser suficiente para diminuir o valor médio desse dado, mesmo que posteriormente eles não se mantenham nesse patamar. Portanto as baixas latências apresentadas por sujeitos desse gênero, em comparação com as latências médias de machos, não significam, necessariamente, que elas aprenderam a resposta de fuga.

Na maioria dos estudos em que o desamparo pôde ser observado igualmente em ambos os sexos a resposta utilizada no teste foi a resposta de saltar de um compartimento para o outro da *shuttlebox*. O uso desse procedimento, que introduz um controle operante mais preciso (Hunziker & Santos, 2007), permite observar o desamparo aprendido igualmente com ratos machos e fêmeas como função de uma história de incontrolabilidade aversiva.

Aparentemente, os diferentes resultados descritos com ratos machos e fêmeas podem ser atribuídos a diferenças e imprecisões metodológicas de alguns estudos, sendo mais sistemáticos os resultados que sugerem igual probabilidade de ocorrência do efeito de desamparo aprendido em função da experiência prévia com eventos aversivos incontroláveis. Porém, o estudo que manipulou juntamente com o gênero a previsibilidade dos estímulos (Castelli, 2004) não incorreu nessas imprecisões metodológicas, sugerindo fortemente que a previsibilidade dos choques incontroláveis pode ser uma variável ambiental que interage com a diferença biológica dos sexos.

Portanto, além da controlabilidade, a previsibilidade parece ser uma variável relevante quando manipulada na fase de tratamento e no teste, pelo menos para fêmeas. Tomados em conjunto, os resultados de Castelli (2004) e Hunziker e Lima (2006) nos direcionam a questionar se a previsibilidade e a controlabilidade do estímulo apetitivo da fase de imunização com reforçamento positivo tem seus efeitos, no teste, dependentes do sexo dos sujeitos. Em suma, o sexo dos sujeitos, a previsibilidade dos estímulos e o reforçamento positivo na primeira fase experimental são todas variáveis sugeridas como potencialmente relevantes para se obter desamparo e sua imunização. Contudo, são necessárias novas investigações sistemáticas dessa combinação de variáveis para identificar se as relações sugeridas em trabalhos separados podem se confirmar ao serem colocadas juntas.

Em função do anteriormente exposto, a presente pesquisa teve como objetivos principais avaliar: 1) se a previsibilidade e a controlabilidade de estímulos apetitivos, na fase de imunização, são variáveis críticas para evitar a ocorrência do desamparo aprendido, e 2) se o efeito das variáveis acima citadas é dependente do sexo dos sujeitos. Esses serão os objetivos do Experimento 1, principal foco dessa tese. Planejou-se também que, caso fosse identificado algum efeito dependente do sexo dos sujeitos, o procedimento no qual esse efeito aparecesse seria repetido (Experimento 2), porém com os ratos fêmeas submetidas à castração para eliminar a diferença hormonais em relação aos machos (conforme sugerem McCarthy et al., 2012).

Em adição aos objetivos principais desse estudo, considerou-se também a necessidade de um Estudo Piloto, conforme se justifica a seguir. Dado que o sexo dos sujeitos é uma das variáveis independentes a serem aqui manipuladas, e como ratos fêmeas apresentam quatro fases no seu ciclo estral que influenciam alguns comportamentos (a depender da fase desse ciclo), considerou-se relevante verificar se as fases extremas do ciclo estral das fêmeas influenciariam na ocorrência do desamparo aprendido. Caso o resultado fosse positivo, ou seja, desamparo aprendido apenas em fêmeas que estivessem em determinadas fases do ciclo, então essa variável deveria ser controlada no teste de imunização. Por outro lado, caso esse resultado indicasse que a fase do ciclo dos ratos não interfere na ocorrência do desamparo, tal variável não precisaria ser manipulada na fase posterior desse trabalho. Portanto, esse foi o motivo da realização do Estudo Piloto que segue.

Todos os procedimentos aqui realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEPA) do Instituto de Psicologia da USP (certificado nº 005/2011).

Estudo Piloto

Sabe-se que ratos fêmeas apresentam quatro fases de ciclo estral: proestro, estro, metaestro e diestro, cada uma com a duração aproximada de um dia. Durante o ciclo estral, a prolactina, os hormônios luteinizantes (LH) e folículo estimulante (FSH) permanecem em níveis baixos aumentando somente na fase de proestro. Os níveis de estradiol começam a aumentar no metaestro atingindo seu pico durante o proestro e retornam aos níveis de linha de base no estro. A secreção de progesterona também aumenta no metaestro e no diestro, diminuindo nas fases subsequentes, e alcança seu segundo pico no final do proestro (Sportnitz et al., 1999; Smith et al., 1975, Marcondes, Bianchi & Tanno, 2002).

Diversos estudos mostram que o ciclo estral pode influenciar o comportamento de fêmeas em algumas tarefas. Por exemplo, há diferença na resposta de sobressalto a partir da administração de choque na cauda a depender da fase do ciclo em que a fêmea foi exposta a esse estímulo aversivo (Beck, Jiao, Cominski, & Servatius, 2008). Também há diferença na resposta de esquiva condicionada: ratos fêmeas no proestro exibiram uma facilitação significante dessa resposta em relação a ratos fêmeas no diestro ou no estro (Sfikakis; Spyraki; Sitaras & Varonos, 1978). Portanto, um ponto importante, antes de se iniciar qualquer pesquisa com fêmeas, é investigar se a fase do ciclo em que o sujeito se encontra pode influenciar seu comportamento na contingência a ser testada.

No desamparo aprendido, Jenkins, Williams, Kramer, Davis e Petty (2001) demonstraram que ratos fêmeas no diestro apresentam maior desamparo do que ratos fêmeas no estro. Porém, esse estudo utiliza um intervalo curto entre as sessões de tratamento e teste que difere do que vem sendo utilizado nos estudos sobre o

desamparo: foi utilizado 1 hora, e não 24 horas de intervalo como usualmente é feito. Essa mudança pode implicar que os efeitos comportamentais medidos nesse estudo difiram daqueles normalmente analisados nos estudos sobre desamparo aprendido: uma hora após os choques incontroláveis, o teste pode estar medindo a influência de variáveis fisiológicas eliciadas por esses choques, as quais poderiam não estar presentes após 24 h dos mesmos. Além disso, destaca-se que o estudo citado utilizou no teste de fuga a contingência de FR 2 para a resposta de correr, a qual é passível, conforme analisado anteriormente, de provocar alterações nas respostas motoras, mais do que permitir a avaliação da aprendizagem de fuga. Assim, esses dados descritos por Jenkins et al. (2001) podem não se aplicar ao nosso estudo, que utiliza o procedimento que aparentemente oferece melhor controle experimental das variáveis em análise (conforme sugerido por Hunziker, 1982; Hunziker & Santos, 2007), ou seja, a resposta de saltar e intervalo de 24 h entre sessões de tratamento e teste.

Nesse contexto, vale a pena citar que alguns estudos já demonstraram que o intervalo entre sessões é uma variável que pode interferir na ocorrência do desamparo a depender do sexo dos sujeitos. Por exemplo, Heinsbroek, Haaren, Van de Poll e Steenberg (1991) realizaram dois experimentos que diferem entre si pela intensidade do choque e pelo intervalo entre o tratamento e o teste. No Experimento 1, ratos machos e fêmeas foram expostos a uma sessão de choques incontroláveis, de 1 mA de intensidade, administrados de acordo com o esquema de VT 30 s, com duração fixa de 2 s. Uma sessão de teste de fuga foi realizada com intervalo de uma ou 24 hrs após esses choques. Nela, choques semelhantes aos anteriores, porém com duração máxima de 30 s, poderiam ter sua duração reduzida pelo sujeito, sendo desligados imediatamente após a emissão resposta de fuga correr (reforçada em FR1 nas primeiras cinco tentativas, e FR2 nas 25 tentativas restantes). Os resultados mostraram que ratos machos

apresentaram latências médias de fuga significativamente maiores quando o intervalo entre sessões foi de uma hora, enquanto as fêmeas se comportaram igualmente nas duas condições. No Experimento 2, foi utilizado delineamento semelhante com a diferença que os choques incontroláveis tiveram 6 s de duração e o teste foi realizado com intervalos de 24 ou 72 hrs entre as sessões. Os resultados indicaram que fêmeas, testadas com o intervalo de 72 horas, apresentaram latências significativamente maiores do que quando o intervalo foi de 24 horas. As latências de machos também diferiram a depender o intervalo entre o tratamento e o teste, porém as diferenças não foram estatisticamente significantes.

Por outro lado, Mestre e Hunziker (1996), utilizando o saltar como resposta de fuga no teste (reforçada em FR1), encontraram igual efeito de desamparo em ratos machos testados com intervalo de um ou 60 dias entre as sessões de tratamento e teste.

Portanto, esses dados discordantes sugerem que para termos certeza da importância da fase do ciclo estral das fêmeas no estudo do desamparo aprendido utilizando o procedimento descrito por Hunziker e Santos (2007) – com a resposta de fuga saltar reforçada em FR 1 – temos que realizar um experimento específico a esse fim. Esse é objetivo do Estudo Piloto abaixo descrito.

Para isso, foram utilizadas fêmeas no diestro e no estro uma vez que esses dois estágios do ciclo estral diferem quanto ao tempo desde a liberação dos hormônios sexuais. Além disso, considerou-se, também, que o estudo de Jenkins et al. (2001) mostrou que as latências de fuga de fêmeas diferem especificamente nesses dois momentos do ciclo.

Método

Sujeitos

Dez ratos fêmeas, Wistar, com aproximadamente 90 dias ao início do experimento, provenientes do Biotério do Instituto de Psicologia. Os sujeitos foram mantidos em biotério com temperatura controlada e renovação de ar, mantendo-se um ciclo de 12 horas luz/escuro (7:00 às 19:00). Eles ficaram alojados em gaiolas individuais por, no mínimo, uma semana antes de iniciar o experimento, tendo todo o tempo acesso livre a ração seca balanceada e água. As sessões foram realizadas durante o período de luz do ciclo de luz/escuro do biotério.

Equipamentos

Foram utilizadas duas caixas. Uma, medindo 21,5 x 21,5 x 21,0 cm (comprimento, largura e altura), não continha *manipulandum.* Seu piso era composto por barras cilíndricas de aço inox, de 1/8” de diâmetro, espaçadas 1,3 cm entre si. A parede frontal e o teto eram de acrílico transparente, sendo as demais paredes de aço inoxidável.

A outra caixa, denominada caixa de alternação (*shuttlebox),* media 50,0 x 15,0 x 21,0 cm (comprimento, largura e altura), com paredes laterais, parede central e teto de alumínio fosco, pintadas internamente de preto, e a parede frontal de acrílico transparente. A caixa era dividida em dois compartimentos iguais por uma parede central que continha um orifício medindo 6,0 cm de largura e 7,0 cm de altura (como uma “janela”), a 8,0 cm acima do piso. Na base dessa janela havia duas barras cilíndricas de 0,3 cm de diâmetro, semelhantes ao piso, que eram eletrificadas. Cada compartimento tinha assoalho independente, preso no centro da caixa, podendo ser rebaixado na extremidade oposta: o peso do sujeito produzia uma inclinação no piso,

movimento que acionava um *microsswitch*, registrando automaticamente sua presença no compartimento. O piso, composto por barras cilíndricas de latão de 1/8” de diâmetro, com espaçamento entre si de 1,3 cm, foi conectado a estimulador de choque com alternador de polaridades. Nessa caixa, a eletrificação do piso era independente em cada compartimento, de forma que o choque era liberado apenas no compartimento onde o sujeito se encontrava quando esse estímulo iniciava.

Cada caixa estava conectada a um estimulador de choque com alternador de polaridades (*shock scrambler*). A caixa sem *manipulandum* foi conectada a um estimulador de choque de fabricação Lehind Valey 113-33; a *shuttlebox* foi conectada ao estimulador de fabricação BRS Foringer modelo 901. Ambos os estimuladores produziam a liberação de choques pelo piso da caixa.

Após cada sessão as caixas foram limpas com uma solução hidroalcoólica para retirada de odores, fezes e urina dos animais. Além disso, como a umidade do ar pode ser um fator que interfere na intensidade do choque, um desumidificador automático (Arsec Model 160 M3-U) manteve a umidade relativa do ar, na sala de experimentação, em um máximo de 70%; um higrômetro (West Germany – Prazesions/Hygrometer) permitiu a medição dessa variável.

O controle e registro dos dados das sessões foram feitos por um microcomputador PC 386, utilizando um programa em linguagem Delphi 6.0.

Procedimento

Antes de iniciar o experimento, o ciclo estral das fêmeas foi medido durante 15 dias através de citologia vaginal utilizando o procedimento de lavado vaginal conforme descrito por Marcondes, Bianchi e Tanno (2002), a fim de verificar se esse ciclo era regular (i.e., se a fêmea apresentava as quatro fases do ciclo em aproximadamente

quatro dias). Esse procedimento também tinha o objetivo de habituar o animal a essa manipulação, evitando que interferisse nos resultados relativos ao desamparo aprendido. Após a identificação de que a fêmea possuía o ciclo regular, o procedimento de lavado vaginal continuou diariamente. Antes do início do experimento, o ciclo do animal era averiguado e os animais foram distribuídos em dois grupos (n = 5) de acordo com a fase do ciclo em que se encontravam no primeiro dia do experimento: 1) Estro e 2) Diestro. Nessa primeira sessão, imediatamente após a identificação do ciclo estral, os animais receberam 60 choques incontroláveis e imprevisíveis de 1mA e duração fixa de 10 s, liberados de acordo com o esquema de VT 60 s (amplitude de variação 10-110 s). Vinte e quatro horas após a sessão de tratamento, o sujeito foi exposto a uma sessão de teste na qual recebeu 60 choques imprevisíveis e controláveis com iguais parâmetros que os anteriores, com a única diferença que poderiam ser imediatamente desligados após o animal emitir a resposta de saltar de um compartimento para ao outro da *shuttlebox*. Na ausência dessa resposta, o choque teria duração máxima de 10 s, sendo desligado automaticamente após esse tempo. Cada choque correspondeu a uma tentativa, sendo a sua duração registrada como a latência na tentativa. No caso de não emissão da resposta de fuga, era registrada latência de 10 s e a tentativa considerada falha.

Tabela 1. Resumo do procedimento experimental do Estudo Piloto.

Grupo (n = 5)	**Citologia vaginal (15 dias)**		**Tratamento**		**Teste**
Estro	Verificação do ciclo estral através de lavado vaginal	**24 hrs**	60 choques imprevisíveis *incontroláveis* 1mA 10 s (*fixo*)	**24 hrs**	60 choques imprevisíveis *controláveis* 1mA 10 s (*máximo*) R de fuga=saltar
Diestro					

Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra as latências médias da resposta de fuga (saltar), em segundos (s), apresentadas na sessão de teste, ao longo de blocos de cinco tentativas sucessivas. A significância das diferenças obtidas foi analisada através do teste estatístico GLM Multivariado com Medidas Repetidas. O nível máximo de 5% foi aceito como significante para as diferenças encontradas, levando-se também em conta o poder observado (OP), que indica significância a partir do valor 0,7, evitando a aceitação ou rejeição da Hipótese Alternativa do teste por meio de Erro Tipo I ou II.

Tanto na presente figura quanto nas demais a serem apresentadas nessa tese, os dados de latência dos sujeitos são ordenados da maior para a menos latência, ou seja, em ordem decrescente. O critério aqui considerado para se dizer que um animal aprendeu a resposta de fuga foi que ele apresentasse latências finais menores que as iniciais e tendência decrescente sistemática das latências de fuga.

A Figura 1 mostra que animais de ambos os grupos apresentaram latências da resposta de fuga igualmente altas por toda a sessão de teste, mostrando que não aprenderam fuga. O teste estatístico confirmou não haver diferenças, entre os grupos, entre as latências dos blocos de tentativas, não havendo interação entre as duas variáveis.

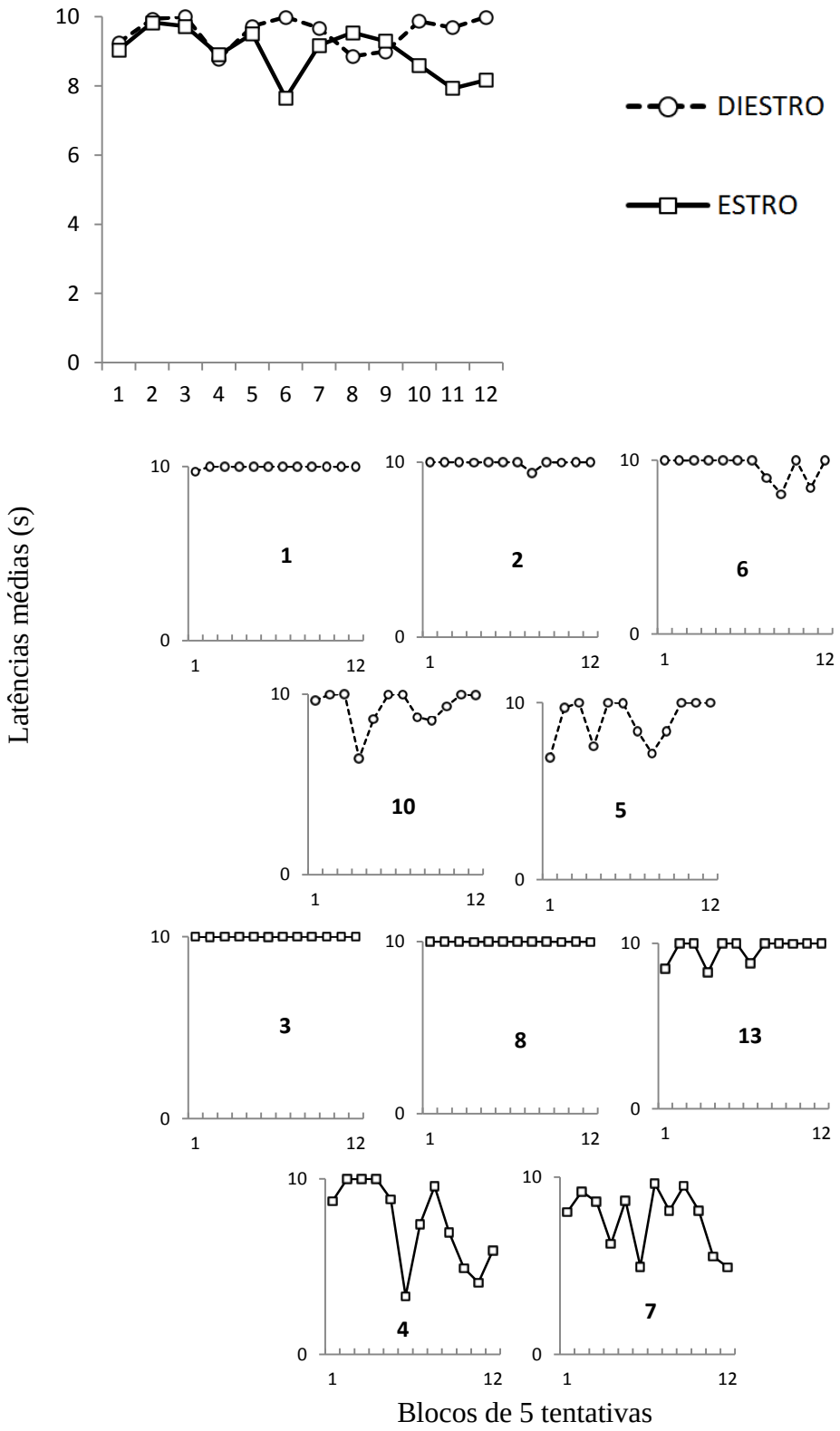

Figura 1. Latências médias apresentadas pelos sujeitos dos Grupos Estro e Diestro (gráfico superior) e dados individuais apresentados pelos sujeitos de ambos os grupos (gráficos inferiores). Os números nos gráficos individuais correspondem a identificação dos sujeitos.

Os resultados individuais corroboram a média do grupo: nenhum dos sujeitos aprendeu fuga. Um sujeito (7) do Grupo Estro apresentou latências um pouco mais baixas do que os demais sujeitos, porém ele não apresenta nem o padrão de desamparo clássico (i.e., altas latências da resposta de fuga durante toda sessão), nem o padrão de aprendizagem de fuga (i.e., curva decrescente das latências de fuga), tendo oscilado ao longo dos blocos de tentativas. A latência desse animal tem tendência decrescente apenas nos dois últimos blocos por isso não é possível falar em aprendizagem, somente a exposição continuada a mais tentativas de fuga poderia nos mostrar se essa tendência decrescente da latência se manteria ou não.

Como podemos observar na Figura 1, os demais sujeitos, de ambos os grupos, apresentaram um dos dois padrões típicos de desamparo chamados de: 1º) Déficit motivacional; os animais não emitem ou raramente emitem a resposta de fuga; 2º); Déficit cognitivo: o animal emite respostas de fuga, mas suas latências não diminuem ao longo das tentativas, ou seja, a consequência do comportamento do animal não controla sua mudança sistemática.

Os resultados do presente Estudo Piloto não replicam os do estudo de Jenkins et al. (2001) em que ratos fêmeas no diestro apresentaram latências de fuga significativamente maiores do que ratos fêmeas no estro. Porém, é preciso considerar que os dados da latência da resposta de fuga em Jenkins et al. são exibidos de forma diferente da apresentada no presente estudo, assim como a medida da latência que também foi diferente. Jenkins et al. não mostram as latências ao longo das tentativas, mas apenas um dado médio da latência de toda a sessão de fuga. Sem observar o que acontece com as latências ao longo das tentativas não é possível dizer com segurança se houve ou não aprendizagem de fuga, pois essa aprendizagem envolve mudança sistemática e gradual das latências em função do contato do sujeito com o reforçamento

negativo. Um dado único na sessão, ainda mais como média do grupo, não mostra as mudanças que se processam ao longo das tentativas nem as diferenças entre os sujeitos.

A latência média da sessão pode, no máximo, nos sugerir graus de atividade motora dos sujeitos, confirmando a análise feita por Hunziker e Santos (2007) sobre a inadequação do uso dessa contingência de fuga envolvendo a resposta de correr reforçada em FR 2. Conforme esses autores analisaram, aparentemente as pesquisas que utilizam o procedimento de fuga com a resposta de correr, em FR2, apontam mais confiavelmente para graus de atividade motora do que para aprendizagem operante de fuga. Isso significa que diferentes processos comportamentais vêm sendo estudados sob a denominação de desamparo aprendido, tornando a área confusa quanto à análise das variáveis independentes e dependentes em questão.

É preciso considerar também que as diferentes variáveis citadas podem interagir entre si. Assim, o intervalo entre as sessões, o ciclo estral dos sujeitos e o processo comportamental em estudo podem mutuamente se influenciar justificando os diferentes resultados do presente estudo em comparação com o de Jenkins et al. (2001).

Para os fins do atual trabalho, foi aqui realizado um Estudo Piloto com o objetivo restrito de verificar se fêmeas expostas a choques incontroláveis durante diferentes fases do seu ciclo estral apresentariam diferenças na dificuldade de aprender fuga, efeito típico do fenômeno denominado desamparo aprendido. Especialmente relevante nesse estudo foi o uso das mesmas variáveis manipuladas na produção do desamparo a ser empregado no Experimento 1 desse trabalho. Os resultados mostraram claramente que com o procedimento de choques incontroláveis e de fuga aqui empregados, mantendo-se 24 hrs de intervalo entre as sessões de tratamento e teste, ratos fêmeas apresentaram desamparo aprendido mesmo estando em fases opostas do ciclo estral como o são estro e diestro. Portanto, independentemente da sua comparação com estudos da literatura, os

dados aqui obtidos mostraram claramente que, nas condições experimentais que manipulamos, essas fases do ciclo estral não interferiram na ocorrência do desamparo aprendido, permitindo que nos experimentos subsequentes não seja necessário manipular a fase do ciclo, bastando comparar ratos machos e fêmeas.

O presente Estudo Piloto não se propôs a verificar se essas fases opostas do ciclo podem interferir na simples aprendizagem de fuga, ou seja, no padrão mostrado por animais não tratados previamente com choques incontroláveis. Contudo, estudos anteriores conduzidos no nosso laboratório já demonstraram que ratos fêmeas, ingênuas experimentalmente, aprendem a resposta de fuga aqui utilizada no teste independentemente da fase do ciclo em que se encontram: tanto Yano e Hunziker (2000) como Gouveia Jr (2001) obtiveram que ratos fêmeas, alojados proximamente no biotério (fator que leva os animais a ciclarem em conjunto – McClintok, 1981) apresentaram igual padrão de aprendizagem de fuga sendo testados em dias diferentes e, portanto, em fases diferentes do ciclo. Por esse motivo, consideramos que o Estudo Piloto aqui realizado foi suficiente para nos fornecer evidências experimentais que justificam que nos experimentos que seguem não haja a necessidade de verificar qual fase do ciclo estral estão os sujeitos fêmeas durante o experimento.

Experimento 1

De acordo com o anteriormente exposto, esse experimento foi realizado com os objetivos de avaliar se: 1) a previsibilidade e a controlabilidade de estímulos apetitivos, na fase de imunização, são variáveis críticas para evitar a ocorrência do desamparo aprendido e 2) o efeito das variáveis acima citadas é dependente do sexo dos sujeitos.

Método

Sujeitos

Foram utilizados 96 ratos Wistar (48 machos e 48 fêmeas) experimentalmente ingênuos, com aproximadamente 90 dias de idade, provenientes do Biotério do Instituto de Psicologia. Os sujeitos foram mantidos em biotério com temperatura controlada e renovação de ar, mantendo-se um ciclo de 12 horas luz/escuro (7:00 às 19:00). Eles ficaram alojados em gaiolas individuais por, no mínimo, uma semana antes de iniciar o experimento, com acesso livre a ração seca balanceada e água. Dois dias antes do início do experimento, os ratos foram privados de água por 40 horas, sendo que após cada sessão os animais receberam cinco minutos de acesso livre à água. A privação de água foi realizada somente na fase inicial em que a água foi utilizada como reforço (ver descrição do procedimento abaixo). Encerrada essa fase, os sujeitos retornaram ao acesso livre à água. Todos os animais foram pesados semanalmente, verificando-se que não estavam abaixo de 85% do peso *ad lib*. As sessões foram realizadas durante o período de luz do ciclo de luz/escuro do biotério.

Equipamento

Ao todo, foram utilizadas quatro caixas com duas barras, uma caixa sem *manipulandum* e uma *shuttlebox*. Cada caixa com duas barras media 20,0 x 23,5 x 22,0 cm (profundidade, largura e altura, respectivamente), sendo o piso composto por barras cilíndricas de 0,3 mm de diâmetro, distando 1,3 cm entre si. As duas paredes laterais e o fundo eram de alumínio e a parede frontal e o teto de acrílico transparente. No centro do teto da caixa havia uma lâmpada de luz branca que compunha a iluminação ambiente. Na parede lateral direita havia duas barras retangulares de alumínio, retráteis, medindo 4,0 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro, equidistantes do centro da parede,

afastadas 10,5 cm entre si (centro a centro) e a 8,5 cm acima do piso. No presente experimento, apenas a barra da direita foi utilizada, a barra da esquerda foi retirada da caixa. Uma pressão de no mínimo 45,0 gf (grama-força) em qualquer uma dessas barras acionava um dispositivo eletromecânico que registrava uma resposta. No centro dessa parede, equidistante das barras, e ao nível do piso, havia um bebedouro que, ao ser acionado, liberava uma gota de água de 0,05 cc (reforço). A 7,0 cm acima de cada barra havia uma lâmpada branca do tipo "olho de boi".

A caixa sem *manipulandum*, a *shuttlebox*, os estimuladores de choque e os equipamentos de controle e registro das sessões foram os mesmos descritos no Estudo Piloto. Além disso, foram tomados os mesmos cuidados descritos no Estudo Piloto a respeito do controle da umidade do ar e limpeza das caixas ao final de cada sessão. A única diferença foi que na fase de imunização, o controle e registro dos dados foram feitos por um microcomputador Pentium® Dual-Core utilizando interface e um programa MED-PC®, especialmente desenvolvido pra essa pesquisa.

Procedimento

Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos (n = 16, tendo machos e fêmeas em igual proporção em cada grupo). Todos os animais foram inicialmente expostos a uma sessão de modelagem da resposta de pressão a barra (RPB), tendo água como reforço, seguida de reforçamento contínuo (CRF) com 100 reforços. Em seguida, deu-se início ao procedimento experimental composto por três fases - imunização, tratamento e teste, com sessões com intervalos de 24 hrs entre si, conforme segue. A Tabela 2 resume o procedimento geral utilizado nesse experimento.

Tabela 2. Resumo do procedimento experimental utilizado no Experimento 1.

<table>
<tr><th>GRUPOS
(n=16)
(8 ♂ e 8 ♀)</th><th>PRÉ-TREINO</th><th rowspan="6">24 hrs</th><th colspan="3">IMUNIZAÇÃO
CRF (1 sessão)
Ref. intermitente
(10 sessões)</th><th rowspan="6">24 hrs</th><th>TRATAMENTO
(1 sessão)</th><th rowspan="6">24 hrs</th><th>TESTE
(1 sessão)</th></tr>
<tr><td>Previsível e Controlável (PC)</td><td rowspan="5">Modelagem da resposta de pressão à barra (RPB)
100 reforços em CRF</td><td rowspan="4">200 reforços CRF</td><td rowspan="5">24 hrs</td><td>VI 30 s (luz)</td><td rowspan="5">60 choques incontroláveis
1 mA
10s</td><td rowspan="5">60 choques
1mA
10 s
R fuga saltar</td></tr>
<tr><td>Imprevisível e Controlável (IC)</td><td>VI 30 s</td></tr>
<tr><td>Previsível e Incontrolável (PI)</td><td>VT 30 s (luz)</td></tr>
<tr><td>Imprevisível e Incontrolável (II)</td><td>VT 30 s</td></tr>
<tr><td>Choque Incontrolável (I)</td><td>—</td><td>—</td></tr>
<tr><td>Não Choque (N)</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td></tr>
</table>

Quatro dos grupos foram submetidos ao tratamento de imunização, enquanto os animais dos dois grupos restantes permaneceram no biotério. A fase de imunização foi composta por uma sessão de 200 reforços em CRF, seguida de 10 sessões de reforçamento intermitente diferente em cada grupo. Todas essas sessões da fase de imunização eram encerradas após 100 reforços ou 60 minutos, o que ocorresse primeiro. Os procedimentos em vigor nessa fase variaram de acordo com o grupo ao qual o

sujeito pertencia que diferiram entre si quanto aos fatores: controlabilidade e previsibilidade do reforço.

Condição de controlabilidade (C) – Foi utilizado esquema de reforçamento em VI 30 s (amplitude de variação de 10 a 50 s), no qual a primeira RPB que ocorresse após o intervalo médio de 30 s produzia a liberação da gota de água. A contagem do intervalo era contínua, ou seja, o fim de um intervalo era imediatamente seguido pelo início do próximo, independente da emissão da resposta do sujeito. Assim, a emissão de uma RPB após o fim do intervalo produzia a liberação do reforço, sendo que RPBs sucessivas não tinham consequência programada até que novo intervalo se completasse. Caso a RBP não ocorresse durante esse período, o reforço seria perdido, sendo disponibilizado apenas o relativo ao último intervalo transcorrido. Dessa forma, o animal não podia acumular os reforços de dois ou mais intervalos. A Figura 2 apresenta resumidamente esse esquema.

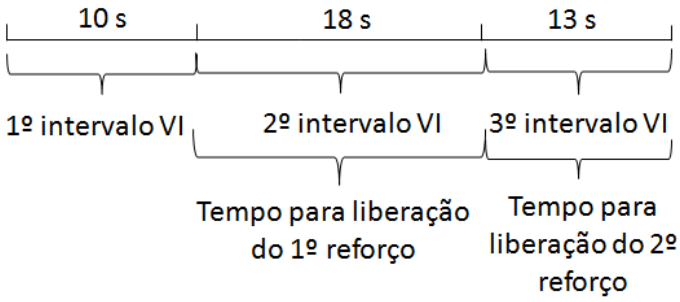

Figura 2. Representação esquemática do VI 30 s. Notar que apenas um reforço pode ser liberado a cada intervalo e que a contagem do intervalo transcorre independente da emissão de respostas pelo sujeito.

Condição de Incontrolabilidade (I)– Utilizou-se o esquema VT 30 s, semelhante ao anterior com a única diferença de que a liberação da água não dependia da emissão de respostas pelo sujeito, mas seguia o intervalo médio de liberação dos reforços obtidos pelos animais do grupo exposto a condição de controlabilidade. Vale destacar

que a incontrolabilidade que a presente tese pretendeu manipular é a da apresentação da água.

Condição de Previsibilidade (P)– Aplicada em metade dos animais expostos aos esquemas de VI 30 s e VT 30 s (com amplitude de variação de 10 a 50 s), de forma que, ao final do intervalo uma luz se acendia, sendo apagada após t(s) ou imediatamente após a emissão da RBP, o que ocorresse primeiro. Se o animal não pressionasse a barra dentro dos t(s) de luz acessa, ele ainda poderia receber o reforço no "escuro" até que o próximo intervalo terminasse. O valor de t para os animais expostos ao VI foi de no máximo 8 s ou até que os animais pressionassem a barra (o que ocorresse primeiro); para os animais expostos ao VT foi copiado o tempo médio de luz acessa por intervalo de cada sessão para um animal exposto ao esquema de VI sinalizado.

Condição de Imprevisibilidade (I)– Os esquemas VI e VT 30 s vigoravam para metade dos animais sem qualquer sinalização sobre a disponibilidade do reforço.

Portanto, nessa etapa de imunização, foram compostos os Grupos PC (Previsível e Controlável), IC (Imprevisível e Controlável), PI (Previsível e Incontrolável) e II (Imprevisível e Incontrolável). A Figura 3 mostra esquematicamente a contingência estabelecida para os animais do Grupo PC.

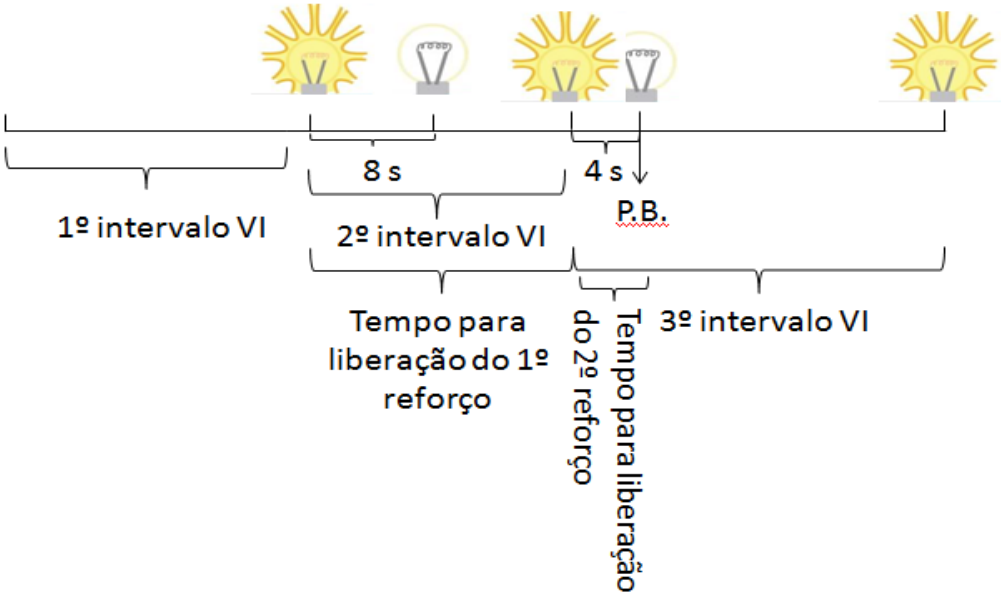

Figura 3. Representação esquemática do VI sinalizado para o Grupo Previsível e Controlável

Após as dez sessões de imunização, os animais dos quatro grupos foram expostos a uma sessão de tratamento seguida de outra de teste. Na sessão de tratamento, cada animal foi colocado individualmente na caixa sem *manipulandum* onde recebeu 60 choques incontroláveis de 1 mA, de 10 s de duração fixa, administrados pelo piso da caixa de acordo com o esquema VT 60 s (amplitude de variação de 20 a 100 s). Vinte e quatro horas depois os animais foram expostos à sessão de teste na *shuttlebox* onde receberam 60 choques com os mesmos parâmetros da sessão anterior, com a única diferença de que tinham duração máxima de 10 s, pois podiam ser abreviados, sendo interrompidos contingentes à resposta de saltar de um compartimento para o outro da *shuttlebox*. Os procedimentos dessas fases de tratamento e teste foram exatamente iguais aos utilizados no Estudo Piloto. Os animais de um dos dois grupos restantes foram expostos apenas às sessões de tratamento e teste (Grupo I), sendo os demais expostos apenas à sessão de teste (Grupo N).

Na fase de imunização os resultados foram analisados quanto à taxa de respostas geral (R/min). Para os grupos que foram expostos a condição de previsibilidade, analisou-se a taxa de respostas no claro e no escuro, a taxa de reforços no claro e no escuro (calculadas por segundo, ou seja, R/s) e o índice discriminativo, calculado segundo a fórmula abaixo:

$$\mathrm{ID} = \frac{\mathrm{R/s\ no\ claro}}{\mathrm{R/s\ no\ claro} + \mathrm{R/s\ no\ escuro}}$$

Também foi analisado o tempo médio que o rato levou para pressionar a barra após a luz se acender (i.e., a latência média da resposta de pressão a barra por sessão) e, por fim, o registro cumulativo dos grupos que passaram pelas condições de controlabilidade e incontrolabilidade com ou sem sinalização.

Na sessão de teste de fuga, analisou-se a latência média (em s) da resposta de saltar durante o choque. Para análise das diferenças encontradas entre as latências de fuga, foi utilizado o teste estatístico GLM Multivariado com Medidas Repetidas. O nível máximo de 5% foi aceito como significante para as diferenças encontradas, levando-se também em conta o poder observado (OP), que indica significância a partir do valor 0,7, evitando a aceitação ou rejeição da Hipótese Alternativa do teste por meio de Erro Tipo I ou II.

Resultados e Discussão

O gráfico superior da Figura 4 mostra as taxas médias de resposta de machos e fêmeas expostos ao procedimento IC (imprevisível e controlável). Pode-se verificar que eles têm uma tendência crescente ao longo das sessões de exposição ao VI. A taxa

média de resposta de machos aumentou de aproximadamente 7,97 R/min na primeira sessão para 12,85 R/min na décima sessão, enquanto a taxa média de fêmeas subiu de 7,55 R/min na primeira sessão para 9,79 R/min na décima. Aparentemente, esse pode ser um efeito do treino, tornando o sujeito mais rápido com o passar das sessões. Apesar de o efeito ser semelhante para machos e fêmeas, a taxa média de resposta de machos se mostrou, por inspeção visual, um pouco mais elevada que a taxa das fêmeas em quase todas as sessões de exposição ao VI. Porém, essa diferença não se mostrou estatisticamente significante.

As taxas de resposta individuais de machos mostram que todos, exceto o Sujeito 22, apresentaram taxas de resposta iniciais menores do que as finais. O Sujeito 22 manteve praticamente a mesma taxa de resposta entre a primeira com a última sessão de exposição ao VI: passou de 7,73 R/min na primeira sessão para 7,67 R/min na décima sessão. As taxas individuais das fêmeas mostram que apenas duas delas (Sujeitos 16 e 20) emitiram taxa de resposta menor na décima sessão de exposição ao VI em comparação com a taxa da primeira sessão. A fêmea 16 passou de 8,46 R/min para 3,85 R/min e a fêmea 20 foi de 9,5 R/min na primeira sessão para 7,96 R/min na última. Entre os animais que aumentaram as taxas de resposta ao longo das sessões podemos notar aumentos de maior e menor magnitude. Dentre os aumentos de maior magnitude (diferença $>$ 2 R/min entre a primeira e a última sessão de exposição) temos os machos 17, 21, 18 e 65 e as fêmeas 62, 66, 67 e 63. Os machos 60, 61 e 64 e as fêmeas 15 e 19 apresentaram aumentos de menor magnitude na taxa de resposta (abaixo de 2 R/min comparando a primeira com a última sessão de exposição ao VI).

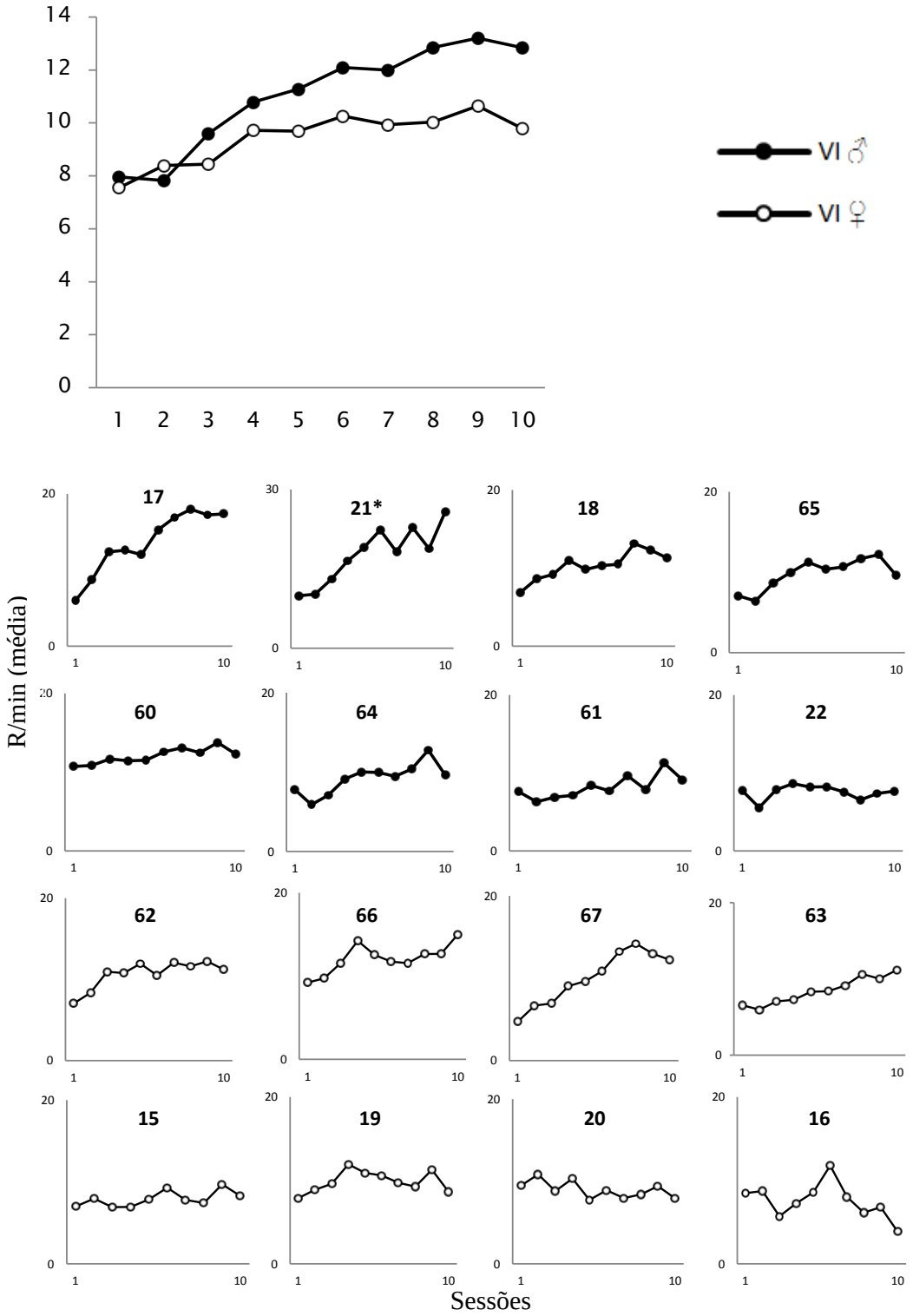

Figura 4. Taxa de respostas média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo IC (imprevisível e controlável). Notar que a escala do sujeito 21 difere da dos demais. Os números nos gráficos individuais correspondem à identificação dos sujeitos.

Os resultados de machos e fêmeas do Grupo PC (previsível e controlável) são mostrados na Figura 5. O gráfico superior dessa figura mostra que, ao contrário do que se viu no grupo anterior, as taxas médias de respostas dos animais, de ambos os sexos, diminuíram ao longo das sessões de exposição ao VI sinalizado. Embora tenham iniciado com taxas aproximadamente iguais, esse efeito de queda foi um pouco maior nas fêmeas do que nos machos, terminando em 4,42 R/min, enquanto os machos emitiram, em média, 5,23 R/min na décima sessão. Não houve diferença estatística entre as taxas de resposta de machos e fêmeas desse grupo.

Quando analisamos os resultados individuais da Figura 5 vemos que dois dos machos (13 e 31) apresentaram taxas de resposta mais altas na última sessão comparada com a primeira e, portanto parecem não ter ficado sob controle da luz. Um terceiro (76) apresentou aproximadamente a mesma taxa de resposta no primeiro e no último bloco de tentativas de fuga. Entre as fêmeas nenhuma delas apresentou taxas de respostas maiores na décima sessão em comparação com a primeira e, apenas duas apresentaram aproximadamente as mesmas taxas de resposta na primeira e na última sessão de exposição ao VI sinalizado (33 e 34).

Esses resultados sugerem que, no geral, mais fêmeas ficaram sob maior controle da luz como estímulo antecedente da disponibilidade do reforço do que os machos. Quando a luz sinalizou a disponibilidade do reforço fêmeas emitiram taxas de respostas mais baixas e receberam, aproximadamente, o mesmo número de reforços que machos revelando um padrão de respostas com menor custo e, portanto, mais adaptado ao esquema.

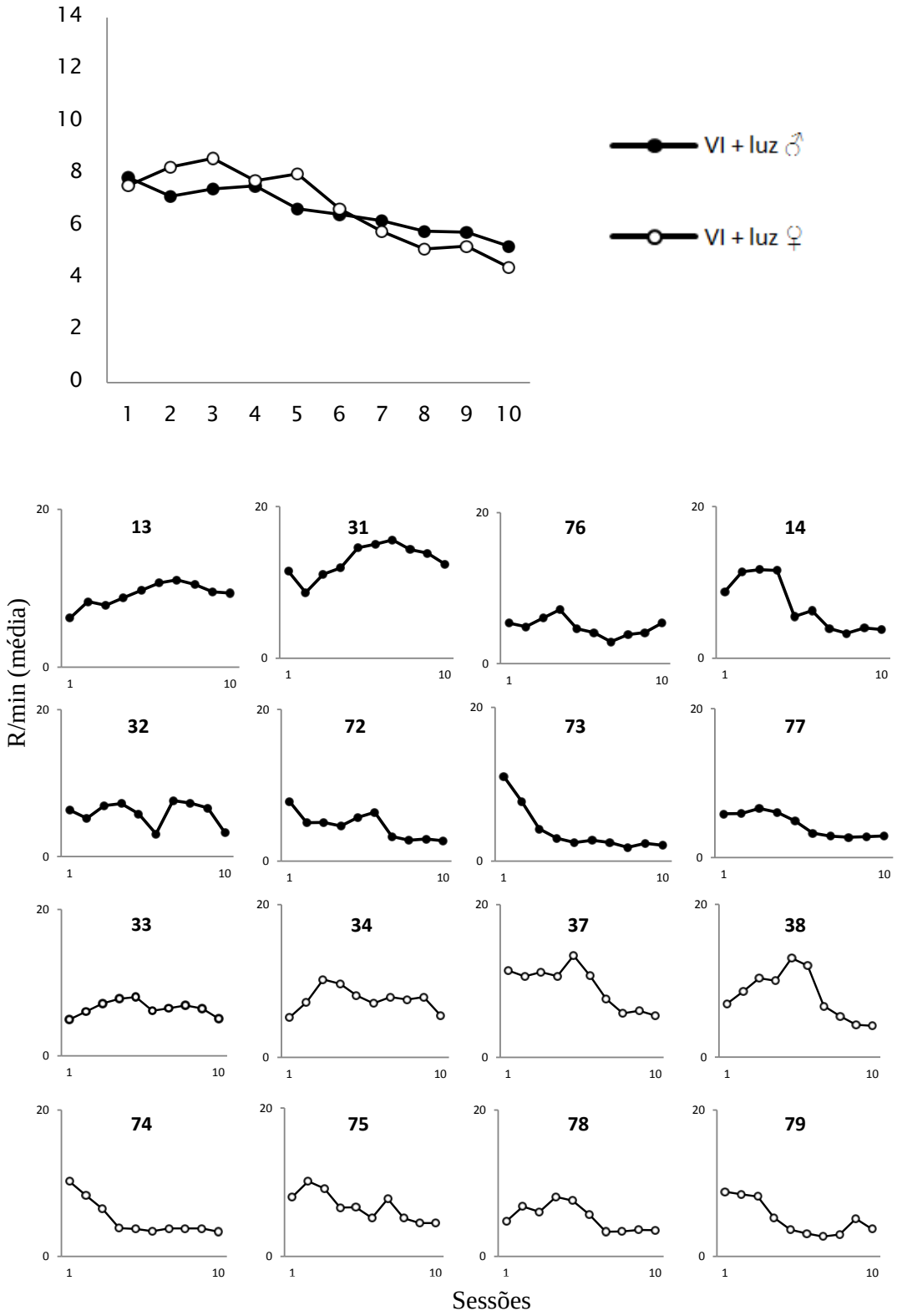

Figura 5. Taxa de respostas média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo PC (previsível e controlável). Os números nos gráficos individuais correspondem à identificação dos sujeitos.

Tomados em conjunto, os resultados das Figuras 4 e 5 corroboram os dados da literatura que demonstram que machos exibem maior taxa da resposta de pressão à barra que fêmeas quando expostos a diferentes esquemas de reforçamento (e.g., Beatty, 1973; Heinsbroek, Haaren, Zantvoord & Poll, 1987; Millar, 1975; Van Haaren, Van Hest & Heinsbroek, 1990; Van Oyen, Zwan, Van de Poll & Walg, 1981). Por exemplo, no esquema de razão randômica (RR[5]) machos apresentam taxas de resposta maiores do que fêmeas. Nesse estudo, a diferença entre as taxas ficava ainda maior quanto menor era a probabilidade de reforço, ou seja, maior a razão resposta/reforço (Heinsbroek, Haaren, Zantvoord & Poll, 1987). Fêmeas expostas ao esquema de DRL adquirem um responder adaptado ao esquema mais rapidamente do que machos (i.e., menor taxa de resposta e maior taxa de reforço) (Beatty, 1973). No esquema de CRF, machos também exibiram taxas de resposta significativamente maiores do que fêmeas (Van Oyen, Zwan, Van de Poll & Walg, 1981), sendo as mesmas diferenças encontradas quando ratos foram submetidos ao esquema de VI (Millar, 1975).

Apesar da diferença na taxa de resposta de machos e fêmeas, o padrão de resposta de animas expostos ao VI na presente pesquisa foi muito parecido em ambos os sexos. A Figura 6 mostra o registro cumulativo representativo de um sujeito do Grupo IC, nos 10 primeiros minutos da última sessão de exposição ao esquema de VI. Os sujeitos desse grupo responderam em taxas moderadas de resposta, com pouca ou nenhuma pausa após reforço, padrão típico do esquema de VI encontrado em humanos e não humanos (Catania, 1998/1999; Skinner, 2003/1953). Esse registro cumulativo corrobora os dados da literatura e demonstra que o comportamento dos sujeitos desse experimento ficaram sob controle do esquema de reforço ao qual foram expostos.

---

5 Esquema de reforçamento no qual um número médio de respostas é exigido antes que a última seja reforçada (Catania, 1998/1999).

Em comparação com a Figura 6, a Figura 7 mostra o registro cumulativo representativo de um sujeito do Grupo PC nos 10 primeiros minutos da última sessão de exposição ao VI sinalizado. Nota-se um padrão muito diferente do sujeito do Grupo IC anteriormente analisado: ele emite taxas moderadas de resposta com pausas após o reforço, em diversos intervalos a única RPB emitida é aquela que tem como consequência o reforço, demonstrando um responder adaptado ao esquema e com menor custo (menor número de respostas acumuladas) quando comparado com o responder dos sujeitos expostos ao VI sem sinalização (IC). Como o padrão de respostas dos animais expostos ao VI sinalizado não foi função do sexo do sujeito, considerou-se aqui que a Figura 7 é representativa do grupo, função da contingência em vigor e independente do gênero.

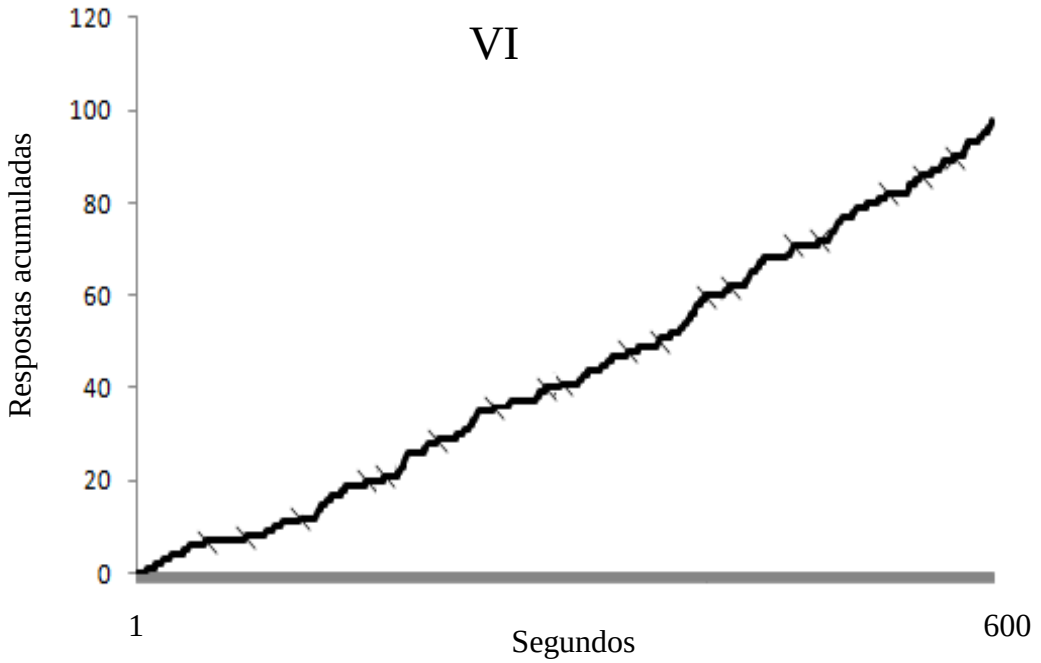

Figura 6. Registro cumulativo representativo, dos dez primeiros minutos da décima sessão, de um animal do Grupo IC (Imprevisível e Controlável).

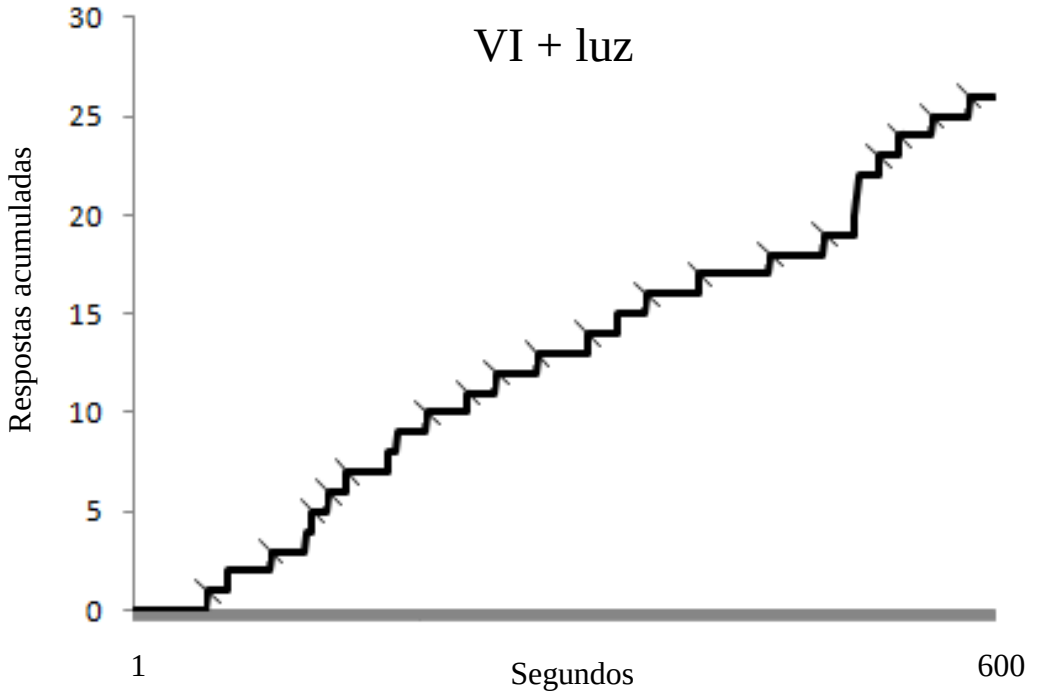

Figura 7. Registro cumulativo representativo, dos dez primeiros minutos da décima sessão, de um animal do Grupo PC (Previsível e Controlável).

No esquema de VI sinalizado era possível responder e receber reforços tanto no claro quanto no escuro, embora a resposta no claro antecipasse o acesso ao reforço. A Figura 8 mostra a comparação da taxa de resposta no claro com a taxa no escuro. A taxa de resposta no escuro é um pouco maior do que a taxa de resposta no claro somente na primeira sessão de exposição ao VI sinalizado, tanto para machos quanto para fêmeas. Ao longo das sessões de exposição a taxa de resposta no claro aumentou gradativamente e, consequentemente, a taxa de resposta no escuro diminuiu para os sujeitos de ambos os sexos.

Apesar de a taxa média de resposta emitida por fêmeas expostas ao VI sinalizado (ver Figura 4) ser menor do que a de machos, a taxa de respostas no claro, que era praticamente a mesma para machos e fêmeas na primeira sessão (6,13 e 6,15 R/min respectivamente), passa a ser consideravelmente maior em fêmeas na última sessão de exposição ao esquema de reforço (19,37 R/min e 30,04 R/min respectivamente). Consequentemente, a taxa de resposta no escuro diminuiu um pouco mais para sujeitos do sexo feminino em comparação aos do sexo masculino, foi de 8,24 R/min na primeira sessão para 3,9 R/min na última para machos e de 7,88 R/min na primeira para 2,74 R/min na última sessão para fêmeas.

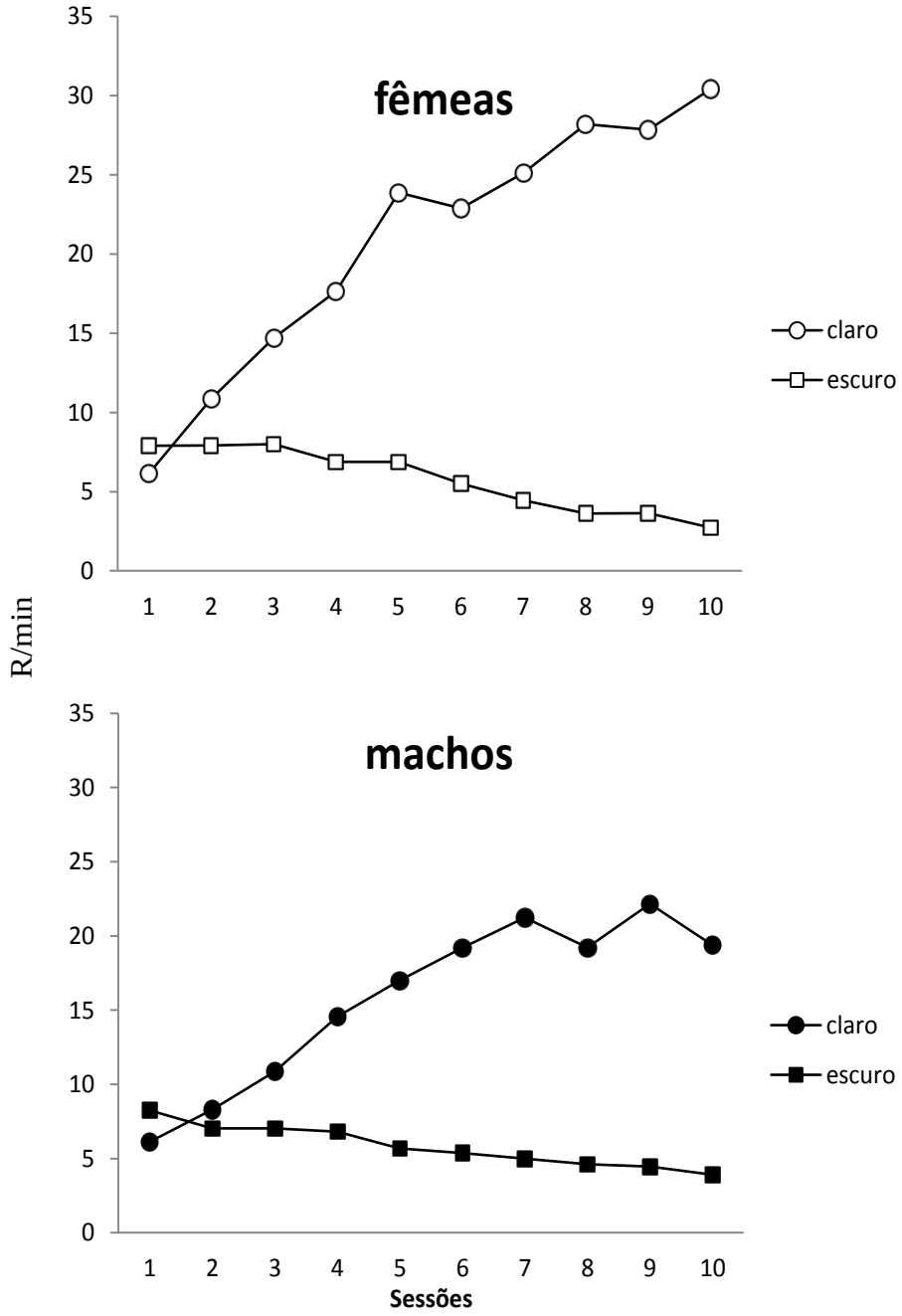

Figura 8. Respostas de pressão a barra por minuto, emitidas por fêmeas (gráfico superior) e por machos (gráfico inferior) do Grupo Previsível e Controlável, na presença e na ausência da luz.

A Figura 9 exibe o índice discriminativo de fêmeas e machos expostos ao esquema de VI sinalizado: a linha pontilhada inferior marca o índice 0,5, que indica ausência de responder diferencial em função da luz, ou seja, taxas de respostas iguais no claro e no escuro. Dados acima dessa linha indicam maior frequência de resposta na

presença da luz, e abaixo dela o efeito inverso. A linha pontilhada superior marca o índice de 0,8, ou seja, com 80% das respostas no claro. Segundo os critérios adotados nessa pesquisa os animais que apresentaram o ID≥ 0,8 apresentaram boa discriminação.

Como pode ser visto na Figura 9 todas as fêmeas apresentaram um ID > 0,8 na última sessão de exposição ao VI sinalizado. Uma das fêmeas atingiu esse índice na terceira sessão de exposição (74), duas na quarta sessão (75 e 79), uma na sexta sessão (38), outra na oitava (37) e as duas restantes somente na décima sessão (33 e 34). Dentre os machos, cinco apresentaram um ID>0,8 na última sessão de exposição ao VI sinalizado (14, 72, 73, 76 e 77), sendo que os três animais restantes (13, 31 e 32) apresentaram ID> 0,5 e < 0,8, o que mostra que apesar desses animais não terem atingido o critério de boa discriminação eles mostraram um responder diferencial, emitindo mais RPB no claro do que no escuro. Dos cinco machos que apresentaram ID> 0,8 na última sessão, um deles atingiu esse índice na terceira sessão de exposição (73), um na quarta sessão (77), dois na quinta sessão (14 e 32) e o último na sétima (72). Não houve diferença estatística entre os IDs em relação ao sexo, houve diferença estatística somente entre as sessões $F(9; 64) = 23,46$ $p < 0,05$ op = 1.

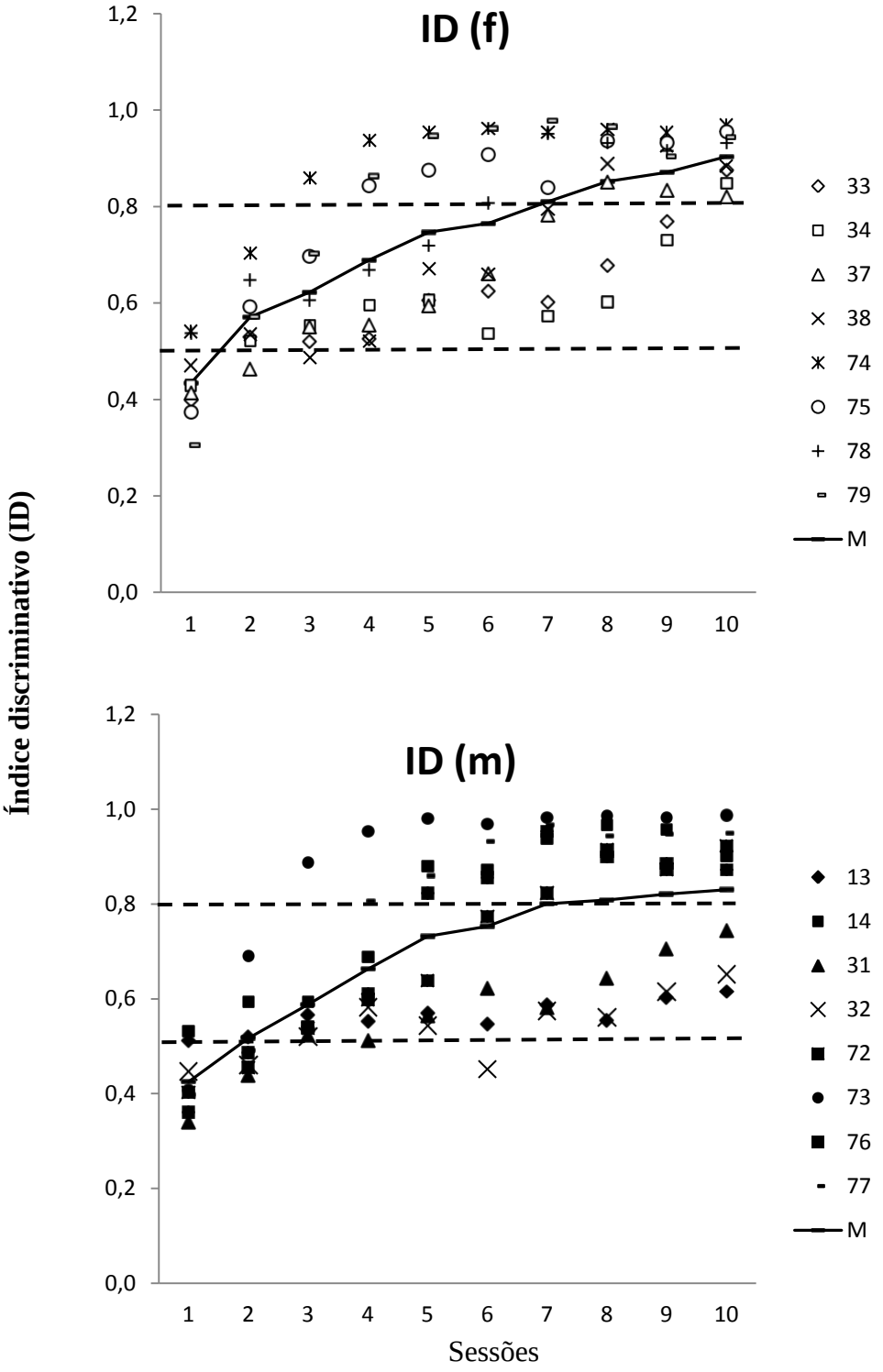

Figura 9. Índice discriminativo (ID) de fêmeas (gráfico superior) e de machos (gráfico inferior) do Grupo Previsível e Controlável em cada uma das dez sessões de exposição ao VI sinalizado. A linha contínua mostra a média do grupo e os pontos soltos mostram os dados individuais.

A Figura 10 faz uma comparação entre o número de reforços recebidos no claro com o número de reforços recebidos no escuro e mostra que o número de reforços recebidos no claro é um pouco mais alto do que o número de reforços recebidos no escuro, para sujeitos de ambos os sexos, desde a primeira sessão de exposição ao VI sinalizado. Na primeira sessão as fêmeas receberam 60 reforços no claro e 34 reforços no escuro e os machos 62 reforços no claro e 28 reforços no escuro. Assim como a taxa de resposta o número de reforços recebidos no claro também vai aumentando ao longo das sessões de exposição ao VI sinalizado para os sujeitos de ambos os sexos e, consequentemente, o número de reforços no escuro diminui. Na última sessão as fêmeas receberam, em média, um número um pouco maior de reforços no claro que os machos (97 reforços vs. 90 na última sessão) e um número um pouco menor de reforços no escuro (3 reforços vs. 9 na última sessão).

Dados mais detalhados sobre a taxa de reforço e a taxa de respostas dos animais de cada grupo podem ser observados no anexo dessa tese.

Tanto a maior taxa de resposta no claro do que no escuro, quanto o maior número de reforços recebidos nessa condição, sugerem que a luz adquiriu a função de sinalizar a disponibilidade do reforço para os animais de ambos os sexos. Portanto, não se identificou diferença nesse controle pelo antecedente em função do sexo dos sujeitos.

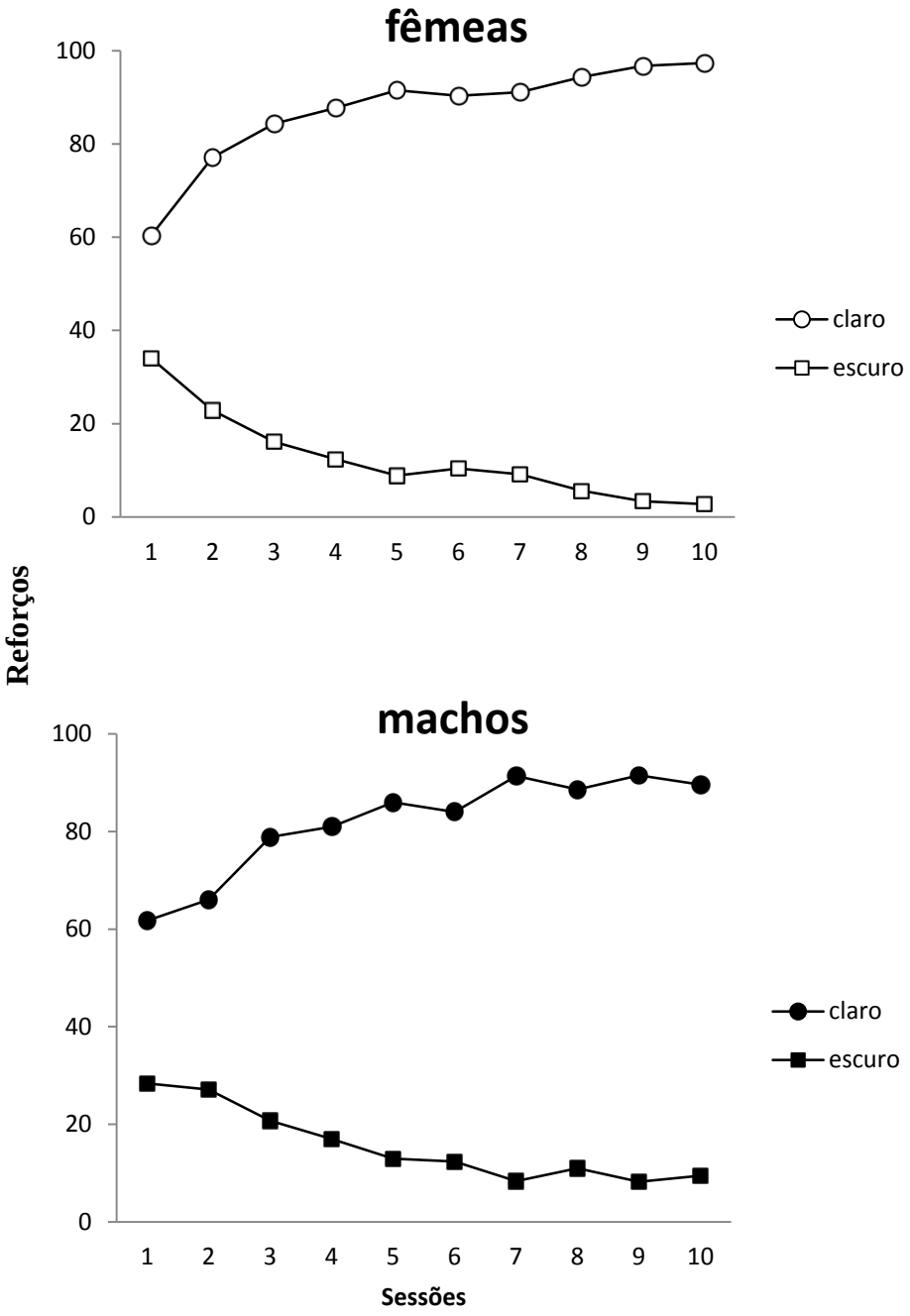

Figura 10. Número de reforços recebidos em cada sessão, por fêmeas (gráfico superior) e por machos (gráfico inferior) do Grupo Previsível e Controlável, quando a resposta foi emitida na presença e na ausência da luz.

A Figura 11 mostra que de um modo geral, a latência média da resposta de pressão à barra dado o acendimento da luz, de fêmeas e machos, diminui ao longo das sessões de exposição ao VI sinalizado. As curvas das latências médias mostram que as latências de fêmeas caíram um pouco mais do que as de machos, a latência média de fêmeas que era de 8,46 s na primeira sessão chegou a 2,02 s na última, enquanto a de machos que era de 7,45 s na primeira sessão foi para 3,23 s na última. Considerando que a luz sinaliza a disponibilidade do reforço, responder mais rapidamente ao acender a luz antecipa o acesso ao reforço dispensado naquela tentativa. Portanto, esses resultados sugerem fortemente que esses animais tiveram seu comportamento controlado pela luz de forma a otimizar temporalmente o acesso ao reforço.

Apesar de três machos não terem apresentado índices discriminativos $\geq$ 0,8 (ver Figura 9) a Figura 11 mostrou que, pelo menos dois deles (13 e 31), apresentaram latências da resposta de pressão à barra a partir do acendimento da luz decrescentes ao longo da exposição ao esquema de VI sinalizado, o terceiro (32) mostrou latências oscilando para cima e para baixo ao longo das sessões.

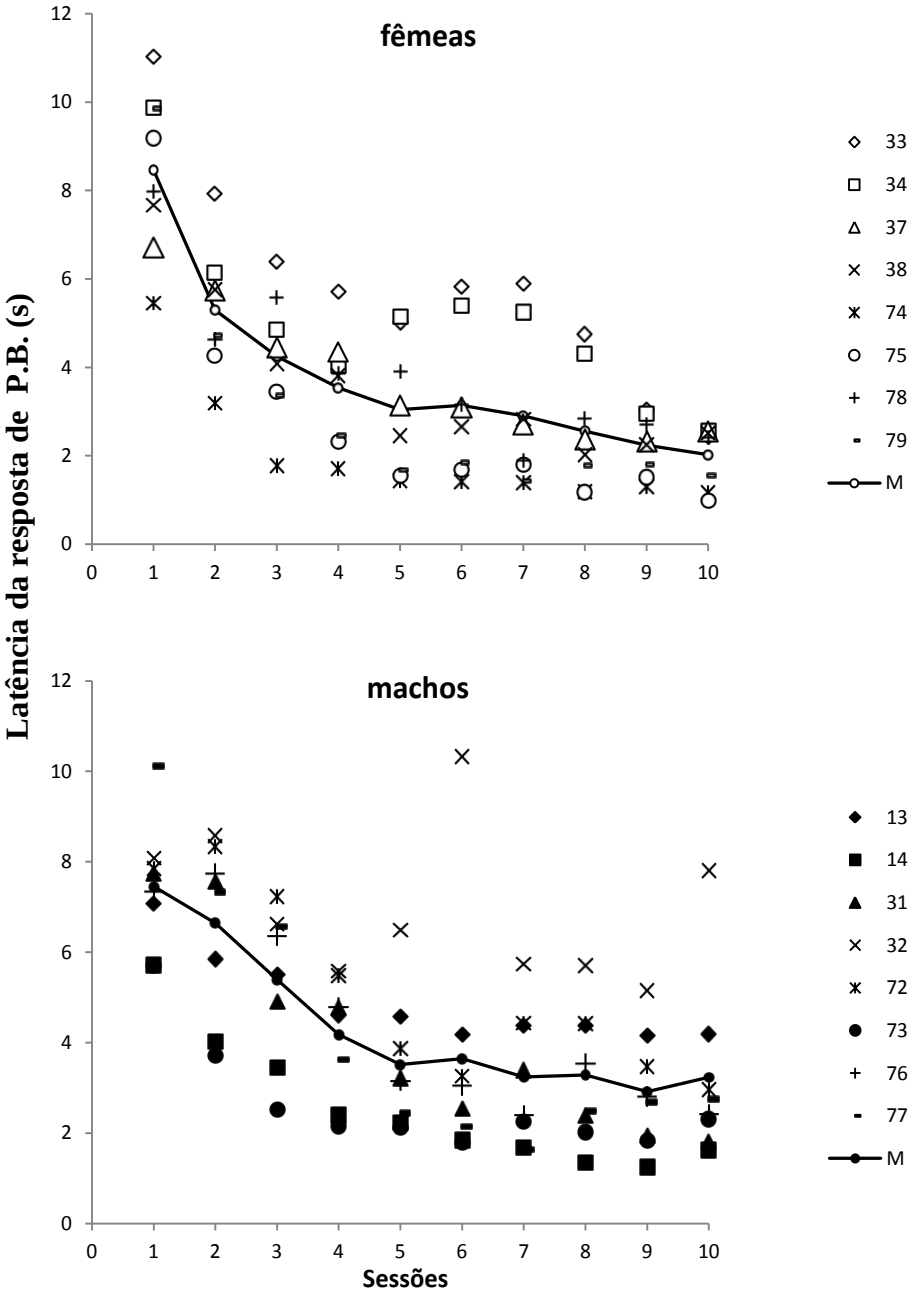

Figura 11. Latência média, em segundos, da resposta de pressão a barra a partir do acendimento da luz de fêmeas (gráfico superior) e de machos (gráfico inferior) do Grupo PC (Previsível e Controlável).

Tomados em conjunto, os dados das Figuras 8, 9, 10 e 11 sugerem que a luz adquiriu função de sinalizar a disponibilidade do reforço tanto para machos quanto para fêmeas. Porém o maior número de fêmeas que atingiu o ID≥ 8, em conjunto com a menor latência da RPB de fêmeas em comparação a de machos, além da maior taxa de

resposta e maior número de reforços no claro, sugerem que esse estímulo luminoso parece ter exercido maior controle sobre o comportamento de fêmeas em relação ao de machos.

Os resultados aqui descritos encontram respaldo na literatura. Millar (1975) também comparou a taxa de resposta de machos e fêmeas durante um procedimento de discriminação, utilizando um múltiplo VI extinção por 30 sessões. O esquema VI no múltiplo era sempre precedido de um tom de 8,000-Hz e 86 dB, enquanto a extinção era precedida de um ruído brando de 86 dB. Machos responderam em taxas significativamente maiores que fêmeas tanto no esquema de VI quanto no esquema de extinção, demonstrando assim um responder mais resistente à extinção. O índice discriminativo dos animais não foi exibido pelos autores, porém a maior taxa de resposta de machos durante a extinção, principalmente no início da exposição, sugere um menor índice discriminativo de animais desse sexo, corroborando os dados do presente estudo, caso a taxa de resposta no VI também não tenha aumentado.

Resultados diferentes aos aqui descritos foram também relatados. Van Haaren e Van Hest (1989) compararam o desempenho de fêmeas e machos em uma tarefa que envolvia discriminação utilizando estímulos visuais ou auditivos. Os animais foram expostos a um procedimento de discriminação utilizando tentativas discretas. Os estímulos visuais ou auditivos foram apresentados em ordem randômica com intervalo entre tentativas (ITI) de 40 s. Quando uma luz ou um som era apresentado continuamente, por 5 s, responder na barra da esquerda resultava na retração da barra e apresentação de comida. Por outro lado, responder na barra da direita ou não emitir resposta durante a tentativa resultava na retração das barras e o mesmo estímulo apresentado anteriormente era reapresentado até que a resposta correta ocorresse. Quando a luz ou um som era apresentado intermitentemente (0,25 s ligado e 0,25 s

desligado) por 5 s responder na barra da direita era seguido de comida e responder na barra da esquerda era consequenciado pela reapresentação da barra e reapresentação do estímulo até que a resposta correta fosse emitida. Foram realizadas 70 sessões de no máximo 45 minutos ou até que o animal recebesse 40 pelotas de alimento, o que acontecesse primeiro. O índice discriminativo de machos não diferiu do das fêmeas nem quando estímulos visuais foram utilizados, nem quando foram utilizados estímulos auditivos. Porém precisamos levar em conta que os autores apresentaram os resultados médios em blocos de 10 sessões, dessa forma não é possível realizar uma análise mais molecular, sessão a sessão, da diferença dos índices discriminativos de cada um dos sujeitos de ambos os sexos. Além disso, diferente dos dados do presente experimento, nem machos, nem fêmeas do estudo de Van Haaren e Van Hest (1989) atingiram ID maior ou igual que 0,8 nas 20 primeiras sessões. Diferenças na duração da sessão e no estímulo reforçador utilizado (100 gotas d´água vs. 45 pelotas de alimento ou 1 hora vs. 45 min) e também no tipo de procedimento de discriminação utilizado (operante livre vs. tentativa discreta) do presente experimento em contraposição ao estudo de Van Haaren e Van Hest, respectivamente, talvez possam explicar as diferenças nos resultados.

O estudo de Schulze (1976 – experimento 1) também não encontrou diferenças no comportamento de machos e fêmeas em uma tarefa discriminativa. Os animais foram expostos a modelagem de pressão à barra, seguida de duas sessões de reforçamento contínuo (CRF) da pressão à barra na barra da direita e, por fim mais duas sessões nas quais puxar uma haste no teto da caixa era reforçada enquanto a resposta de pressão à barra não era mais seguida de reforço. Nas próximas cinco sessões foi realizado um treino discriminativo em que os animais respondiam no esquema de VI no qual uma luz acima da barra ficava acessa ora na barra da direita ora na barra da esquerda. A luz foi

utilizada como estímulo discriminativo, ou seja, responder em qualquer uma das barras na qual a luz acima dela estava acessa no momento era seguido de reforço e responder na barra em que a luz estava apagada não tinha nenhuma consequência.

Os resultados mostraram que o número acumulado de respostas de pressão à barra foi maior em machos que em fêmeas, corroborando os dados do presente experimento. Porém, não foram observadas diferenças significativas entre os gêneros na porcentagem de respostas corretas (i.e., respostas seguidas de reforço) na tarefa discriminativa. Talvez se os animais desse estudo tivessem sido expostos a um número maior de sessões, como no presente experimento, fosse possível observar diferenças significativas no comportamento de machos e fêmeas expostos a tarefa discriminativa. O índice discriminativo de machos e fêmeas do presente experimento não era muito diferente se olharmos somente para os dados das primeiras 5 sessões. Assim, diferenças maiores vão aparecendo com o aumento do treino discriminativo, ou seja, ao final da exposição à fase de imunização (ver Figura 9).

As Figuras 12 e 13 mostram que tanto os animais expostos ao VT no qual a liberação da água era precedida de luz, quanto aos expostos ao VT em que a liberação da água não era sinalizada, diminuíram sua taxa de resposta a aproximadamente zero ao longo das sessões de exposição a esses esquemas. Os dados de machos e fêmeas foram muito parecido entre si nas duas figuras, tão parecidos que os dados das fêmeas na Figura 13 estão sobrepostos aos dados dos machos. Ratos fêmeas emitiram, na última sessão de exposição, 0,18 R/min no esquema de VT e 0,31 R/min no VT + luz e ratos machos emitiram 0,11 R/min no VT e 0,18 R/min no VT + luz na última sessão da fase de imunização.

Essa quase ausência de respostas mostra que o comportamento dos animais ficou sob controle da ausência de relação entre a resposta de pressão a barra e a liberação de

água. Aparentemente o fato da liberação da água ser precedida ou não de sinalização luminosa parece não ter exercido efeito diferencial na taxa de resposta dos sujeitos. Também não houve diferenças estatísticas entre as taxas de resposta de machos e fêmeas dos grupos expostos ao esquema de VT, seja ele sinalizado ou não.

A única diferença encontrada entre os resultados dos animais dos Grupos II e PI é que na primeira sessão de exposição os animais, de ambos os sexos, do Grupo II apresentaram taxas de resposta um pouco mais altas do que os do Grupo PI (II = 3,45 R/min machos e 3,42 R/min fêmeas; PI = 1,86 R/min machos e 1,74 R/min fêmeas). Portanto, quando a luz precedia a liberação do reforço a resistência a extinção foi menor.

Uma análise dos dados individuais mostra que a taxa de resposta média dos grupos é representativa das taxas individuais: os animais de ambos os sexos emitiram taxas de respostas próximas a zero. Taxas maiores, quando existiram, foram observadas nas primeiras sessões e diminuíram ao longo da exposição aos esquemas. Nenhum dos machos do Grupo II emitiu mais do que 1 R/min após a segunda sessão e nenhuma das fêmeas após a terceira sessão. Os machos do Grupo PI emitiram taxas sempre menores de 1,5 R/min após a quarta sessão de exposição. As fêmeas desse mesmo grupo apresentaram taxas sempre menores que 1,5 R/min a partir da quarta sessão.

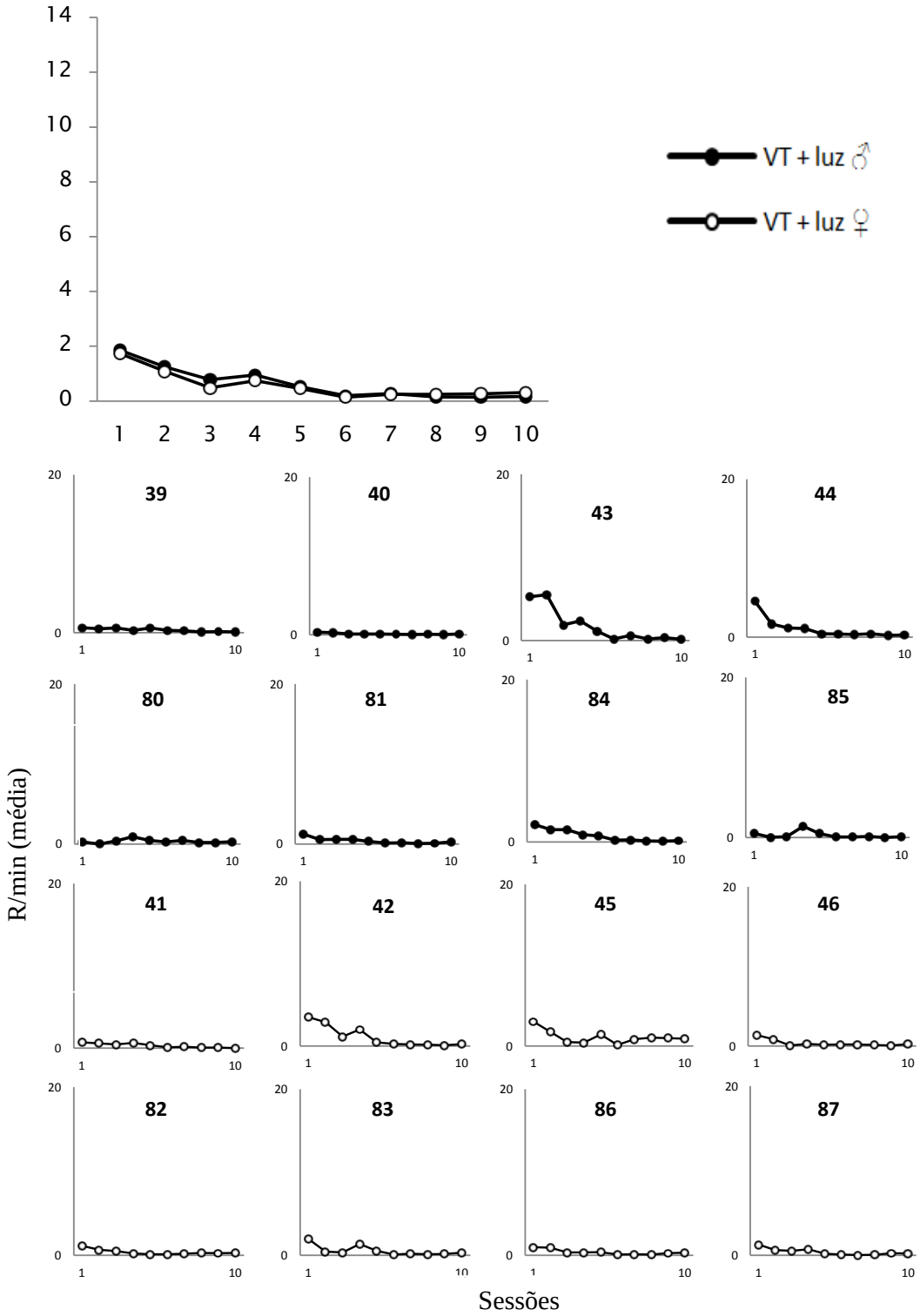

Figura 12. Taxa de respostas média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo PI (previsível e incontrolável). Os números nos gráficos inferiores correspondem a identificação dos sujeitos.

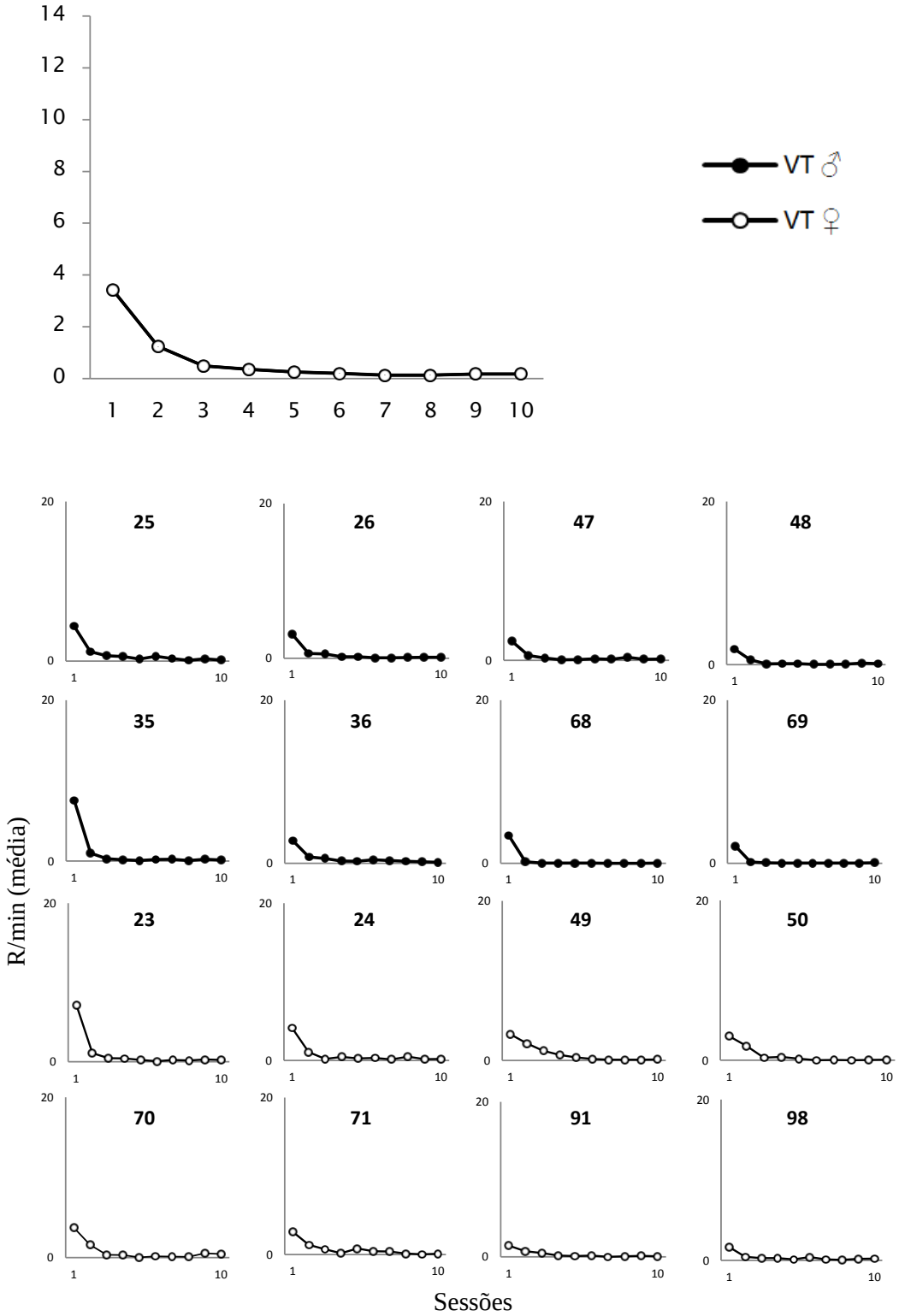

Figura 13. Taxa de respostas média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo II (imprevisível e incontrolável). Os números nos gráficos inferiores correspondem a identificação dos sujeitos.

O gráfico superior da Figura 14 mostra que os animais, de ambos os sexos, do Grupo I apresentaram altas latências médias da resposta de fuga durante toda a sessão de teste, as latências de machos e fêmeas foram muito semelhantes. Não houve diferenças estatísticas em relação ao sexo dos sujeitos, entre os blocos de latência e nem na interação entre sexo e latências.

Os dados individuais da latência da resposta de fuga, dos animais do Grupo I confirmam o dado médio: machos e fêmeas apresentaram altas latências de fuga ao longo de todas as tentativas de teste, sem diferença estatística. As exceções são os machos 5, 88 e 96 e a fêmea 99. O rato 5 apresentou baixa latência de fuga já no primeiro bloco de tentativas de teste, porém as latências aumentaram no 9º e 10º bloco e diminuíram nos dois blocos subsequentes. O rato 88 diminuiu sua latência de fuga nos dois últimos blocos de tentativas e o animal 96 apresentou uma diminuição na latência nos três últimos blocos, porém menos acentuada que o rato 88. Nesses casos não é possível dizer que esses animais desampararam e nem que aprenderam a resposta de fuga[6.] O mesmo raciocínio pode ser aplicado à fêmea 99 que diminuiu sua latência de fuga somente no último bloco de tentativas. Somente a exposição ao um maior número de tentativas poderia nos dizer se esses animais continuariam exibindo baixas latências e, portanto, exibiriam aprendizagem da resposta de fuga ou se aumentariam as latências nos blocos subsequentes apresentando desamparo.

6 Como foi dito no Estudo Piloto foi considerado que um animal aprendeu fuga quando ele apresentou latências finais menores que as iniciais e tendência decrescente nas latências de fuga ao longo da sessão.

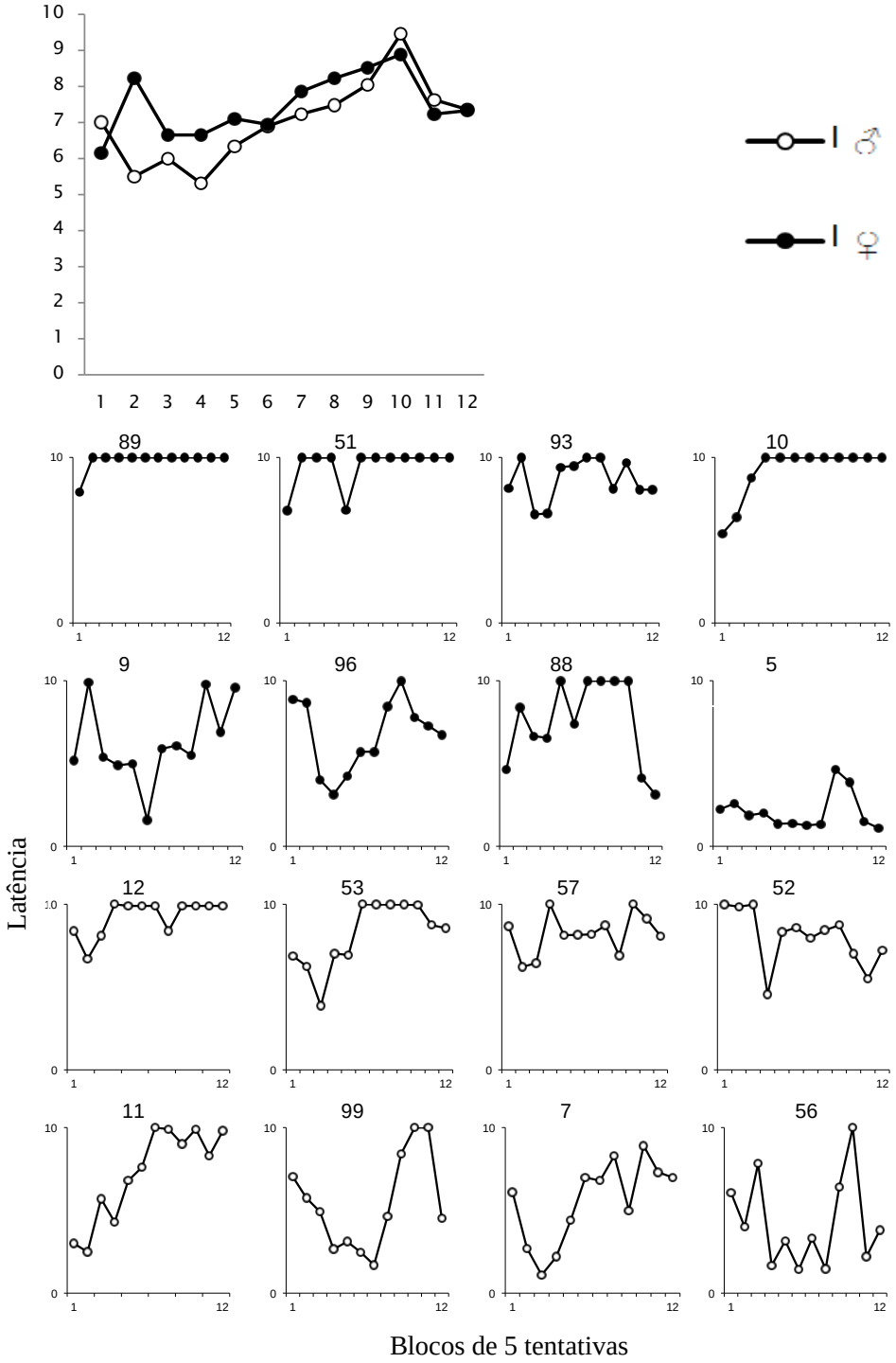

Figura 14. Latência média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo Choque Incontrolável. Os números nos gráficos inferiores correspondem a identificação dos sujeitos.

Conforme nos mostra o gráfico superior da Figura 15, a latência média dos animais do Grupo Não Choque diminuiu ao longo dos blocos de tentativas na sessão de teste, mostrando uma curva de aprendizagem da resposta de fuga. Houve diferença estatística entre os blocos de latência $F(11; 76) = 13,27$ $p < 0,05$ op = 1. As latências de machos e fêmeas foram muito semelhantes entre si, sem diferenças estatísticas, também não houve diferenças na interação entre os blocos de latência e o sexo dos sujeitos.

De forma geral, os resultados individuais de machos e fêmeas corroboram os dados médios mostrando latências de fuga decrescentes ao longo dos blocos de tentativas de teste. Os machos 92 e 29 e as fêmeas 55 e 59 apresentaram um considerável aumento latências de fuga em alguns blocos de tentativas do teste, porém as altas latências não se mantiveram nos demais blocos de exposição e a tendência geral de todos os blocos de latência do teste foi decrescente. Portanto, foi considerado que esses animais aprenderam fuga.

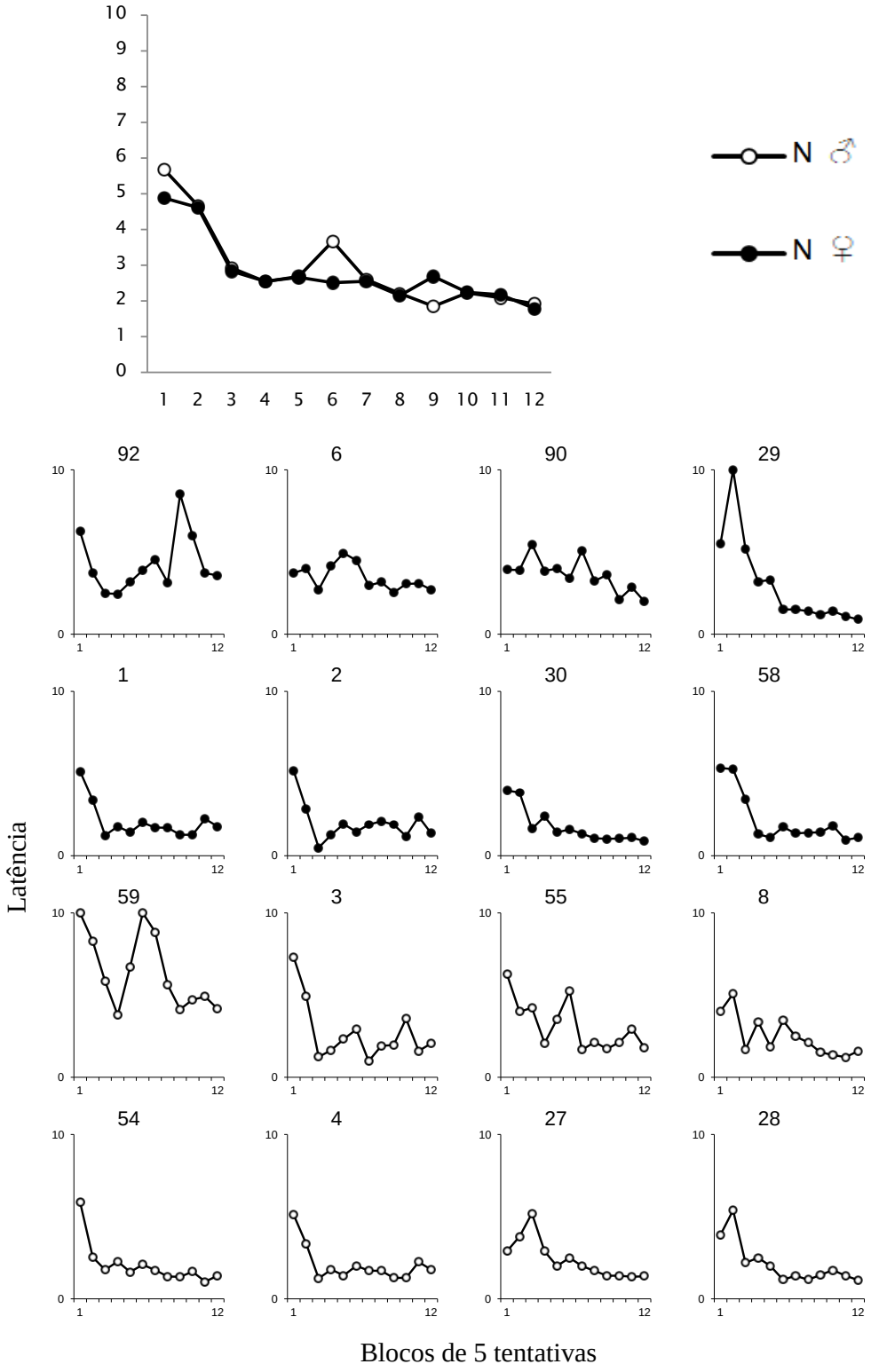

Figura 15. Latência média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo Não Choque. Os números nos gráficos inferiores correspondem a identificação dos sujeitos.

A Figura 16 resume as Figuras 14 e 15 e permite uma comparação direta das latências médias da resposta de saltar, de fêmeas e machos, dos Grupos N e I. Nessa figura é possível observar que as latências do primeiro bloco de tentativas do teste não variam muito entre os grupos, independente do sexo e a diferenciação da latência entre os Grupos I e N vai aumentando ao longo das tentativas de fuga no teste, embora seja bem clara a partir do terceiro bloco de tentativas.

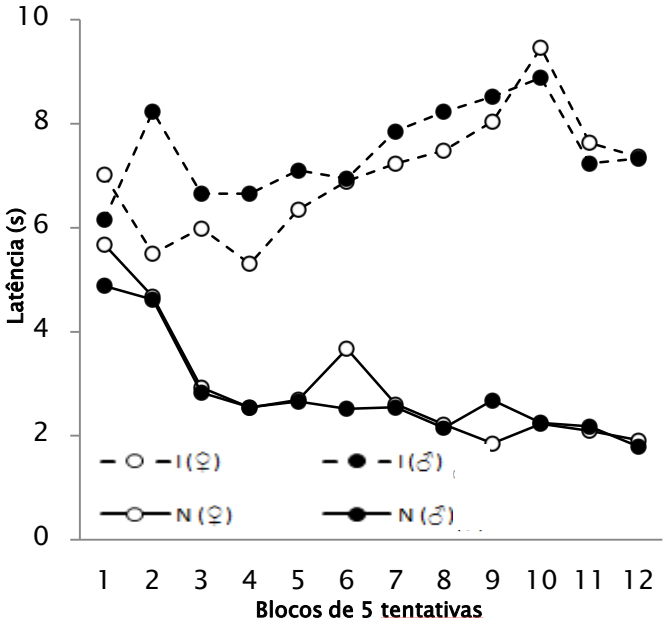

Figura 16. Latência média, em segundos, da resposta de saltar, de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) dos Grupos Choque Incontrolável (I) e Não choque (N).

Tomados em conjuntos, os dados das Figuras 14 e 16 replicam mais uma vez que tanto fêmeas quanto machos apresentam igualmente desamparo aprendido, corroborando resultados de estudos já realizados no nosso laboratório (Castelli, 2004; Damiani & Hunziker, 1991; Gouveia Jr., 2001; Yano & Hunziker, 2000) e outros (Heinsbroek, Haaren, Poll & Steenbergen, 1991), embora contradigam o que se tem mais frequentemente divulgado na literatura da área que afirmam que as fêmeas não apresentam, desamparo aprendido (e.g., Dalla et al.; 2008; Kirk & Bamplied, 1985;

Peterson et al; 1993; Shors et al., 2007; Steenbergen et al; 1989; Steenbergen et al.; 1990).

Essa diferença nos dados reforça a hipótese, discutida na introdução, de que a resposta utilizada no teste parece ser crítica para a observação ou não do desamparo em fêmeas (correr em FR 2 vs. Saltar). A diferença entre sexos observada na literatura parece se dever ao fato que fêmeas apresentam maior movimentação corporal eliciada pelo choque elétrico (Steenbergen et al., 1989), movimentação essa que afeta a latência média da resposta de correr fazendo com que ela seja menor que a do macho, em geral, podendo criar a falsa ideia de aprendizagem da resposta de fuga uma vez que esses estudos não analisam o processo, mas apenas a média geral das respostas. (conforme já analisado anteriormente).

O gráfico superior da Figura 17 nos mostra que a latência média da resposta de fuga no Grupo PC é menor nas fêmeas do que nos machos, porém sem diferença estatística. As fêmeas desse grupo apresentaram latências da resposta de fuga comparáveis com as do Grupo N nos quatro últimos blocos de tentativas de teste. Essa semelhança entre as latências nos permite dizer que fêmeas expostas a estímulos apetitivos previsíveis e controláveis, anteriormente à exposição a choques incontroláveis, imunizaram quanto aos efeitos do desamparo. Por outro lado, apesar da latência média dos machos também ter apresentado tendência decrescente, as latências finais de sujeitos desse sexo não foram tão baixas quanto àquelas das fêmeas e também não foram comparáveis aquelas dos machos do Grupo N em nenhum momento da sessão, elas se tratam de latências intermediárias entre a dos machos dos Grupos I e N. Houve diferenças estatísticas entre os blocos de latências $F(11; 76) = 5{,}96$ $p < 0{,}01$ op = 0,98. Não houve diferença estatística na interação entre as latências e o sexo dos sujeitos.

Quando analisamos os dados individuais de fêmeas (gráficos inferiores) podemos observar que eles corroboram com o dado médio: latências decrescentes de fuga ao longo das tentativas para todos os sujeitos desse sexo. O que aconteceu com alguns sujeitos do Grupo N (ver Figura 15) também se repetiu para algumas fêmeas do Grupo PC, suas latências aumentaram bastante em algumas tentativas e depois diminuíram novamente (e.g., 33, 38, 37, 78). Ainda assim é possível dizer que todas as fêmeas aprenderam fuga, pois todas elas apresentam latências finais menores do que as iniciais com tendência decrescente nas latências de fuga. Em outras palavras, apresentaram imunização em função do tratamento prévio com reforçadores positivos previsíveis.

Os dados individuais dos machos mostram que três dos oitos sujeitos do Grupo PC apresentaram altas latências de fuga ao longo de todas as tentativas (73, 13 e 31) com latências finais maiores ou iguais às inicias; um deles não se encaixa no padrão de aprendizagem nem de desamparo, pois apresenta latências oscilantes ao longo das tentativas (72) e os demais parecem ter aprendido fuga e, consequentemente terem sido imunizados contra os efeitos do desamparo (76, 77, 14 e 32). Portanto, é possível dizer que a exposição a estímulos apetitivos previsíveis e controláveis, anterior a exposição a choques incontroláveis, não foi suficiente para imunizar todos os machos, imunizou apenas quatro dos oito animais conforme descrito acima.

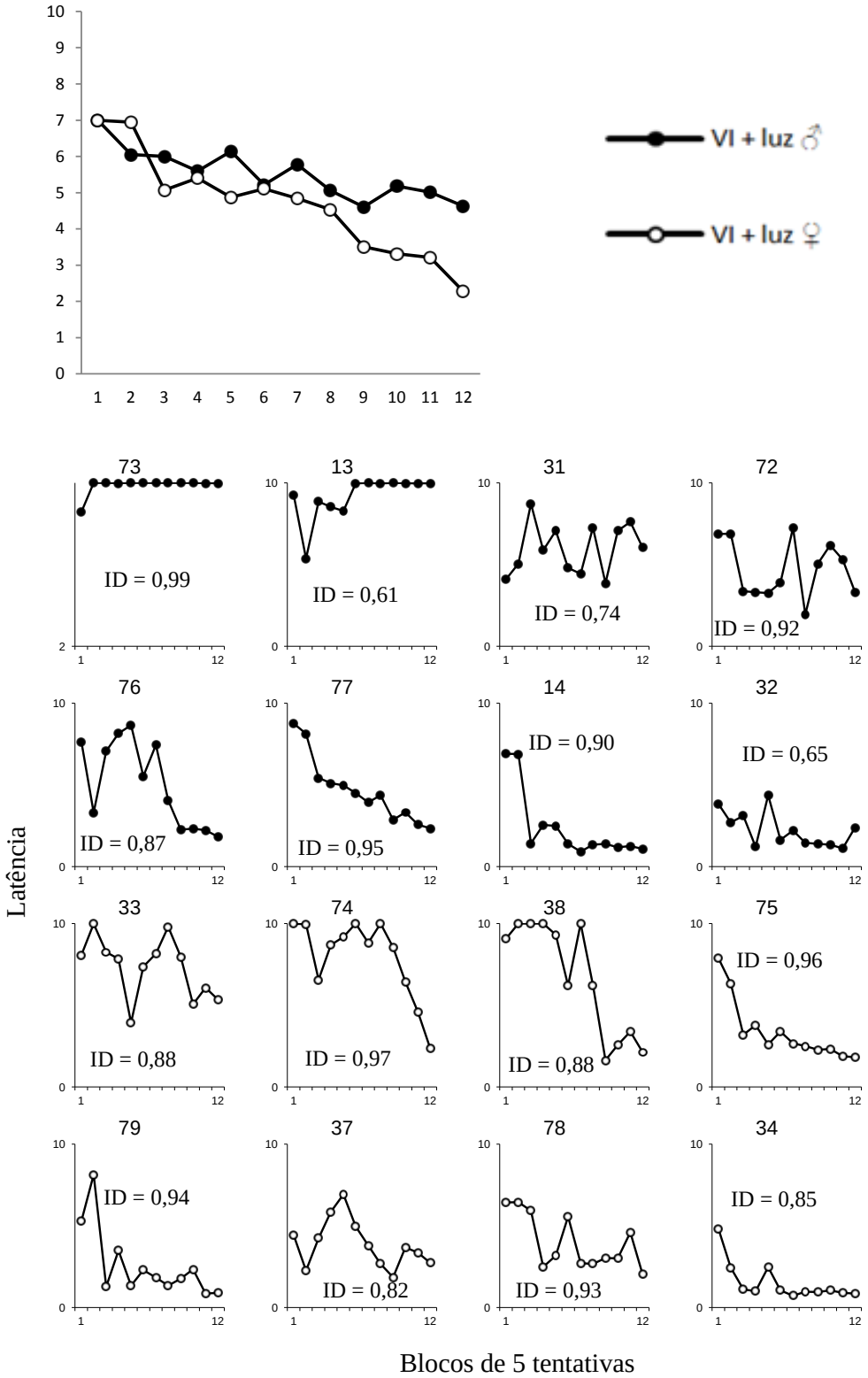

Figura 17. Latência média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de ratos machos (♂) e fêmeas (♀) do Grupo Previsível e Controlável. Os números nos gráficos inferiores correspondem a identificação dos sujeitos e o ID corresponde ao índice discriminativo de cada sujeito.

De forma geral, machos apresentaram IDs menores que fêmeas e menos sujeitos desse sexo do Grupo PC imunizaram. Todas as fêmeas apresentaram ID $\geq$ 0,8 na última sessão de exposição ao VI sinalizado e aprenderam fuga. Diante desses dados é possível questionar se existe alguma relação entre o ID e a aprendizagem de fuga. A Figura 17 nos mostra que apesar de alguns machos apresentarem altas latências e baixos IDs (e.g., 13) e baixas latências e altos IDs (e.g., 77 e 14), não houve relação entre os índices discriminativos e a aprendizagem de fuga para sujeitos desse sexo. Por exemplo, o macho 32 aprendeu fuga e seu ID foi de 0,65, o macho 73 apresentou altas latências durante a sessão e seu ID foi de 0,99.

O gráfico superior da Figura 18 mostra que machos do Grupo IC apresentam altas latências médias, latências essas que são comparáveis aquelas dos machos do Grupo I. Essas altas latências indicam que a exposição a estímulos apetitivos imprevisíveis e controláveis, anterior ao tratamento com choques incontroláveis, não imuniza machos contra os efeitos do desamparo. Por outro lado, as fêmeas apresentam latências consideravelmente menores do que as dos machos, elas emitem a resposta de fuga, mas não diminuem as latências ao longo das tentativas de fuga do teste. As latências médias de fêmeas se tratam de latências intermediárias entre os Grupos I e N. Houve diferença estatística entre os dados de fêmeas e machos desse grupo $F(11;76) = 8,359$ $p < 0,05$ op= 0,8. Não houve diferenças estatísticas entre os blocos de latência e nem na interação entre as latências e o sexo dos sujeitos.

Os dados individuais dos machos mostram que 6 dos 8 animais apresentam um padrão claro de desamparo, com altas latências ao longo das tentativas de fuga. O rato 22 não se encaixa nem no padrão de desamparo nem do padrão de aprendizagem, uma vez que ele apresenta latências decrescentes nos dois últimos blocos do teste, porém da última sessão de cada

esse animal já tinha apresentado baixas latências anteriormente (3º e 4º bloco de tentativas) e voltou a aumentar durante a sessão e o rato 61 parece ter aprendido fuga, pois apresentou latências decrescentes ao longo das tentativas.

Os dados individuais das fêmeas mostram que três delas apresentaram padrão de desamparo aprendido com altas latências durante toda a sessão de teste ou com latências crescentes ao longo dos blocos de tentativas de fuga (63, 62 e 20). Uma delas apresentou latência de fuga intermediária oscilando para baixo e para cima sem padrão de desamparo ou aprendizagem, com latências finais bem próximas as iniciais (67) e as demais aprenderam a resposta de fuga, pois apresentaram latências decrescentes ao longo da exposição às tentativas de teste (66, 15, 16 e 19).

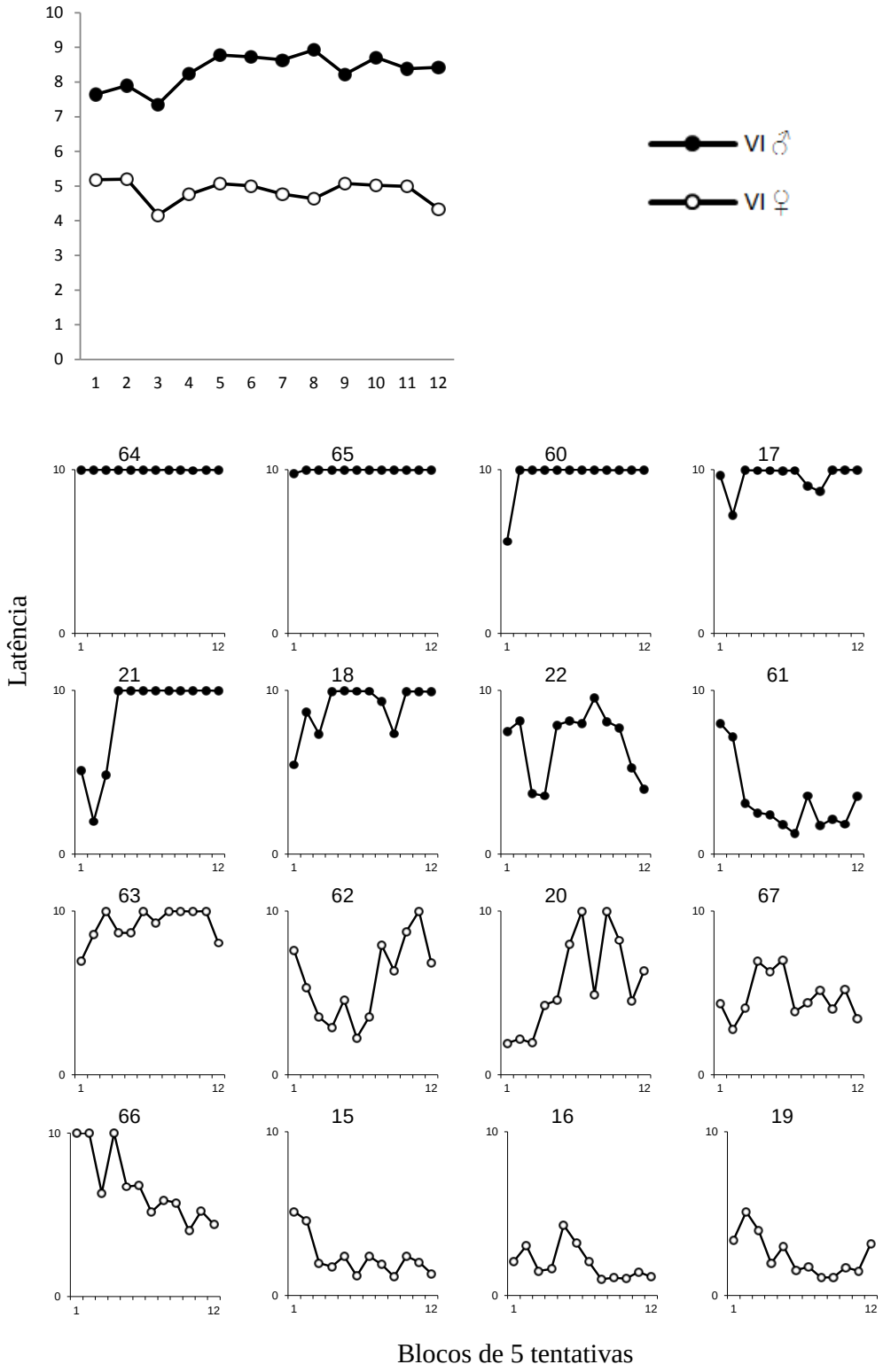

Figura 18. Latência média do Grupo Imprevisível e Controlável (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de machos e fêmeas. Os números nos gráficos inferiores correspondem a identificação dos sujeitos.

Portanto, as latências intermediárias observadas no dado médio das fêmeas desse grupo não são tão altas quanto àquelas dos animais do Grupo I e nem tão baixas quanto dos animais do Grupo N, elas refletem a diversidade intragrupo dos dados individuais descritos acima. Ou seja, quando aproximadamente metade dos animais não aprende fuga e apresenta altas latências e o restante dos animais aprende fuga e apresenta baixas latências, o resultado médio são latências intermediárias.

Tomados em conjunto os resultados da Figura 18 sugerem que a exposição a estímulos apetitivos imprevisíveis e controláveis (IC), anterior ao tratamento com choques imprevisíveis e incontroláveis (II) não imuniza machos que, na sua maioria apresentou altas latências de fuga, nem foi suficiente para imunizar todas as fêmeas.

O gráfico superior da Figura 19 mostra que a latência média da resposta de fuga, de machos e fêmeas do Grupo PI diminuiu ao longo das tentativas de teste (em machos de 6,84 s no primeiro bloco para 5,25 s no último e em fêmeas de 6,49 s no primeiro bloco de 3,94 s no último). As latências médias dos sujeitos desse grupo, de ambos os sexos, são intermediárias entre aquelas apresentadas pelos sujeitos dos Grupos I e N. Não houve diferenças estatísticas entre machos e fêmeas desse grupo, entre os blocos de latências e nem na interação entre o sexo e os blocos de latência.

Os dados individuais mostram que a exposição a estímulos apetitivos previsíveis, porém incontroláveis (PI) foi suficiente para imunizar apenas metade dos machos e cinco das oito fêmeas desse grupo. A outra metade dos machos apresentou latências altas com padrão claro de desamparo (80, 81, 44, 40) assim como as três fêmeas restantes (83, 41 e 86). Portanto, assim como os dados das fêmeas do Grupo IC, os dados médios da latência desse grupo envolvem grande diversidade intragrupo. O procedimento PI foi suficiente para imunizar apenas alguns machos e fêmeas.

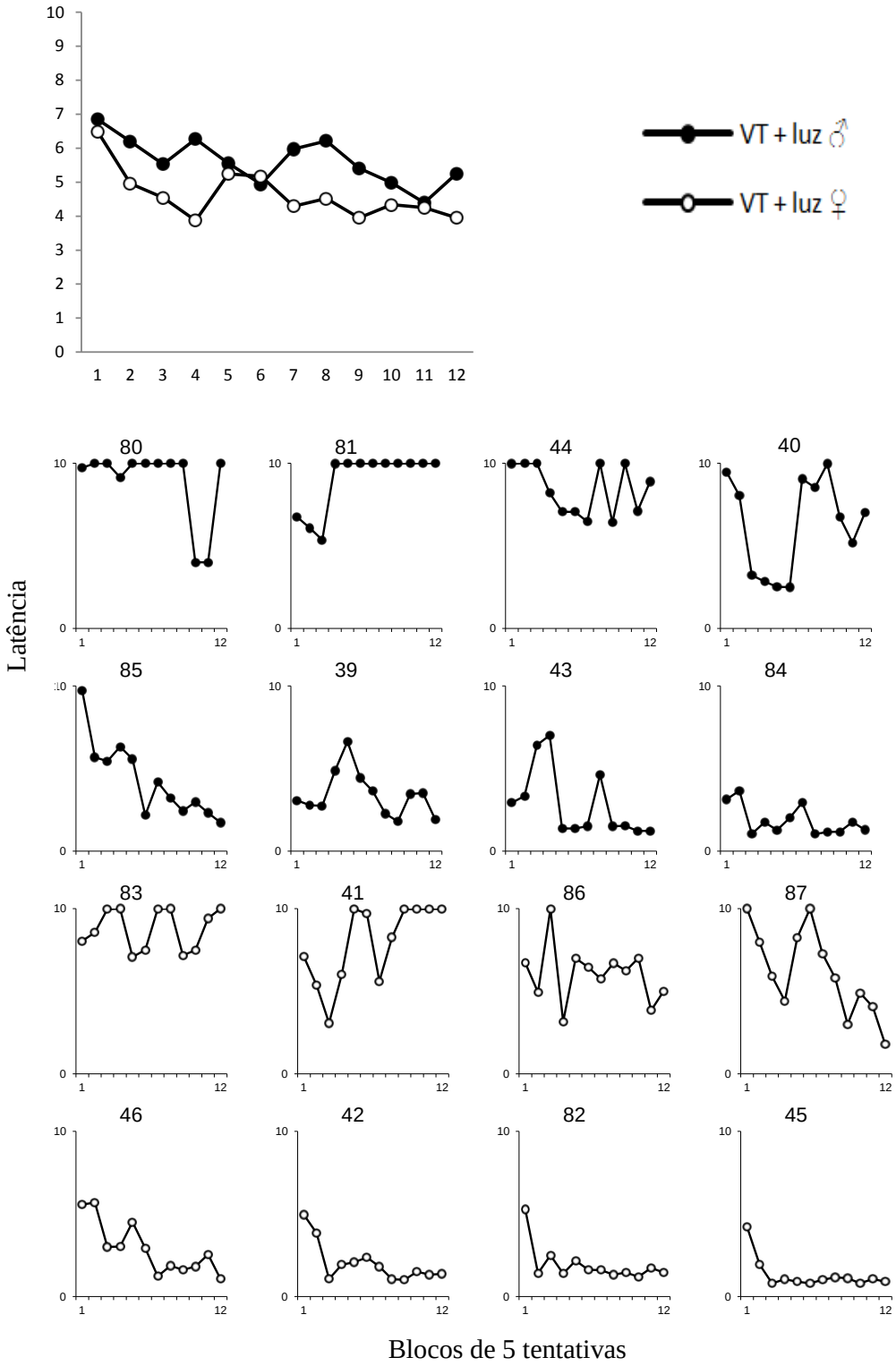

Figura 19. Latência média do Grupo Previsível e Incontrolável (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de machos e fêmeas. Os números nos blocos inferiores correspondem a identificação do sujeito.

O gráfico superior da Figura 20 mostra que as latências médias dos machos do Grupo II tiveram uma pequena diminuição ao longo das tentativas de teste (de 6,63 s no primeiro bloco de tentativas para 4 s no último). Por outro lado, as latências das fêmeas tiveram um leve aumento (de 6,60 s no primeiro bloco de tentativas para 6,83 s no último), porém sem diferença estatística entre os sexos, entre os blocos de latências e nem entre na interação entre os blocos de latência e os sexos. As maiores diferenças entre as latências médias de machos e fêmeas apareceram a partir do 10º bloco de tentativas.

A latência média dos machos do Grupo II segue a mesma lógica das latências dos animais de ambos os sexos do Grupo PI, elas se tratam de latências intermediárias entre os Grupos I e N. Por sua vez, a latência média das fêmeas foi alta e bem parecida com as latências dos animais do mesmo sexo do Grupo I (ver Figura 14).

Os resultados individuais dos machos do Grupo II mostram que dois deles apresentaram padrão típico de desamparo com altas latências de fuga (68 e 26), dois não apresentaram padrão nem de desamparo nem de aprendizagem: para um deles as latências oscilaram, para cima e para baixo, durante toda a sessão (48) e para o segundo as latências diminuíram apenas nos três últimos blocos de tentativas de fuga (69). Os demais aprenderam a resposta de fuga no teste, diminuindo a latências ao longo das tentativas (25, 35, 36 e 47).

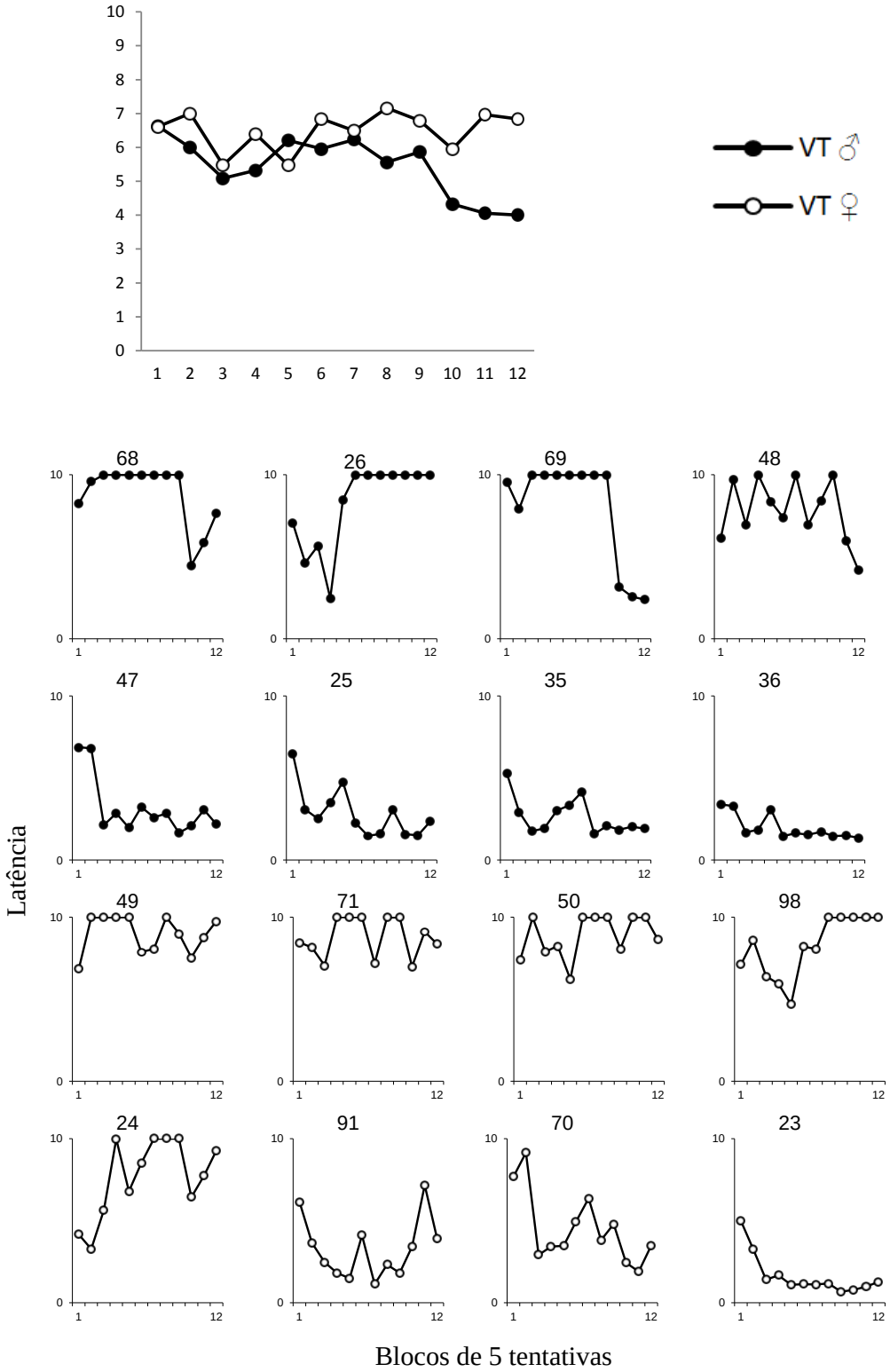

Figura 20. Latência média do Grupo Imprevisível e Incontrolável (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) de machos e fêmeas. Os números nos gráficos individuais correspondem a identificação dos sujeitos.

Por sua vez, os resultados individuais de fêmeas desse mesmo grupo mostraram que seis das oito fêmeas apresentaram padrões de desamparo com altas latências da resposta de fuga e/ou latências crescentes (49, 71, 50, 98, 24 e 91), as duas fêmeas restantes aprenderam a resposta de fuga apresentando latências decrescentes dessa resposta (70 e 23). Portanto, o padrão decrescente da latência média de machos se deve ao maior número de sujeitos desse grupo que aprenderam fuga em comparação com fêmeas que apresentaram latência média crescente. Os dados individuais nos mostram, mais uma vez, que as latências médias intermediárias exibidas por machos desse grupo se devem a diversidade intragrupo.

A Figura 21 resume os dados médios das latências das fêmeas de todos os grupos. Nessa figura é possível observar que fêmeas do Grupo PC apresentaram latências nos blocos finais muito próximas aquelas das fêmeas do Grupo N e, portanto, foram imunizadas contra o desamparo. As latências de fuga iniciais das fêmeas do Grupo PC são mais altos do que as latências de fêmeas do Grupo N. Essa diferença entre os grupos parece ser devido à história de incontrolabilidade que o Grupo PC foi exposto. Por sua vez, as fêmeas expostas a estímulos somente previsíveis (P) ou somente controláveis (C) apresentaram latências intermediárias entre os animais dos Grupos I e N, mostrando que a previsibilidade ou a controlabilidade isoladamente não são suficientes para imunizar todos os sujeitos. Por último, as fêmeas do Grupo II apresentaram altas latências médias, latências essas que são comparáveis aquelas das fêmeas do Grupo I. Houve diferenças estatísticas entre os grupos $F(5,42) = 3,07$ $p < 0,05$ e op = 0,83 e o *post hoc* mostrou que essas diferenças foram entre os Grupos I e N, e entre os Grupos N e II.

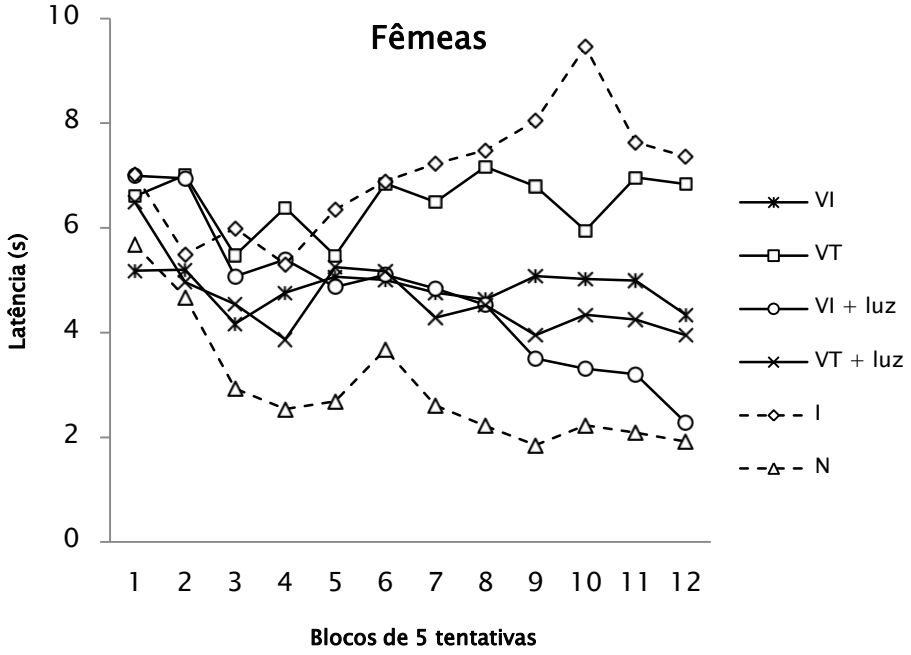

Figura 21. Latências média, em segundos, da resposta de saltar de um compartimento para o outro da *shuttlebox* de fêmeas de todos os Grupos: Não choque (N), Choque incontrolável (I), Previsível e controlável (VI + luz), Previsível e incontrolável (VT + luz), Imprevisível e controlável (VI) e Imprevisível e incontrolável (VT).

Os resultados globais das fêmeas sugerem que a previsibilidade e a controlabilidade dos estímulos apetitivos, atuando em conjunto, são variáveis críticas para imunização em relação ao desamparo pelo reforçamento positivo. O porquê de algumas fêmeas dos Grupos IC e PI terem imunizado, e outras não, é desconhecido e necessita ser mais bem investigado.

A Figura 22 resume os dados da latência média da resposta de fuga de machos de todos os grupos. A latência dos machos do Grupo IC foi tão alta quanto a dos machos do Grupo I, portanto a exposição a estímulos apetitivos imprevisíveis e controláveis, anterior ao tratamento com choques imprevisíveis e incontroláveis, parece não ter nenhum efeito na latência de fuga de machos. Além disso, machos dos Grupos PC, II e PI apresentaram latências intermediárias entre os Grupos I e N, ou seja, somente alguns machos que foram expostos a estímulos apetitivos controláveis e previsíveis (CP) ou

estímulos somente previsíveis (P) ou ainda incontroláveis e imprevisíveis (II) imunizam contra o desamparo.

Houve diferenças estatísticas entre os grupos $F(5;42) = 4,69$, $p < 0,01$ e op = 0,95, o *post hoc* mostrou que as diferenças estão entre os Grupos I e N e entre os Grupos N e IC. A causa das diferenças intragrupos de machos que tem como consequência o fato de alguns machos imunizarem e outros apresentarem desamparo não é clara e necessita ser mais bem investigada. O que fica demonstrado aqui é que a previsibilidade e a controlabilidade não parecem ser variáveis críticas para a imunização de machos com estímulos apetitivos, diferente das fêmeas.

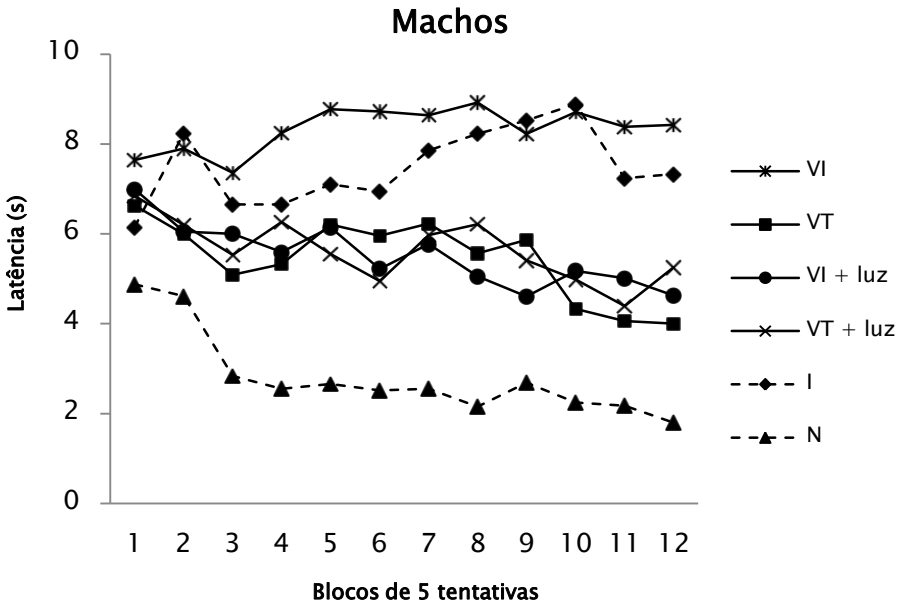

Figura 22. Latência média, em segundos, da resposta de saltar de um compartimento para o outro da *shuttlebox* de machos de todos os grupos: Não choque (N), Choque incontrolável (I), Previsível e controlável (VI + luz), Previsível e incontrolável (VT + luz), Imprevisível e controlável (VI) e Imprevisível e incontrolável (VT).

Mesmo utilizando estímulos diferentes (som x luz) em fases diferentes da pesquisa, os dados desse experimento replicam os dados de Castelli (2004) em que a

previsibilidade em conjunto com a controlabilidade parece uma variável crítica para fêmeas, mas não para machos.

O número de sessões e o número aproximado de reforços recebidos no presente estudo foram similares ao de Hunziker, Manfré e Yamada (2006) no qual ratos machos expostos a contingências de variação ou repetição reforçadas positivamente apresentaram imunização ao desamparo. Além disso, tanto as contingências utilizadas, na fase de imunização, no presente estudo quanto àquelas utilizadas no estudo de Hunziker, Manfré e Yamada (2006) são intermitentes; a maior diferença entre elas é que o presente estudo utilizou esquemas de intervalo enquanto o de Hunziker, Manfré e Yamada utilizou esquemas de razão. Porém, o estudo de Hunziker e Lima (2006) também utilizou diferentes esquemas de razão, na fase de imunização, com reforçamento positivo e, diferente do estudo de Hunziker, Manfré e Yamada não conseguiu imunizar ratos machos contra os efeitos do desamparo. Portanto, o porquê de ratos machos do presente estudo não imunizarem e os ratos machos do estudo de Hunziker, Manfré e Yamada terem imunizado ainda é uma questão em aberto que precisa ser mais bem investigada em estudos posteriores.

Apesar do número de sessões utilizado nesse experimento ter sido maior do que o utilizado em outros estudos em que machos não foram imunizados utilizando reforçamento positivo na fase de imunização (e.g., Mestre & Hunziker, 1996 e alguns grupos do estudo de Hunziker & Lima, 2006) essa manipulação não foi suficiente para imunizar todos os machos contra o desamparo. Porém, o presente estudo não manipulou diretamente o número de sessões da fase de imunização a fim de verificar se ela é uma variável crítica para imunização com reforçamento positivo para machos. Essa pode ser uma sugestão para estudos futuros.

Uma possibilidade para tentar explicar a diversidade intragrupo de ratos machos e fêmeas são os padrões de resposta no teste de fuga. Como já foi descrito anteriormente, foram encontrados dois padrões de resposta no teste: o chamado de déficit motivacional e o chamado de déficit cognitivo. Gehm, Porto e Hunziker (artigo não publicado) demonstraram que ratos machos respondem diferentemente à reversão do desamparo com imipramina a depender do padrão de resposta apresentado por ele no teste de fuga. Animais com déficit cognitivo revertem o desamparo com a administração de imipramina, droga essa que não tem nenhum efeito nas latências de fuga dos animais que apresentam padrão de déficit motivacional. Talvez a imunização do desamparo também possa depender do padrão que o sujeito irá emitir do teste de fuga. Conforme pode ser observado nas latências de fuga dos sujeitos do Grupo Choque Incontrolável (Figura 14), o padrão de déficit motivacional é observado com frequência muito maior em machos do que em fêmeas. Essa pode ser uma possibilidade de explicação para as diferenças de resultados entre os sexos aqui observadas. Porém essa é uma hipótese difícil de ser verificada uma vez que não é possível prever que padrão o sujeito que foi exposto a choques incontroláveis no tratamento irá responder no teste.

Concluindo, a previsibilidade e a controlabilidade dos estímulos apetitivos na fase de imunização, atuando em conjunto, parecem ser variáveis importantes para imunizar fêmeas contra o desamparo. Todas as fêmeas expostas a estímulos previsíveis e controláveis na fase de imunização aprenderam a resposta de fuga no teste. Portanto, para fêmeas, a imunização do desamparo aprendido é função da previsibilidade e da controlabilidade de estímulos apetitivos. Por outro lado, essas variáveis não tem o mesmo efeito no comportamento de machos, que apesar de terem sido expostos a estímulos previsíveis e controláveis na fase de imunização, essa exposição não foi suficiente para que todos os animais desse sexo aprendam a resposta de fuga no teste.

Portanto, a imunização do desamparo em função da previsibilidade e controlabilidade, utilizando reforçamento positivo, é também função do sexo do sujeito.

São necessárias mais investigações para identificar as variáveis responsáveis pela imunização com reforçamento positivo em machos, isoladamente ou em conjunto com a previsibilidade e a controlabilidade dos estímulos apetitivos.

Considerações Adicionais

O fato de machos e fêmeas expostos a exatamente as mesmas contingências apresentarem latências de fuga diferentes chama atenção para a importância de fazer estudos com sujeitos fêmeas com enfoque teórico da Análise do Comportamento, que tem uma longa tradição em pesquisas com machos. A fim de investigar a frequência de pesquisas com fêmeas foi realizada uma busca no JEAB, principal periódico de estudos experimentais da Análise do Comportamento. Os resultados dessa busca mostraram que em mais de 4.000 trabalhos publicados, apenas 39 tem a palavra fêmea no título, resumo ou palavrachave. Dentre eles, em cinco os sujeitos não eram fêmeas, em três deles fêmeas eram oferecidas como reforço (comportamento sexual); em outro estudo, rostos de fêmeas eram apenas os estímulos manipulados (estudo sobre equivalência de estímulos) e em outro o assunto era teórico, discutindo comportamento sexual de diferentes espécies. Dos estudos restantes, em 16 deles humanos eram os participantes, em 12 os sujeitos eram ratos, em quatro os sujeitos eram macacos, em um deles eram peixes e em outro pombos.

Essa escassez de estudos comportamentais com fêmeas não é restrita a área de Análise do Comportamento: na área biomédica mudanças recentes estão tentando reverter esse quadro. Foi somente a partir da década de 90 que as leis norte-americanas exigiram a inserção de fêmeas em estudos clínicos e pré-clínicos da área de saúde. Até

essa data, a maioria deles contava com sujeitos quase que exclusivamente do sexo masculino. Mudanças similares foram realizadas no mesmo período na Europa e na Austrália fazendo com que aumentasse o número de fêmeas nesses estudos e consequentemente aumentasse também o conhecimento sobre as diferenças de sexo no desenvolvimento e no tratamento de doenças (Dalla et al., 2012).

A inserção de fêmeas nos estudos experimentais analíticos comportamentais também deveria ser valorizada a fim de identificarmos em que contingências existem diferenças no comportamento de machos e fêmeas. Afinal, queremos entender de comportamento no geral ou apenas do comportamento de indivíduos do sexo masculino? As diferenças existem em algumas situações e se faz necessário identificá-las.

A maior parte das diferenças entre machos e fêmeas expostos exatamente a mesma contingência ocorrem devido aos diferentes hormônios sexuais. Portanto, quando são observadas diferenças no comportamento em função do sexo é preciso buscar suas razões. No geral, essa busca dá-se pelo controle hormonal, sendo a castração um dos procedimentos utilizados com animais em laboratório (McCarthy et at., 2012).

O Estudo Piloto da presente tese demonstrou que a fase do ciclo estral não influencia a latência de fuga de fêmeas que foram anteriormente expostas a estímulos aversivos incontroláveis. Fêmeas apresentaram altas latências de fuga independente da fase do ciclo que estavam durante o tratamento com choques incontroláveis. Portanto, as diferentes concentrações de hormônios sexuais femininos em ratos no momento em que são expostas ao tratamento com choques incontroláveis aparentemente não influenciaram suas latências de fuga no teste, porém não sabemos se a manipulação desses hormônios poderia ter alguma influencia na imunização do desamparo, conforme

visto aqui entre machos e fêmeas do Grupo IC. Decidiu-se, portanto, pela execução do Experimento 2, a partir dos resultados do Experimento 1, para elucidar essa questão. Assim, utilizou-se a mesma contingência do Grupo IC em que foram observadas as maiores diferenças entre machos e fêmeas no Experimento 1, porém manipulando-se a castração das fêmeas.

Experimento 2

Método

Sujeitos

Participaram desse experimento 14 ratos fêmeas Wistar, experimentalmente ingênuas e com aproximadamente 90 dias no início do experimento. Os sujeitos foram mantidos em biotério com as mesmas especificações descritas no Estudo Piloto e no Experimento 1.

Equipamento

As caixas experimentais, computadores, estimuladores de choque e os softwares para registro utilizados foram os mesmos do Experimento 1, além do desumidificador e do hidrômetro.

Procedimento

Os ratos fêmeas foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos, cada um composto por sete animais: 1) Castradas e 2) *Sham*. Os sujeitos do Grupo Castradas foram submetidas à cirurgia de ovariectomia bilateral, a forma na qual a cirurgia foi realizada será descrita abaixo. Os anestésicos pré-cirúrgicos utilizados foram Ketamina (70mg/kg), em combinação com a Xilacina (10mg/kg), através de injeção intraperitonial

(i.p.). Aproximadamente cinco minutos após a injeção de anestésicos era realizado o teste do reflexo da pata e da cauda a fim de verificar se o animal apresentava alguma sensibilidade a estímulos táteis (e, supostamente, a estímulos dolorosos). Esses testes consistiam em pressionar suavemente, com os dedos, a ponta da cauda e a pata do animal; caso houvesse alguma sensibilidade ele apresentaria qualquer tipo de mobilidade corporal. Aguardou-se até que o animal permanecesse totalmente imóvel frente a essa estimulação para iniciar a cirurgia.

Antes do início da cirurgia, a localização do rim do animal foi identificada, o pêlo corporal da pele logo acima do rim foi retirado, a pele foi limpa com uma solução hidroalcoólica e uma incisão na pele desse local foi realizada utilizando tesouras cirúrgicas. Uma incisão no músculo também foi realizada a fim de se obter acesso a cavidade abdominal. Uma vez na cavidade, o tecido gorduroso que envolve o ovário foi identificado e retirado utilizando pinça e tesoura cirúrgica, juntamente com o ovário. Para isso, uma pinça dentada foi posicionada logo abaixo do ovário e fechada posibilitando que o ovário e o tecido gorduroso fossem cortados. Após o corte a trompa foi amarrada utilizando uma linha cirúrgica *catgut* e devolvida a cavidade abdominal do animal, o músculo e a pele foram costurados com uma agulha curva e com a mesma linha cirúrgica que é absorvível pelo organismo. Por último, a pele costurada foi limpa com o antiséptico *Povidine®*, tirando os resíduos de sangue. O mesmo procedimento foi realizado em ambos os lados do animal retirando assim os dois ovários. Caso o animal apresentasse qualquer mobilidade corporal durante a cirurgia um reforço do anestésico era administrado no peritônio com a metade da dose aplicada no início da cirurgia.

Após a cirurgia o analgésico Meloxican (0,15%, na dosagem de 0,02 ml) foi administrado através de injeção intramuscular (i.m.), monitorando-se a movimentação corporal, a cicatrização do corte cirúrgico e o apetite do animal [7].

Foi considerado que o animal tinha se recuperado da cirurgia quando o corte cirúrgico estava totalmente cicatrizado e havia pêlos crescendo no local onde foram cortados. Issso ocorreu, aproximadamente, entre 10 a 15 dias após a cirurgia.

Uma semana após a cirurgia, quando os cortes estavam bem cicatrizados, foi iniciado o procedimento de lavado vaginal (conforme descrito no Estudo Piloto a fim de confirmar a castração, ou seja, se o animal não apresentava mais ciclos hormonais). O monitoramento do lavado vaginal teve a duração de cinco dias, que é o tempo suficiente para observar um ciclo completo.

Os animais do Grupo Sham passaram por um processo semelhante ao da cirurgia da castração, com a única diferença que os ovários dos sujeitos não foram retirados. O controle do ciclo hormonal também foi realizado para esse grupo uma semana após a cirurgia, com a duração de cinco dias.

Quando os animais de ambos os grupos se recuperaram da cirurgia, segundo o critério descrito anteriormente, foi iniciada a privação de água por um período de 40 horas. Após essa privação, os animais dos dois grupos foram expostos ao mesmo procedimento do Grupo Imprevisível e Controlável (IC) descrito no Experimento 1. Um resumo do procedimento do Experimento 2 é apresentado na Tabela 3.

---

7 Os medicamentos anestésicos e analgésicos utilizados na presente pesquisa, assim como suas respectivas dosagem são os recomendados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais.

A Tabela 3 resumo do procedimento do Experimento 2.

Grupos	**Cirurgias**	**Recuperação da cirurgia**	**Treino**	**24 hrs**	**Imunização (10 sessões)**	**24 hrs**	**Tratamento**	**24 hrs**	**Teste**
Castradas	Castração		Modelagem da resposta de pressão à barra + 200 respostas de P.B. em CRF		VI 30 s		60 Choques incontroláveis 1mA 10s fixos		60 choques 1mA 10 s max R fuga saltar
Sham	Simulação da cirurgia								

Resultados e discussão

Na fase de imunização os resultados foram analisados quanto à taxa de respostas média (R/min). Por sua vez, no teste foram analisadas as latências médias da resposta de fuga (saltar), em s, de todos os animais. Para análise das latências foi utilizado o teste estatístico GLM Multivariado com Medidas Repetidas. O nível de significância de 5% foi adotado, levando-se também em conta o poder observado (OP), que indica significância a partir do valor 0,7, evitando a aceitação ou rejeição da Hipótese Alternativa do teste por meio de Erro Tipo I ou II.

O gráfico superior da Figura 23 exibe as taxas médias de respostas de fêmeas, expostas ao esquema de VI, dos Grupos Castradas e Sham. Os animais de ambos os grupos exibiram taxas crescentes de resposta ao longo das sessões de exposição ao VI.

Na primeira sessão as taxas médias de resposta eram muito semelhantes entre os grupos (castradas 6,37 R/min e sham 6,62 R/min), na última sessão de exposição ao VI as taxas dos animais do Grupo Castradas apresentaram um aumento de maior magnitude do que as taxas dos sujeitos do Grupo Sham, (11,39 R/min e 8,70 R/min),

respectivamente. É possível observar que, com exceção da primeira sessão de exposição, as taxas de resposta das fêmeas do Grupo Castradas foram sempre maiores do que as taxas das fêmeas do Grupo Sham, porém sem diferença estatística.

Os dados da taxa média de resposta dos sujeitos dos Grupos Castradas e Sham, em comparação com as taxas média de resposta de machos e fêmeas expostos ao VI (ver Figura 4 – experimento 1), sugerem que o hormônio sexual feminino pode ter alguma influência na taxa de resposta no VI. Assim como os machos emitiram mais resposta por minutos que as fêmeas no Experimento 1, fêmeas castradas emitiram taxas maiores de respostas do que as fêmeas *Sham* no Experimento 2, o que sugere que a taxa de resposta de pressão à barra pode ser influenciada pelos hormônios sexuais.

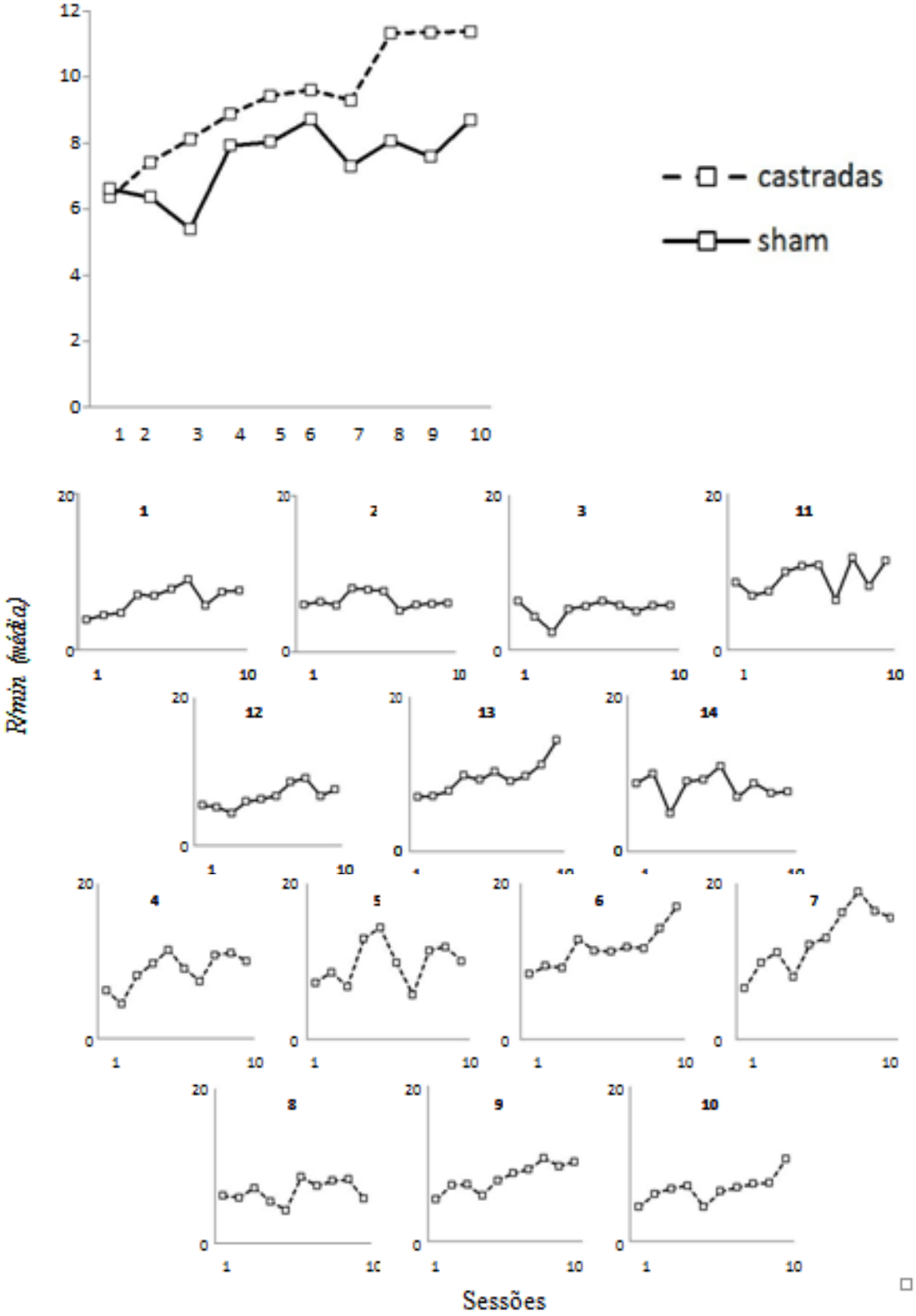

Figura 23. Taxas médias de respostas dos grupos (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) das fêmeas expostas ao esquema de VI dos Grupos Castradas e Sham. Os números nos gráficos inferiores correspondem à identificação dos sujeitos.

Outros estudos também observaram a influência dos hormônios sexuais na taxa de resposta de pressão à barra utilizando ratos. Os resultados de Heinsbroek, Haaren, Zantvoord e Poll (1987) mostraram que machos castrados emitem menos respostas que machos normais no esquema de RR. O mesmo estudo também mostrou diferenças entre as taxas de resposta de fêmeas castradas e fêmeas intactas, porém essas diferenças não foram estatisticamente significantes.

Em Beatty (1973) a castração de fêmeas diminuiu as diferenças entre os sexos em relação às taxas de respostas de ratos submetidos ao esquema de DRL produzindo um responder menos adaptado ao esquema em fêmeas, ou seja, maior taxa de resposta e menor taxa de reforço em sujeitos desse sexo. A castração também provocou algum efeito na taxa de resposta de machos, porém esse efeito não foi significante. No presente experimento, apesar da diferença não ter sido estatisticamente significante, a castração aumentou a taxa de resposta de fêmeas principalmente nas três últimas sessões de exposição ao VI. Contudo, vale lembrar que no presente estudo as fêmeas foram castradas já adultas, ou seja, tendo ficado sob efeito dos hormônios por algum tempo no seu desenvolvimento. Conforme se discutirá mais adiante, esse fator vem sendo apontado por alguns autores como redutor da efetividade da castração na tentativa de equiparar machos e fêmeas no que diz respeito aos efeitos dos hormônios femininos (Becker, Breedlove, Crews & McCarthy, 2002; McCarthy et al., 2012).

Outra possibilidade de explicação da diferença da taxa de resposta entre sexos é a de que o peso corpóreo, maior em machos do que em fêmeas, e maior em fêmeas castradas do que em fêmeas *sham*, poderia influenciar a taxa de resposta. Animais com maior peso corporal têm um menor custo da resposta de pressão à barra, pois projetam

seus corpos em direção à barra antes de pressioná-la, o que poderia facilitar a emissão de taxas maiores de resposta. Para verificar essa hipótese, a Tabela 4 exibe a relação entre o peso corporal e as taxa de respostas de fêmeas do Grupo Castradas e fêmeas do Grupo Sham na primeira e na última sessão de exposição ao VI.

Os dados da Tabela 4 sugerem que não há relação entre o peso corporal e a taxa de resposta. Os sujeitos foram agrupados em ordem crescente de peso, porém as suas taxas de resposta da primeira e da última sessão não seguem a mesma lógica. Por exemplo, o sujeito 13, com o peso de 155 g emitiu 14,39 R/min na décima sessão de exposição, enquanto o sujeito 8 com 245 g emitiu 5,96 R/min nessa mesma sessão de exposição ao VI.

Tabela 4. Relação entre o peso corporal e a taxa de resposta das fêmeas dos Grupos Sham e Castradas

Sujeito	**Peso (g)**	**Grupo**	**R/min Sessão 1**	**R/min Sessão 10**
11	150	Sham	8,66	11,51
13	155	Sham	7,03	14,39
12	160	Sham	5,5	7,65
14	170	Sham	8,77	7,68
1	205	Sham	3,95	7,66
2	209	Sham	6,09	6,28
7	215	Castradas	6,59	15,68
9	215	Castradas	5,42	10,25
10	218	Castradas	4,47	6,16
3	225	Sham	6,36	5,78
4	230	Castradas	6,24	10,05
6	240	Castradas	8,42	17,09
8	245	Castradas	6,19	5,96
5	250	Castradas	7,3	10,11

Os dados da Figura 24 mostram o registro cumulativo representativo de uma fêmea exposta ao VI, essa fêmea responde no padrão esperado para animais expostos a

esse esquema, emitindo taxas de respostas moderadas com pouca ou nenhuma pausa pós-reforço. Esse gráfico é bem semelhante a Figura 6 apresentada no Experimento 1.

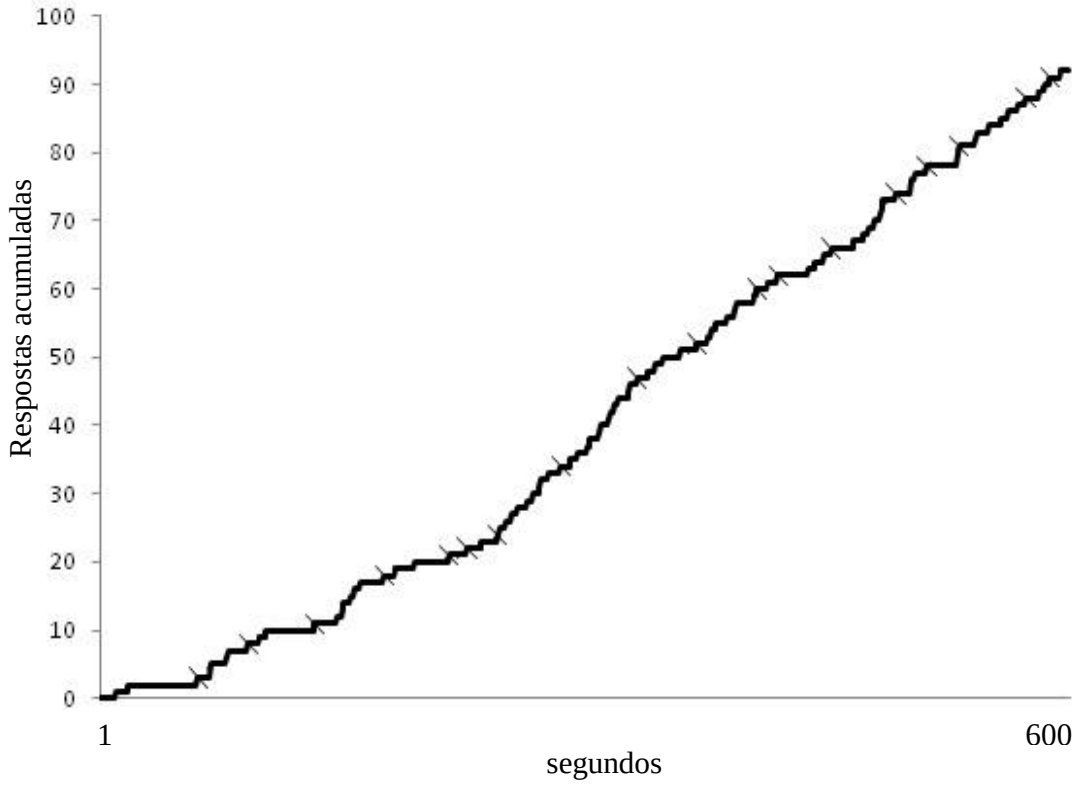

Figura 24. Registro cumulativo representativo dos dez primeiros minutos, de uma das fêmeas, na décima sessão de exposição ao esquema de VI.

O gráfico superior da figura 25 mostra que as latências médias das fêmeas de ambos os grupos foram muito semelhantes entre si, sem diferença estatística, apresentando tendência decrescente ao longo das tentativas de teste. As fêmeas do Grupo Sham apresentaram latência média de 8,28 s no primeiro bloco de tentativas do teste e de 3,87 s no último, enquanto as fêmeas do Grupo Castradas apresentaram latência média de 6,89 s no primeiro bloco e de 4,51 s no último.

Houve diferença estatística entre os blocos de latência $F(11; 76) = 8,74$, $p < 0,01$ e op = 1. Não houve diferença estatística na interação entre os blocos de latências e os grupos.

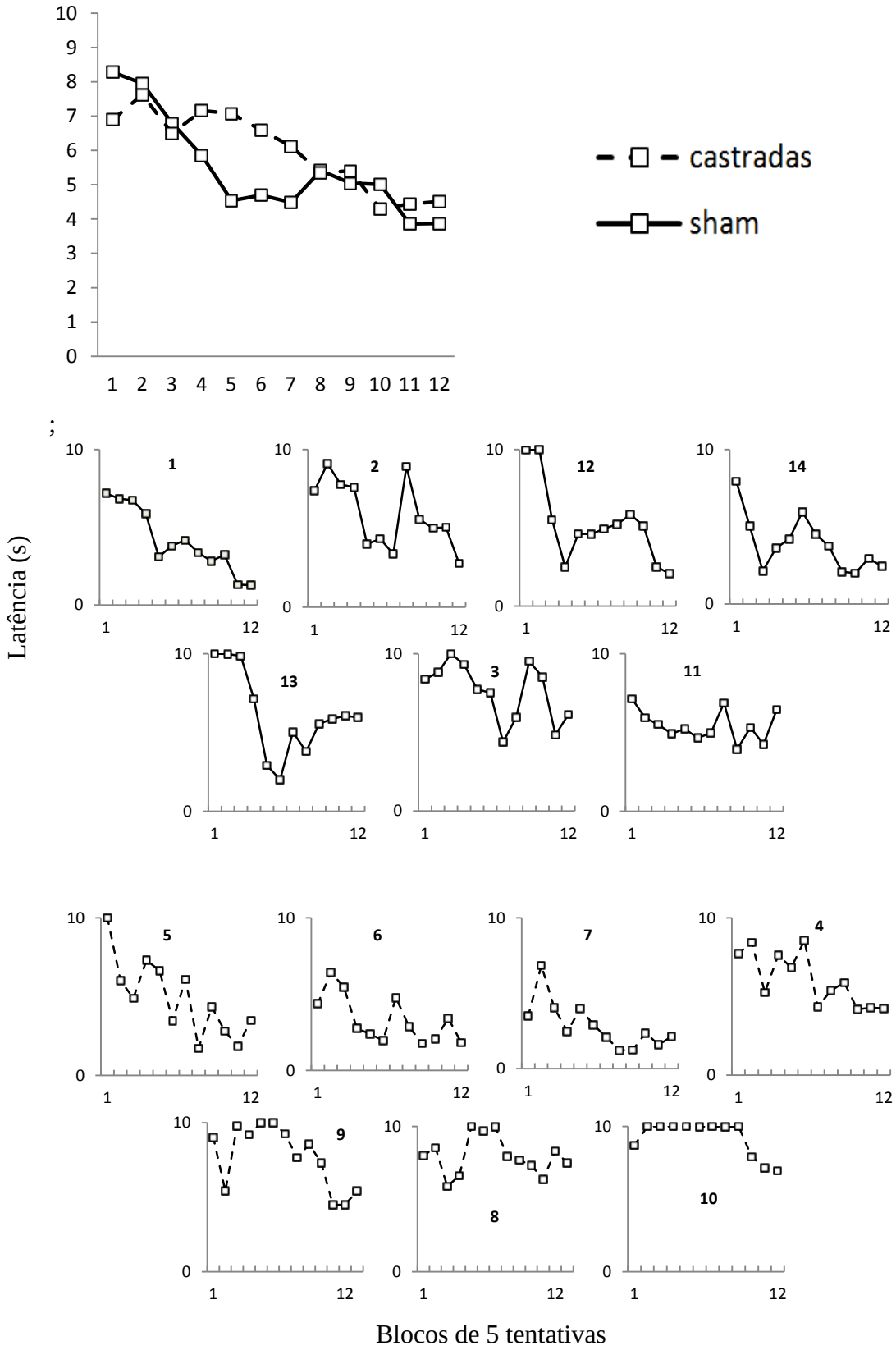

Figura 25. Latência média (gráfico superior) e individuais (gráficos inferiores) das fêmeas dos Grupos Sham e Castradas. Os números nos gráficos inferiores correspondem a identificação dos sujeitos.

Os resultados individuais mostram que quatro fêmeas do Grupo Sham (1, 2, 12 e 14), apresentaram latências finais da resposta de saltar menores do que as iniciais. Apesar de terem aumentado a latência em alguns blocos, em comparação com o bloco anterior, mantiveram a tendência geral de latência decrescente na sessão de teste e considerou-se que esses animais aprenderam fuga. Os outros três animais (3, 11 e 13) emitiram respostas de fuga no teste, oscilando suas latências para cima e para baixo durante a sessão de teste, esses animais não apresentaram nem padrão de aprendizagem de fuga e nem padrão de desamparo.

As latências individuais das fêmeas do Grupo Castradas mostraram que somente uma apresentou altas latências da resposta de fuga ao longo das tentativas (10), esse animal diminuiu um pouco suas latências a partir do décimo bloco de tentativas, porém não é possível dizer que ele aprendeu fuga; outro animal emitiu respostas de fuga no teste, porém suas latências oscilaram para cima e para baixo ao longo das tentativas (8) e um último diminuiu suas latências a partir do 9º bloco de tentativas voltando a aumentar no último bloco (9), portanto esses animais não se encaixam nem no padrão de desamparo nem no padrão de aprendizagem. Por sua vez, as outras quatro fêmeas desse grupo apresentaram latências com tendências decrescentes ao longo das tentativas, com latências finais menores que as iniciais indicando que aprenderam fuga (4, 5, 6 e 7).

A Figura 26 mostra as latências médias das fêmeas do Grupo Castradas e do Grupo Sham em comparação aos machos e fêmeas do Grupo Imprevisível e Controlável do Experimento 1. As latências médias nos três primeiros blocos de tentativas das fêmeas dos Grupos Castradas e Sham foram mais parecidas com a de machos do que com a de fêmeas. Porém, a partir do 5º bloco de tentativas, as latências das fêmeas do Grupo Sham ficaram muito parecidas com as latências das fêmeas do Experimento 1 e

se mantiveram assim até o final da sessão, o mesmo aconteceu com as fêmeas do Grupo Castradas, mas a partir do 8º bloco. Não há diferença estatística entre as fêmeas do Experimento 1 e as fêmeas do Grupo Castradas e nem entre as fêmeas do Experimento 1 e as do Grupo Sham, tão pouco entre os machos e as fêmeas do Grupo Castradas e os machos e as fêmeas do Grupo Sham. Há diferenças apenas entre as fêmeas e os machos como já foi mostrado no Experimento 1. Também não há diferença estatística na interação entre os grupos e os blocos de latência.

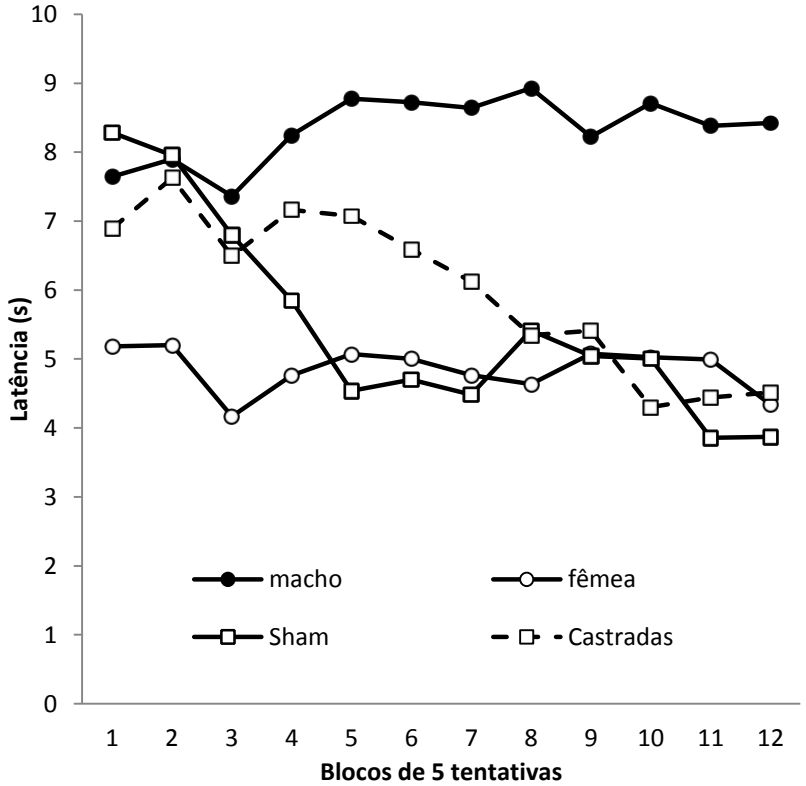

Figura 26. Latências médias de machos, fêmeas, fêmeas sham e fêmeas castradas expostas a imunização com estímulos imprevisíveis e controláveis.

Uma comparação entre as latências das fêmeas do Grupo Sham, do Grupo Castradas e as fêmeas do Experimento 1 mostra que aparentemente a exposição a medicações e a cirurgia ou a simulação dela aumentaram as latências médias apenas nos primeiros blocos de tentativas de fuga no teste. Houve diferença estatística entre os blocos de latências $F(11;65) = 4,95$ $p < 0,05$ op = 0,98.

Esses resultados indicam que a castração em fêmeas adultas jovens não foi suficiente para que fêmeas apresentassem latências parecidas com as de machos. As fêmeas do Grupo Sham e do Grupo Castradas apresentaram latências muito semelhantes entre si, a partir do 8º bloco de tentativas de fuga. Possivelmente, outros fatores isoladamente ou em conjunto com o hormônio sexual, influenciem o comportamento de fêmeas e machos de forma diferente e sejam responsáveis pela diferença nas latências dos animais expostos a estímulos imprevisíveis e controláveis na fase de imunização.

McCarthy et al. (2012) afirmaram que se, mesmo com a castração, as diferenças nos comportamentos de machos e fêmeas persistem devemos considerar duas possibilidades: 1º) Os efeitos dos hormônios sexuais durante o desenvolvimento do animal (pré e pós-natal); 2º) As diferenças genéticas no complemento do cromossomo sexual (XX vs. XY). Esses dois fatores causam diferenças na morfologia e na fisiologia do cérebro dos animais (e.g., hipocampo, neocórtex e amídala), diferenças essas que podem se refletir em diferentes interações com o ambiente (Cahill, 2006; Crosgrove, Mazure & Staley, 2007; McCarthy, Arnold, Ball, Blaustein & De Vries, 2012).

Como os hormônios sexuais causam diferenças permanentes nos circuitos cerebrais, estudos futuros que desejem elucidar os efeitos dos hormônios durante o desenvolvimento poderão utilizar das seguintes estratégias para verificar seu efeito no comportamento dos animais: 1ª) manipular hormônios sexuais em animais neonatais ou 2ª) realizar a castração química logo após o nascimento de fêmeas e/ou machos utilizando inibidores de hormônios sexuais (e.g., utilizar o letrozol que é um inibidor de aromastase que impede que a testosterona se converta em estrógeno em fêmeas).

Outra possibilidade de investigação futura seria manipular geneticamente machos com cromossomos XX e testículos e fêmeas com cromossomos XY e ovários. Comparações desses animais com genótipo e fenótipo gonadal reversos com aqueles em

que os fenótipos e genótipos normais, poderão separar a influência do hormônio sexual da influência do cromossomo sexual e, com isso, nos dará a resposta se os gens X ou Y podem ser responsáveis pelas diferenças (McCarthy et al., 2012).

Referências

Abbot, B. B., & Badia, P. (1984). Preference from signaled over unsignaled shock schedules: rulling out asymmetry and response fixation as factors. *Journal of Experimental Analysis of Behavior, 41*(1), 45-52.

Anisman, H., Irwin, J., Beauchamp, C., & Zacharko, R. (1983). Cross-stressor immunization against the behavioral deficits introduced by incontrolable shock. *Behavioral Neuroscience, 97*, 452-461.

Baca, E., Garcia-Garcia, M., & Poras-Chavarino, A. (2004). Gender differences in treatment response to sertraline versus imipramine in patients with nonmelancholic depressive disorders. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 28(1*), 57–65.

Badia, P., & Cullbertons, S. (1974). Changeover from unsignalled to signalled avoidance with and without a feedback stimulus in rats. *Animal Learning and Behavior*, *2*, 278-284.

Batista, A. P. (2006). *Efeito da administração de antidepressivo homeopático (hypericum perforatum) sobre o desamparo aprendido em ratos.* Dissertação de Mestrado, Instituto de Psicologia. Universidade de São Paulo, São Paulo.

Beatty, W. W. (1973). Effects of gonadectomy on sex differences in DRL behavior. *Physiology and Behavior, 10,* 177-178.

Becker, J. B., Breedlove, S. M., Crews, D., & McCarthy, M. M. (2002) Behavioral endocrinology, Cambridge: MA, MIT.

Beck, K. D., Jiao, X., Cominski, T. P., & Servatius, R. J. (2008). Estrus cycle stage modifies the presentation of stress-induced startle suppression in female Sprague-Dawley rats. *Physiology & Behavior, 93*(4-5):1019-1023.

Berlanga, C., & Flores-Ramos, M. (2006). Different gender response to serotonergic and noradrenergic antidepressants: A comparative study of efficacy of citalopram and reboxetine. *Journal of Affective Disorders, 95*(1-3):119-23.

Bersh, P. J., Whitehouse, W. G., Blustein, J. E., & Alloy, L. B. (1986). Interaction of Pavlovian conditioning with a zero operant contingency: chronic exposure to signaled inescapable shock maintains learned helplessness effects. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes, 12,* 277-290.

Bracewell, J. R., & Black, A. H. (1974). The effects of restraint and noncontingent preshock on subsequent escape learning in the rat *Learning and Motivation, 5,* 53- 69.

Brown, G. E., Howe, A. R., & Jones, T. E. (1990). Immunization against learned helplessness in the cockroach (Periplaneta americana). *Psychological Reports, 67*, 623-640.

Brown, G. E., & Stroup, K. (1988). Learned helplessness in the cockroach (Periplaneta Americana). *Behavioral and Neural Biology, 50(2)*, 246-250.

Butcher, R. L., Collins, W. E., & Fugo, N. W. (1974). Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17beta throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology,94*(6):1704-1708.

Cahill, L. (2007). Why sex matters for neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience, 7*(6), 477-484.

Caldarone, B. J., George, T. P., Zachariou, V., & Picciotto, M. R. (2000). Gender differences in learned helplessness behavior are influenced by genetic background. Pharmacology *Biochemistry and Behavior, 66(4)*, 811–817.

Castelli, M. C. Z. (2004). *Efeitos da (im)previsibilidade de estímulos no desamparo aprendido: uma comparação entre ratos machos e fêmeas*. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.

Catania, A. C. (1971). Elicitation, Reinforcement, and Stimulus Control. Em: R. Glaser (Eds.). *The Nature of Reinforcement* (pp. 196-220). Nova York, Academic Press.

Catania, A. C. (1999). *Aprendizagem: comportamento, linguagem e cognição*. (4ª ed., D. G. Souza & cols., Trads.) Porto Alegre: Artmed. (Trabalho original publicado em 1998).

Conceição, A. P. M., Batista, A. P. C., de Araújo, A. C. C., da Silva, F. C. A., Wanderley-Teixeira, V., & Teixeira, A. A. C. (2005). Análise histológica da endometriose em ratas durante as fases do ciclo estral. *Arquivos do Instituto Biológico,72*(4), p.439-443.

Crosgrove, K. P., Mazure, C. M., & Staley, J. K. (2006). Evolving knowledge of sex differences in brain structure, function and chemistry. *Biological Psychiatry,62*(8), 847-855.

Dalla, C., Edgecomb, C., Whetstone, A. S., & Shors, T. J. (2008). Females do not express learned helplessness like males do. *Neuropsychopharmacology,33,*1559–1569.

Dalla, C., Kokras, N., Pitychoutis, P. M., Papadopoulou-Daifoti, Z., & Olivier, J. D. A. (2012). The differential involvement of the serotonergic system in depression and antidepressant treatment of males and females (pp.113-146). In "*Serotonin: Biosynthesis, Regulation and Health Implications*", NOVA publishers.

Dalla, C., Pitychoutis, P. M., Kokras, N., & Papadoupoulou-Daifoti, Z. (2009). Sex Differences in Animal Models of Depression and Antidepressant Response. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 106*, 226–233.

Damiani, K., & Hunziker, M. H. L. (1991) Desamparo Aprendido I: uma comparação entre machos e fêmeas. *Resumos da XXI Reunião Anual de Psicologia* (p 17). Ribeirão Preto: SBP.

Estes, W. K. (1944). An experimental study of punishment. *Psychological Monographs, 57*, 263.

Freda, J. S., & Klein, S. B. (1976). Generality of failure-to-escape (helplessness) phenomenon in rats. *Animal Learning and Behavior, 4*, 401-406.

Freeman, M. E. (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. In: Knobil, E.; Neill, J.D. (Eds.), *The Physiology of Reproduction (pp. 613-647).* Raven Press: New York.

Freeman, T. J., & Lattal, K. A. (1992). Stimulus control of behavioral history. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior, 57*, 5–15.

Glazer, H. I., & Weiss, J. M. (1976a). Long term and transitory interference effects. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes, 2*, 191-201.

Glazer, H. I., & Weiss, J. M. (1976b). Long-term interference effect: An alternative to learned helplessness. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes, 2*, 202-213.

Gershon, E. S., & Bunney, W. E. (1976). The question of X-linkage in bipolar manic-depressive illness. *Journal of Psychiatric Research, 12*, 37-50.

Gouveia Jr., A. (2001). Efeitos da administração aguda de imipramina sobre o desamparo aprendido em ratos machos e fêmeas. *Acta Comportamentalia, 9*, 19-29.

Graeff, E. O., & Hunziker, M. H. L. (1988). Sensibilidade do efeito de interferência de longa duração ao tratamento crônico e agudo com imipramina em ratos [Resumo]. *Sociedade de Psicologia de Ribeirão Preto (Org.), XVIII Reunião Anual de Psicologia, Resumos* (p. 217). Ribeirão Preto: SPRP.

Hannum, R. D., Rosellini, R. A., & Seligman, M. E. P. (1976). Learned helplessness in the rat: retention and immunization. *Developmental Psychology, 12*, 449-459.

Heinsbroek, R. P., Van Haaren, F., Van de Poll, N. E., & Steenbergen, H. L. (1991). Sex differences in the behavioral consequences of inescapable footshocks depend on time since shock. *Physiology & Behavior, 49*, 1257–1263.

Heinsbroek, R. P., Van Haaren, F., Zantvoord, F., & Van de Pool, N. E. (1987). Sex differences in response rates during random ratio acquisition: effects of gonadectomy. *Physiology and Behavior, 39,* 269-272.

Hunziker, M. H. L. (1982). Considerações metodológicas sobre o estudo da incontrolabilidade. *Psicologia, 8* , 61-77.

Hunziker, M. H. L. (1993). Desamparo aprendido: um modelo animal de depressão? *Psicologia: Teoria e Pesquisa, 9,* 487-498.

Hunziker, M. H. L. (2003). *Desamparo aprendido*. Tese de livre docência. Universidade de São Paulo, São Paulo.

Hunziker, M. H. L. (2005). O Desamparo aprendido revisitado: Estudos com animais. *Psicologia: Teoria e Pesquisa, 2,* 131-139.

Hunziker, M. H. L., & Damiani, K. (1992). Non-contingent aversive stimuli and escape learning in rats: a male/female comparison. *18th Annual Convention of the Association for Behavior Analysis*, em San Francisco, USA.

Hunziker, M. H. L., & Gehm, T. P. (2010). Uma nova interpretação sobre o desamparo aprendido. In: Maria Martha Costa Hübner, Marcos Roberto Garcia, Paulo Roberto Abreu, Eduardo Neves Pedrosa Cillo & Pedro Bordini Faleiros. (Org.). *Sobre Comportamento & Cognição(v. 25; pp.352-660).* São Paulo: ESETec.

Hunziker, M. H. L., & Lima , R. S. G. G. (2006). Imunização ao desamparo aprendido após reforçamento positivo em ratos. *Interação em Psicologia, 10,* 195-206.

Hunziker, M. H. L., & Santos, C. V. (2007). Learned helplessness: Effects of response requirement and interval between treatment and testing. *Behavioural Processes, 76*, 183-191.

Hunziker, M. H. L., Manfré, F. N., & Yamada, M. T. (2006). Reforçamento positivo da variabilidade e repetição imuniza contra o desamparo aprendido. *Revista Brasileira de Análise do Comportamento, 2* , 53-66.

Jackson, R .L., Maier, S. F., & Rapaport, P. M. (1978). Exposure to inescapable shock produces both activity and associative deficits in the rat. *Learning and Motivation, 9*, 69-98.

Jenkins, J.A., Williams, P., Kramer, G. L., Davis, L. L., & Petty, F. (2001). The influence of gender and the estrous cycle on learned helplessness in the rat. *Biological Psychology, 58*, 147–158.

Kirk, R. C., & Blampied, N. M. (1980). A bibliography of learned helplessness research. *JSAS Catalog of Select Documents in Psychology, 10*, 19-20.

Kirk, R. C., & Blampied, N. M. (1985). Activity during inescapable shock and subsequent escape avoidance learning: female and male rats compared. *New Zeland Journal of Psychology, 14*, 9–14.

Kirk, R. C., & Blampied, N. M. (1986). Transituational immunization against the interference effect (learned helplessness) by prior passive and active escape. *The Psychological Record, 36*, 203-214.

Lee, R. K. K., & Maier, S. F. (1988). Inescapable shock and attention to internal versus external cues in a water escape discrimination task. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Process, 14*, 302 – 311.

MacCarthy, M. M., Arnold, A. P., Ball, G. F., Blaustein, J. D., & De Vries, G. J. (2012). Sex Differences in the Brain: The not so Inconvenient Truth. *The Journal of Neuroscience, 32*(7): 2241-2247.

Maier, S. F., Albin, R. W., & Testa, T. J. (1973). Failure to learn to escape in rats previously exposed to inescapable shock depends on nature of escape response. *Journal of Comparative and Physiological Psychology, 85*(3), 581 – 592.

Maier, S. F., Coon, D. J., McDaniel, M. A., Jackson, R. L., & Grau, J. (1979). The Time Course of Learned Helplessness, Inactivity, and Nociceptive Deficits in Rats. *Learning and Motivation, 10*, 467-487.

Maier, S. E., & Seligman, M. E. P. (1976). Learned helplessness: Theory and evidence. *Journal of Experimental Psychology: General, 105, 3*-46.

Maier, S. F., Seligman M. E. P., & Solomon, R. L. (1969) Pavlovian fear conditioning and learned helplessness: effects on escape and avoidance behavior of (a) the CS-US contingency and (b) the independence of the US and voluntary responding

Em: Campbell, B. A. e Church, K. M. (Eds.) *Punishment and aversive behavior (pp.299-343)*. New York, Appleton-Century-Crofts

Maier, S. F., & Testa, T. J. (1975). Failure to learn to escape by rats previously exposed to inescapable shock is partly produced by associative interference. *Journal of Comparative and Physiological Psychology, 88,* 554-564.

Marcondes, F. K., Bianchi, F. J., & Tanno, A. P. (2002). Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazilian Journal of Biology., 62*(4A): 609-614.

Mestre, M. B. A., & Hunziker, M. H. L. (1996) O desamparo aprendido, em ratos adultos, como função de experiências aversivas incontroláveis na infância. *Tuiuti: Ciência e Cultura, 6* , 25-47.

McClintock, M. (1981). Social control of the ovarian cycle an the function of estrous synchrony. *American Zoologist, 21*(1), 243-156.

Millar, R. D. (1975). Free-operant comparisons of wild and domestic Norway rats. Journal of Comparative Physiology and Psychology, 89, 913-922.

Naninck, E. F. G., Lucassem, P. J., & Bakker, J. (2011). Sex differences in adolescent depression: Do sex hormones determine vulnerability? *Journal of Neuroendocrinology, 23*, 383-392.

Oliveira, E. C. A (2007). *Investigação longitudinal dos efeitos de diferentes contingências com estímulos apetitivos e aversivos sobre o desamparo aprendido.* Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo.

Overmier, J. B., & Seligman, M. E. P. (1967). Effects of inescapable shock upon subsequent escape and avoidance responding. *Journal of Comparative and Physiological Psychology, 63,* 28-33.

Overmier, J. B. (1985). Toward a reanalysis of the causal structure of the learned helplessness syndrome. Em F.R. Brush & J.B. Overmier (Eds), *Affect, Conditioning and Cognition: Essays on the determinants of Behavior (pp.211-227).* Hillsdale, NJ: Erlbaum.

Padilla, A. M., Padilla, C., Ketterer, T., & Giacalone, D. (1970). Inescapable shocks and subsequent escape avoidance conditioning in goldfish, carassius aurotus. *Psychonomic Science*, *20*, 295-296.

Palanza, P. (2001). Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews ,25*, 219-233.

Peterson, C., Maier, S. F., & Seligman, M. E. P. (1993) *Learned Helplessness: A Theory for the age of personal control.* New York: Oxford University Press.

Petty, F., & Sherman, A. D. (1979). Reversal of learned helplessness by imipramine. *Communications in Psychopharmacology, 3*, 371-373.

Piccinelli, M., & Wilkinson, G. (2000). Gender differences in depression. *British Journal of Psychiatry*, 177, 486-492.

Ramirez, E., Maldonato, A., & Martos, R. (1992). Attributions Modulate Immunization Against Learned Helplessness in Humans. *Journal of Personality and Social Psychology, 62* (1), 139-146.

Santos, C. V., Gehm, T., & Hunziker, M. H. L (2011). Learned Helplessness in the rat: Effect of response topography in a within-subject design. *Behavioural Processes, 86*, 178-183.

Schulze, I. (1976). Sex Differences in the Acquisition of Appetitively Motivated Learning in Rats. Physiology & Behavior, 17, 19-22.

Seligman, M. E. P. (1975). *Helplessness.* San Francisco: Freeman.

Seligman, M. E. P., & Maier, S.F. (1967). Failure to escape traumatic shock. *Journal of Experimental Psychology, 74*, 1-9.

Seligman, M. E. P., Maier, S. F., & Geer, J. M. (1968). Alleviation of learned helplessness in the dog. *Journal of Abnormal Psychology, 73*, 256-262.

Seligman, M. E. P., Maier, S. F., & Solomon, R. L. (1971). Unpredictable and Uncontrollable Aversive Events. In F. R. Brush (Ed.). *Aversive Conditioning and Learning* (537-604). New York: Academic Press.

Seligman, M. E. P., Rosellini, R. A., & Kozak, M. J. (1975). Learned helplessness in the rat: time course, immunization, and reversibility. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *88*, 542-547.

Sfikakis, A., Spyraki, C., Sitaras, N., & Varonos, D. (1978). Implications of the estrous cycle on conditioned avoidance behavior in the rat. *Physiology & Behavior*. *21*, 441-446.

Sherman, A. D., Sacquitne, J. L., & Petty, F. (1982). Specificity of the learned helplessness model of depression. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *16*, 449-454.

Shors, T. J., Mathew, J., Sisti, H. M., Edgecomb, C., Beckoff, S. & Dalla, C. (2007). Neurogenesis and helplessness are mediated by controllability in males but not in females. *Biological Psychiatry*, *6215*, 487–495.

Shors, T. J. (1998). Stress and sex effects on associative learning: for better or for worse. *Neuroscientist*, *4*, 353–364.

Skinner, B. F. (2003). *Ciência e Comportamento Humano*. (J. C Todorov & R. Azzi, trad.). São Paulo: Martins Fontes (Trabalho original publicado em 1953).

Smith, M. S., Freman, M. E., & Neil, J. D. (1975). The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology, 96*: 219-226.

Spornitz, U. M., Socin, C. D., & David, A. A. (1999). Estrous stage determination in rats by means of scanning electron microscopic images of uterine surface epithelium. *The Anatomical. Record., 254*: 116-126.

Steenbergen, H. L., Heinbroek, R. P. W., Hest, A. V., & Poll, N. E. V. (1990) Sex-dependent effects of inescapable shock administration on shutlebox-escape performance and elevated plus-maze behavior. *Physiology & Behavior, 48*, 571-573.

Steenberger, H. L., Heinsbroek, R. P., Van Haaren, F, & Van de Poll, N. E. (1989).Sex dependent effects of inescapable shock administration on behavior and subsequent escape performance in rats. *Physiology & Behavior, 45*, 781-787.

Van Haaren, F., & Van Hest, A. (1989). The acquisition of visual and auditory discriminations in male and female Wistar rats. *Behavioural Brain Research, 32*, 191-195.

Van Haaren, F., Van Hest, A., & Heinsbroek, R. P. W. (1990). Behavioral differences between male and female rats: effects of gonadal hormones on learning and memory. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 14*, 23-33.

Van Oyen, H. G., Van der Zwan, S. M., Van de Poll, N. E., & Walg, H. (1981). Punishment of food rewarded lever holding in male and female rats. *Physiology & Behavior, 26*, 1037-1040.

Vicente, F., Ferrándiz, P., & Díaz-Berciano, C. (2006). Immunization and facilitation produced by predictable and controllable aversive events alternating with different duration unpredictable and uncontrollable aversive events. *Internacional Journal of Psychology, 41* (5), 385-396.

Vicente, F., Ferrándiz, P., & Pardo, A. (1991). Entrenamiento en descargas escapables y/o predecibles sobre la conducta de escape. *Revista de Psicología General y Aplicada. 44*(3), 299-304.

Weiner, H. (1964). Conditioning story and human fixed-interval performance. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior, 7*, 383-385.

Weiss, J. M. (1970) Somatic effects of predictable and unpredictable shock. *Psychosomatic Medicine, 32*, 397-409.

Weiss, E. L., Longhurst, J. G., & Mazure, C. M. (1999). Childhood sexual abuse as risk factor for depression in women: psychosocial and neurobiological correlates. *American Journal of Psychiatry, 156*, 816-828.

Williams, J. L., & Maier, S. F. (1977) Transsituational immunizations and therapy of learned helplessness in the rat. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes, 3*, 240-253.

Winokur, G., & Tanna, V. L. (1969). Possible role of W-linked dominant factor in maniac-depressive disease. *Diseases of the Nervous System, 30*, 89-93.

Yano, Y., & Hunziker, M. H. L. (2000). Desamparo aprendido e imunização com diferentes respostas de fuga. *Acta Comportamentalia, 8*, 143-166.

Anexos

Tabela 5. Taxa média de respostas, de machos e fêmeas de todos os grupos, durante as 10 sessões de exposição a estímulos apetitivos.

R/min

VI+luz ♂	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	7,87	7,15	7,43	7,54	6,67	6,46	6,2	5,81	5,77	5,23
VI+luz ♀	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	7,56	8,27	8,6	7,74	8,01	6,67	5,8	5,12	5,23	4,42
VI ♂	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	7,97	7,83	9,6	10,8	11,29	12,1	12	12,85	13,22	12,85
VI ♀	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	7,55	8,39	8,44	9,72	9,69	10,26	9,94	10,03	10,64	9,79
VT+luz ♂	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	1,86	1,25	0,79	0,96	0,53	0,2	0,27	0,16	0,14	0,18
VT+luz ♀	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	1,74	1,09	0,48	0,74	0,45	0,14	0,24	0,24	0,26	0,31
VT ♂	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	3,45	0,63	0,32	0,18	0,13	0,19	0,14	0,12	0,15	0,11
VT ♀	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	3,42	1,25	0,49	0,36	0,26	0,21	0,14	0,14	0,18	0,18

Tabela 6. Taxa média de respostas na luz e no escuro, de machos e fêmeas dos grupos PC, durante as 10 sessões de exposição a estímulos apetitivos.

R/min ♂

Sessões	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Luz	6,13	8,3	10,86	14,57	17	19,19	21,24	19,22	22,16	19,37
escuro	8,24	7,04	7,03	6,81	5,67	5,38	4,98	4,62	4,46	3,9

R/min ♀

Sessões	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Luz	6,15	10,87	14,69	17,65	23,87	22,88	25,11	28,19	27,85	30,4
escuro	7,88	7,92	8,01	6,87	6,88	5,5	4,45	3,62	3,65	2,74

Tabela 7. Taxa média de reforços, de machos e fêmeas de todos os grupos, durante as 10 sessões de exposição a estímulos apetitivos.

Reforços

VI+luz ♂	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	90	93	99	98	99	96	99	99	99	99
VI+luz ♀	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	94	100	100	100	100	100	100	100	100	100
VI ♂	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	96,5	99,375	100	100	100	100	100	100	100	100
VI ♀	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	95,5	100	99,25	100	100	100	100	100	100	98,25
VT+luz ♂	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
VT+luz ♀	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
VT ♂	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
VT ♀	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Tabela 8. Taxa média de reforços na luz e no escuro, de machos e fêmeas, durante as 10 sessões de exposição ao esquema de VI sinalizado.

Reforços ♂

Sessões	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
luz	62	66	79	81	86	84	91	88	91	90
escuro	28	27	20	17	13	12	8	11	8	9
TOTAL	90	93	99	98	99	96	99	99	99	99

Reforços ♀

Sessões	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
luz	60	77	84	88	91	90	91	94	97	97
escuro	34	23	16	12	9	10	9	6	3	3
TOTAL	94	100	100	100	100	100	100	100	100	100