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

FERNANDA LIBARDI GALESI

**Análise comportamental do modelo animal de recaída *cue-*
*induced***

São Paulo
2009

FERNANDA LIBARDI GALESI

Análise comportamental do modelo animal de recaída *cue-induced*

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Psicologia.

Área de concentração: Psicologia Experimental.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Miriam Garcia Mijares

O presente trabalho foi realizado com o apoio da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

São Paulo

2009

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.

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

Galesi, Fernanda Libardi.

Análise comportamental do modelo animal de recaída *cue-induced* / Fernanda Libardi Galesi; orientadora Miriam Garcia Mijares. -- São Paulo, 2009. -- 92 p.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Psicologia. Área de Concentração: Psicologia Experimental) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo.

1. Modelos animais 2. Recidiva 3. Estímulo condicionado 4. Reforço 5. Droga (Abuso) I. Título.

BF319.5.S7

Nome: Fernanda Libardi Galesi

Título: Análise comportamental do modelo animal de recaída *cue-induced*

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte das exigências para obtenção do grau de mestre em Psicologia.

Área de Concentração: Psicologia Experimental.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Aos meus pais, por terem me ensinado valores inestimáveis, terem me apoiado e me encorajado e, especialmente, por sempre terem me dado a liberdade de escolher.

Miriam, obrigada por ter me dado o privilégio de ter sido sua primeira orientanda. Foi uma honra. Obrigada por ter confiado no meu trabalho, por ter participado bem de perto de todas as etapas do experimento, ter curtido ele como se fosse seu e por estar presente sempre que eu precisei. Obrigada por ter me ensinado principalmente a ser uma pesquisadora. Obrigada especialmente pela amizade.

Teresa, obrigada por apesar de estar “pendurando as chuteiras” ter cedido às minhas insistências e ter acreditado nesse projeto. Obrigada pela sabedoria, pelo apoio e pelo carinho.

Pai, obrigada por tudo. Por, sempre que foi preciso, ter feitos sacrifícios na sua vida para que eu pudesse ter a melhor formação possível. Obrigada pelas broncas quando eu me queixava das dificuldades da profissão que eu escolhi e obrigada por ter sempre me encorajado a seguir em frente. Obrigada por ter sempre me apoiado em tudo incondicionalmente. Obrigada, acima de tudo, pelo modelo de homem e de vida que você sempre foi.

Mãe, obrigada pelo carinho, pelo acolhimento e pela paciência. Obrigada por você ter entendido que a minha ausência em casa durante o mestrado era tão dolorida para mim quanto para você. Obrigada pela coragem e pela sabedoria de ter criado essas duas maluquinhas da melhor forma possível e por ter sido sempre amiga além de mãe.

Agradeço a Sô pela preocupação eterna, inclusive pelas broncas. Obrigada por ser irmã, tão parecida e ao mesmo tempo tão diferente.

Ká, obrigada por ser há anos a irmã que a vida me permitiu escolher. Obrigada pelas risadas, pelas viagens, pelos conselhos, pelas broncas e pelo apoio irrestrito. Obrigada por ter sido a pessoa que mais me apoiou no fim enlouquecedor desse projeto, mesmo estando a milhares de quilômetros daqui. Obrigada por se fazer tão presente mesmo estando tão longe e por estar ao meu lado sempre, pro que der e vier.

Thá e Lú, obrigada por, tão rápido, terem tornado-se tão amigas. Obrigada pelo acolhimento e apoio. Obrigada por serem, além de amigas, as melhores parceiras de trabalho que eu já tive. Obrigada pelos jantares, pelas cervejas e pela alegria. Obrigada, especialmente, por terem estado ao meu lado sempre que eu precisei.

Obrigada aos meus avós, Nilda, Armando e Maria (que hoje me olha lá de cima). Apesar de vocês nunca terem entendido que coisa era mesmo aquela de dar álcool para ratinhos sempre se interessaram pelo que eu estava fazendo e me apoiaram. Obrigada pelo carinho.

Obrigada a minha família, grande responsável pela minha formação como pessoa, minha alegria nos fins de semana e por eu sentir tantas saudades de casa.

Bruno, obrigado por ter sido, acima de tudo, companheiro. Obrigada pela paciência e pela compreensão. Obrigada por ter sacrificado várias noites de sábado ao meu lado enquanto eu estudava e por ter nunca reclamado dos inúmeros fins de semana e feriados que não pudemos viajar ou marcar um programa porque eu tinha que estudar. Obrigada pela ajuda com o Excel e com a matemática. Obrigada especialmente pelo carinho.

Lugui, obrigada por ter sido o primeiro a confiar em mim e no meu trabalho. Sem você esse projeto não teria existido.

Obrigada ao Sérgio, por ser um grande amigo e um segundo pai, mesmo sem nunca ter se dado conta disso.

Ana, obrigada por ter me mostrado a USP, me ensinado como tudo funciona e me ajudado prontamente quando algo dava errado e eu não sabia como resolver. Obrigada pelas dicas preciosas com o projeto. Obrigada principalmente pela amizade.

Ariene, obrigada por ser essa baiana arretada e por ter se revelado uma ótima amiga e roomie. Você alegrou o meu dia-a-dia do fim do mestrado, escutou todas as minhas reclamações infinitas sem perder o bom humor e ainda me deu dicas valiosas para a dissertação.

Obrigada ao pessoal do laboratório, a Ana (de novo), o Victor, a Márcia, o Pedro e a Helô pela amizade. Obrigada pelos almoços, pelas conversas jogadas fora, por todos os cafezinhos que eu só acompanhei e nunca tomei e por sempre me atrapalharem quando eu precisava estudar.

Marcelo, obrigada pela companhia nos inúmeros fins de semana e feriados na USP. Obrigada por ter me apresentado o bandeirão, pelos bombons e pela amizade.

Obrigada a todo o pessoal da USP, a Nathali, o Rafa, a Vivi, a Helô, o Will e tantos outros responsáveis por deixar o dia-a-dia na USP mais alegre.

Obrigada aos meus amigos de ontem, de hoje e de sempre. Obrigada aos amigos de Pira, aos de Sanca e aos de Sampa. Sem o apoio de vocês, as conversas de bar, as ligações inesperadas, os abraços apertados e a certeza de que eu posso contar sempre com vocês, a vida seria cinza.

Obrigada ao Marcus pelo acolhimento e pelo equilíbrio mental.

Sônia, obrigada pela ajuda com a burocracia chata e por ainda fazer isso com carinho e bom humor.

Obrigada a todos os professores que passaram pela minha vida, em especial ao Júlio, a Deyse e ao pessoal do Paradigma, devo a vocês a minha formação em análise do comportamento. Obrigada por terem me dado o privilégio de ter aprendido um pouquinho com cada um de vocês.

Galesi, F. L. (2009). *Análise comportamental do modelo animal de recaída cue-induced*. Dissertação de mestrado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A recaída ao uso de drogas é um dos principais obstáculos para o tratamento do adicto. Um dos modelos animais mais utilizados para estudar a recaída no laboratório é o chamado de *cue-induced*. Embora esse modelo tenha se mostrado útil para o estudo de processos neurofisiológicos envolvidos na recaída, seu valor para a análise do controle de estímulos ambientais na dependência tem sido limitado por não distinguir a função dos estímulos discriminativos e dos reforçadores condicionados que controlam a reinstalação da resposta que foi reforçada por droga. O principal objetivo do presente estudo foi analisar os controles estabelecidos sobre as respostas de pressão à barra de ratos submetidos ao procedimento *cue-induced*. Foram realizados três experimentos. No Experimento 1, os animais passaram pelas três fases experimentais que caracterizam esse modelo. Na primeira fase, a resposta de pressão à barra foi treina em dois componentes distintos. Em um deles, as respostas emitidas na presença de um odor de laranja (S^{D1}) tiveram como consequência a apresentação de um estímulo luminoso (S^{r1}) e liberação de uma solução de etanol (grupo ET) ou de sacarose (grupo SAC). Enquanto na outra, pressões à barra na presença de um odor de erva-doce (S^{D2}) tiveram como consequência a apresentação um estímulo sonoro (S^{r2}) e liberação de água. Na segunda fase, foram realizadas sessões de extinção na ausência dos estímulos utilizados no treino. Na terceira fase os estímulos discriminativos e reforçadores condicionados foram reintroduzidos, mas as respostas de pressão à barra não foram reforçadas por etanol, sacarose ou água. Finalizado o procedimento padrão, foram realizados testes adicionais, nos quais cada estímulo utilizado no treino foi apresentado separadamente. O procedimento do Experimento 2 foi similar ao do Experimento 1, porém foram controladas duas variáveis irrelevantes para o modelo, mas associadas com as contingências experimentais: a maravalha da bandeja da caixa experimental e o acionamento do bebedouro. No Experimento 3, foi adicionada sacarose à solução de etanol e a água. Os resultados dos Experimentos 1 e 2 mostraram que S^{r1} foi efetivo em reinstalar a resposta de pressão à barra nos testes de reinstalação realizados, enquanto S^{D1} foi inconsistente em reinstalar essa resposta. A apresentação de S^{D2} e S^{r2} não reinstalou a resposta. Os dados obtidos no Experimento 3 foram inconclusivos quanto ao controle exercido pelos estímulos olfativos, luminosos e sonoros. Os resultados parecem sugerir que o modelo animal *cue-induced*, tipicamente usado para estabelecer linhas de base de controle discriminativo sobre a auto-administração de drogas, pode não ser adequado para tal finalidade. No entanto, ainda são necessários refinamentos experimentais para a obtenção de resultados mais acurados.

Palavras-chave: modelos animais, recidiva, estímulo condicionado, reforço, droga (abuso).

Galesi, F. L. (2009). *Behavior analysis of the cue-induced animal model of relapse*. Dissertação de mestrado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The relapse into drug use is one of the key obstacles for addict treatment. One of the animal models most used for relapse studies in laboratory is the so called “cue-induced”. Even though this model has been proven to be useful for neurophysiologic processes related to relapse, its value for analyzing environment stimulus control on addiction is considered to be limited because it does not distinguish the function of discriminative stimulus and of conditioned reinforcer which control the reinstatement of the response that was reinforced by the use of drugs. The main objective of this study was to analyze the established controls over the lever pressure responses of rats submitted to the cue-induced procedure. They were subjected to three different experiments. On the first one the animals were exposed to the three different experimental stages that characterize a cue-induced procedure. At the first experimental phase, lever press response was trained over two different components. In one of them, the response to an orange odor (S^{D1}) had as a consequence the appearance of a luminous stimulus (S^{r1}) and the release of ethanol (ET group) or a sucrose solution (SAC group). While in the other one, lever press in the presence of a anise odor had as a consequence the appearance of a sonorous stimulus accompanied by water release. At the second phase, there were conducted extinction sessions in the lack of the stimuli used on the training phase. And finally, at the third phase, the discriminative stimulus and conditioned reinforcer were reintroduced. Nevertheless, the lever press response was not reinforced by ethanol, sucrose or water. By the time the standard procedure was over, additional tests were run, where each stimuli used on the training phase were presented to the rats separately. The second experiment procedure was similar to the one employed at the first experiment, however two irrelevant variables for the model were controlled for, but these were associated with the experimental contingencies: the sawdust on the experimental box trail and the drinking fountain when put into action. At the third experiment, sucrose was added to the ethanol solution and also to the water. The results from the two first experiments showed that S^{r1} was effective in reinstate the lever pressure response verified at the reinstatement tests, whereas S^{D1} was not successful in doing so. Neither the introduction of S^{D2} nor S^{r2} reinstate the response. The data obtained by Experiment 3 was not conclusive in regards to the control imposed by the olfactory, luminous and sonorous stimuli. The results suggest that the cue-induced procedure, typically used to establish baselines for discriminative control over drugs self-administration, may not be in fact the most suitable one for this purpose. Nonetheless, there is still a need to refine the experiment in order to reach more accurate and conclusive results.

Key-words: animal models, relapse, conditioned stimulus, reinforcement, drug abuse.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Sessões de administração de etanol da fase pré-experimental de Auto-administração oral de etanol/sacarose do Experimento 1. As sessões estão discriminadas por concentração das soluções de etanol na ordem em que foram apresentadas e número de sessões realizadas com cada concentração.....33
- Tabela 2 - Condições experimentais de cada sessão da 1ª e 2ª Reinstalação do Experimento1. A Tabela mostra os estímulos ou a combinação de estímulos apresentadas em cada sessão de reinstalação..... 37
- Tabela 3 - Condições experimentais de cada sessão da Reinstalação do Experimento 2. A Tabela mostra os estímulos ou a combinação de estímulos apresentadas em cada sessão de reinstalação..... 49
- Tabela 4 - Sessões da fase pré-experimental de Auto-administração oral de etanol do Experimento 3. As sessões estão discriminadas por concentração das soluções de etanol na ordem em que foram apresentadas e número de sessões realizadas com cada concentração..... 61
- Tabela 5 - Condições experimentais de cada sessão da 2ª Reinstalação do Experimento 3. A Tabela mostra os estímulos que foram apresentados para cada grupo experimental em cada sessão de reinstalação..... 65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagramação das fases experimentais do modelo animal de recaída <i>cue-induced</i>	16
Figura 2 - Diagramação da fase pré-experimental e das fases experimentais do modelo animal de recaída <i>cue-induced</i> quando são incluídos reforçadores condicionados à contingência do treino discriminativo e é usado etanol como reforçador.....	21
Figura 3 - Médias ($\pm$ EPM) de consumo da solução de etanol, de peso dos sujeitos e da concentração de etanol ingerido em gramas por quilo dos sujeitos do grupo ET durante a fase de Auto-administração de etanol/sacarose do Experimento 1.....	39
Figura 4 - Médias ($\pm$ EPM) de consumo da solução de sacarose e peso dos sujeitos do grupo SAC ao longo da fase de Auto-administração oral de etanol/sacarose	41
Figura 5 - Desempenho dos sujeitos do grupo ET no 1º e 2º Treino e Extinção do Experimento 1.	43
Figura 6 - Desempenho dos sujeitos do grupo SAC no 1º e 2º Treino e Extinção do Experimento 1.....	44
Figura 7 - Desempenho dos sujeitos do grupo ET na 1ª e 2ª Reinstalação do Experimento 1.....	45
Figura 8 - Desempenho dos sujeitos do grupo SAC na 1ª e 2ª Reinstalação no Experimento 1.....	46
Figura 9 - Desempenho dos sujeitos do grupo ET nas fases de Treino e Extinção do Experimento 2.....	51
Figura 10 - Desempenho dos sujeitos do grupo SAC nas fases de Treino e Extinção do Experimento 2.....	52

Figura 11 - Desempenho dos sujeitos do grupo ET na fase de Reinstalação do Experimento 2.....	53
Figura 12 - Desempenho dos sujeitos do grupo SAC na fase de Reinstalação do Experimento 3.....	54
Figura 13 - Desempenho dos sujeitos na fase pré-experimental de Auto-administração oral de etanol do Experimento 3.....	68
Figura 14 - Desempenho dos sujeitos nas sessões do 1º Treino e Extinção do Experimento 3.....	69
Figura 15 - Desempenho dos sujeitos na última sessão da 2ª Extinção e nas sessões da 1ª Reinstalação do Experimento 3.....	71
Figura 16 - Desempenho dos sujeitos nas sessões do 2º Treino e Extinção do Experimento 3.....	72
Figura 17 - Desempenho dos sujeitos na última sessão da 2ª Extinção e nas sessões da 2ª Reinstalação do Experimento 3.....	73
Figura 18 - Efeito da extinção sobre o desempenho dos sujeitos ao longo das sessões da 2ª Reinstalação.....	74

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
O modelo animal de recaída a drogas <i>cue-induced</i>	14
Análise funcional do modelo animal de recaída <i>cue-induced</i>	24
MÉTODO	29
Sujeitos.....	29
Drogas e soluções.....	29
Equipamento.....	30
Procedimento.....	31
Análise de dados.....	31
MÉTODO EXPERIMENTO 1.....	31
Procedimento.....	32
RESULTADOS EXPERIMENTO 1.....	38
MÉTODO EXPERIMENTO 2.....	48
Procedimento.....	48
RESULTADOS EXPERIMENTO 2.....	50
DISCUSSÃO EXPERIMENTOS 1 E 2.....	55
MÉTODO EXPERIMENTO 3.....	60
Procedimento.....	60
RESULTADOS EXPERIMENTO 3.....	66
DISCUSSÃO EXPERIMENTO 3.....	74
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	80
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais- IV (DSM-IV) a dependência de drogas é considerada um padrão mal-adaptativo do uso de substâncias psicoativas, levando a um prejuízo ou sofrimento significativos na vida do indivíduo.

Evidências do uso mal-adaptativo de drogas são obtidas pela observação de alterações físicas e comportamentais. Sintomas de tolerância e abstinência são considerados indicativos das alterações físicas produzidas pelo uso abusivo da droga. As alterações comportamentais são caracterizadas por: a) consumo da substância em maiores quantidades ou por um período mais longo do que o pretendido; b) desejo persistente ou esforços mal-sucedidos no sentido de reduzir uso da substância; c) gasto de muito tempo em atividades necessárias para a obtenção ou utilização da substância; d) prejuízos significativos das atividades sociais, ocupacionais ou recreativas; e) uso da substância a despeito dos prejuízos físicos, psicológicos e sociais (Associação Americana de Psiquiatria, 1994).

Entre as drogas que causam dependência uma das mais comuns e que acarreta maiores prejuízos é o álcool (McKim, 2006). De acordo com o Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (Cebid) de 5% a 10% da população adulta brasileira é dependente do álcool (Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas, 2005). Há vários fatores agravantes na dependência de álcool que dificultam seu tratamento. Um deles é o fato do álcool ser uma droga lícita, portanto, de fácil acessibilidade e que pode ser usada em qualquer lugar. Outro fator importante é a síndrome de abstinência causada pelo álcool, uma das mais graves causadas por psicotrópicos que, além de causar tremores e delírios, pode levar à morte.

Apesar do tratamento da dependência de álcool ter várias etapas, uma das mais importantes é evitar a recaída ao seu uso. Sabe-se hoje que a recaída é uma das principais características da dependência de álcool e também um dos principais

problemas clínicos enfrentados no tratamento do adicto (Associação Americana de Psiquiatria, 1994; Bachteler, Economidou, Danysz, Ciccocioppo, & Spanagel, 2005; Ciccocioppo, Sanna, & Weiss, 2001; Epstein, Preston, Stewart, & Shaham, 2006; O'Brien, Childress, Ehrman, & Robbins, 1998; Psiquiatria, 1994; Woody, McLellan, & O'Brien, 1990; Zironi, Burattini, Aicardi, & Janak, 2006).

A recaída é definida como o retorno ao consumo da droga após desintoxicação e certo período de abstinência. Apesar de ser um fenômeno complexo, diferentes procedimentos experimentais têm sido desenvolvidos no laboratório com a finalidade de reproduzir em não-humanos algumas das variáveis que a determinam. Por tentarem “simular” alguns dos aspectos da recaída humana, esses procedimentos são freqüentemente chamados de “modelos animais de recaída”.

Modelo animais são procedimentos de investigação de psicopatologias humanas com animais em laboratório, ou seja, são criados com o objetivo de reproduzir, em situações controladas de laboratório, fenômenos análogos aos transtornos mentais¹ humanos. O uso de modelos animais é importante na medida em que esses permitem que as variáveis que determinam essas psicopatologias possam ser especificadas e isoladas.

Um bom modelo animal de psicopatologia requer uma similaridade do processo básico que determina os comportamentos animal e humano. Assim, requer que as contingências que mantêm o comportamento em estudo controlem “desempenhos específicos comuns ao homem e ao animal, de maneira que possamos reconhecer a forma e a função do comportamento” (Guerra & Silva, 2002, p.234). Essa similaridade determina a validade dos procedimentos experimentais usados como modelos do

¹ O termo “transtorno mental” é utilizado aqui com base na nomenclatura do DSM-IV, porém não indica que os modelos animais pretendem reproduzir a “mente” no laboratório.

comportamento. Wilner (1991) propõe o uso de três critérios para avaliar a similaridade ou validade do modelo animal. O primeiro critério, chamado de validade nominal ou de face, requer que a topografia da resposta que o animal deve emitir seja similar a topografia da resposta que o ser humano apresenta na condição modelada. O segundo critério é a validade preditiva, que estabelece que as manipulações (por exemplo, drogas) que produzem alterações no comportamento humano a ser modelado também produzam alterações no comportamento dos animais. O terceiro e último critério, a validade de construto, estabelece que deve haver uma similaridade entre o processo básico que determina os comportamentos animal e humano.

Assim, para ser completo, um modelo animal ideal deve simular um transtorno mental em sua etiologia, nos mecanismos fisiológicos, nos comportamentos típicos apresentados por pessoas que tenham o transtorno, no tratamento e na prevenção (Silva, Guerra & Alves, 2005). No entanto, é importante salientar que dificilmente existe um modelo animal que possua todas as características mencionadas (Wilner, 1991)

Os modelos animais de recaída têm sido considerados modelos animais com uma boa validade nominal (Epstein, et al., 2006; Fuchs, Tran-Nguyen, Specio, Groff, & Neisewander, 1998). Os dados obtidos em laboratório indicam que as variáveis manipuladas nos modelos animais de recaída – exposição a uma pequena quantidade da droga, a estressores e a estímulos ambientais associados anteriormente ao consumo da droga – são variáveis relevantes para a determinação desse fenômeno. Portanto, esses modelos possuem uma boa validade preditiva (Childress, et al., 1993; Epstein, et al., 2006).

No entanto, os dados divergem quanto à validade preditiva deste modelo, pois sua eficácia em identificar drogas com potencial terapêutico em humanos ainda não está totalmente estabelecida para algumas drogas de abuso (Katz & Higgins, 2003; O'Brien

& Gardner, 2005). Os dados encontrados atualmente na literatura indicam que a validade de preditiva deste modelo animal está bem estabelecida para o álcool, porém os dados são sugestivos, mas ainda preliminares, para outras drogas como os opiáceos, a nicotina e a cocaína (Epstein, et al., 2006).

Por fim, a validade de construto dos modelos animais de recaída ainda não está bem estabelecida. Entretanto, é importante mencionar que existe consenso entre os autores em apontar que a complexidade do fenômeno da recaída restringe a validade teórica de um modelo particular (Epstein, et al., 2006).

Como mencionado anteriormente, alguns dos fatores mais importantes para a recaída do uso de drogas, que devem ser mimetizados nos modelos animais de recaída, são: a ingestão de uma pequena quantidade da droga, a exposição a estressores e a exposição a estímulos ambientais que foram associados ao uso da droga. Os modelos que mimetizam essas variáveis são os modelos chamados de *priming injection*, *exposure to stress*, *cue-induced* (Epstein, et al., 2006; Sanchis-Segura & Spanagel, 2006). O modelo *priming injection* reproduz o fenômeno do “primeiro gole”, no qual a ingestão de uma pequena quantidade da droga, mesmo após um tempo de abstinência, é capaz de provocar a recaída do ex-usuário. O modelo *exposure to stress* verifica em que medida a exposição a eventos estressantes pode ser responsável pela recaída do ex-usuário. E o modelo *cue-induced* verifica em que medida a exposição a estímulos ambientais que eram contingentes ao consumo da droga podem provocar a recaída de usuários que estão abstinentes há muito tempo.

O modelo animal de recaída a drogas *cue-induced*

O controle de estímulos discriminativos sobre as respostas reforçadas por droga tem sido tipicamente estudado pela farmacologia comportamental através de

procedimentos de reforçamento diferencial sob esquemas múltiplos². Os dados fornecidos por essas pesquisas têm sido valiosos para a compreensão das variáveis que determinam o controle discriminativo das respostas de consumo de droga. Todavia, por razões que serão expostas posteriormente, não são adequados para estudar a recaída. Em seu lugar são utilizados procedimentos experimentais denominados de *cue-induced* ou modelos *cue-induced*.

Os modelos *cue-induced* baseiam-se no suposto de que os estímulos ambientais associados ao consumo da droga adquirem propriedades de estímulo discriminativo e como tais, evocam respostas de auto-administração da droga. Esse modelo possui, em geral, três fases experimentais esquematizadas na Figura 1. A primeira consiste na realização de um treino discriminativo de dois componentes diferentes em sessões distintas, onde cada estímulo discriminativo sinaliza um reforçador particular e o esquema de reforçamento utilizado nos dois componentes é o mesmo. No primeiro componente um estímulo discriminativo (S^{D1}) sinaliza a disponibilidade de droga como reforçador para a resposta de pressão à barra e no segundo componente outro estímulo discriminativo (S^{D2}) sinaliza a disponibilidade de água ou salina como reforçador para respostas de pressão à barra. Depois do treino, os sujeitos passam por uma fase de Extinção, sem a presença dos estímulos, seguida da fase de Reinstalação na qual são realizadas sessões de teste em que cada um desses estímulos é apresentado, porém as respostas de pressão à barra não liberam o reforçador primário (Ciccocioppo, Martin-Fardon, & Weiss, 2004; Katner, Magalong, & Weiss, 1999; Katner & Weiss, 1999).

² Esquemas múltiplos são esquemas de reforçamento compostos nos quais dois ou mais esquemas se alternam, cada um na presença de um estímulo diferente (Catania, 1999).

Figura 1 – Diagramação das fases experimentais do modelo animal de recaída *cue-induced*.

Ciccocioppo, Martin-Fardon et al., (2004) realizaram o procedimento descrito acima para investigar o controle de estímulos ambientais sobre a reinstalação da resposta reforçada por cocaína. A fase de treino foi realizada em duas sessões. Na primeira sessão do experimento, um tom contínuo (S^{D1}) sinalizava a disponibilidade de cocaína intravenosa (i.v.) como reforçador da resposta de pressão à barra. Após cada reforço, seguia-se um período de *time-out* de 20 s, sinalizado por uma luz branca de baixa intensidade. Uma hora depois de finalizada a sessão, os animais foram submetidos a uma segunda sessão, de procedimento semelhante à primeira, porém como estímulo discriminativo foi apresentada uma luz branca de forte intensidade (S^{D2}) e o reforçador da pressão à barra era uma injeção de solução salina. O *time-out*, de 20 s de duração, era sinalizado por um tom intermitente. No dia seguinte às sessões de treino, os animais foram submetidos à fase de extinção sem a presença dos estímulos. Posteriormente foram realizadas duas sessões de reinstalação, semelhantes às sessões realizadas no treino, nas quais os estímulos discriminativos foram reapresentados, mas as pressões à barra continuavam em extinção. Os procedimentos de extinção e de reinstalação foram

repetidos após 3, 6, 9 e 12 meses, período durante o qual os animais não tiveram acesso à droga.

Os resultados obtidos mostraram que os animais responderam significativamente mais na presença do S^{D1} do que na presença do S^{D2} até nove meses depois do treino. Os autores realizaram então um segundo experimento no qual repetiram o procedimento do primeiro experimento, mas, em vez de cocaína, usaram leite condensado como reforçador na presença do S^{D1} . Os dados desse experimento revelaram que a taxa de respostas na presença de S^{D1} quando o leite condensado foi utilizado como reforçador foi extinta três meses após o treino discriminativo, indicando que o controle que o S^{D1} adquiriu sobre a resposta reforçada por cocaína foi mais resistente à extinção que o controle que S^{D1} adquiriu sobre a resposta reforçada por de leite condensado.

O estudo de Ciccocioppo, Martin-Fardon et al., (2004) é relevante para a compreensão do fenômeno da dependência na medida em que sugere que o controle de estímulos sobre a resposta reforçada por droga é mais resistente à extinção do que o controle sobre a resposta reforçada por outros reforçadores primários, como água ou comida. Esse dado poderia ser interpretado como evidência de que o valor reforçador da droga foi maior do que o do leite condensado. No entanto, é importante salientar que a via de administração dos reforçadores comparados – intravenosa para cocaína e oral para o leite condensado – poderia explicar os resultados obtidos pelos autores. O odor do reforçador, um estímulo geralmente presente quando o reforçador é administrado pela via oral, pode adquirir funções discriminativas sobre a resposta quando são usados ratos como sujeitos. Neste caso, a ausência do odor do leite condensado nos testes de reinstalação pode ter servido como estímulo discriminativo de que o reforçador não seria liberado (extinção), o que não acontecia com a cocaína por ser administrada i.v.

Utilizando também o procedimento *cue-induced*, Katner et al. (1999) mostraram que ratos não respondiam diferencialmente a estímulos sonoros e luminosos associados com a presença de etanol e água, respectivamente. Os autores programaram um treino discriminativo em que um estímulo sonoro (S^{D1}) indicava a disponibilidade de etanol como reforçador (S^{R1}) e um estímulo luminoso (S^{D2}) indicava a disponibilidade de água como reforçador (S^{R2}) em sessões separadas, sob esquema de reforçamento contínuo (CRF). Depois de passar por esse treino, os animais passaram pelas fases de extinção e reinstalação. Os dados obtidos indicaram que os animais não responderam diferencialmente na presença do som e da luz.

Com base nesses resultados os autores formularam a hipótese de que o odor de etanol – presente nas sessões em que era realizado o treino do som como estímulo discriminativo – pode ter se tornado um estímulo discriminativo da disponibilidade de etanol e, por ser um estímulo mais relevante para o rato devido as suas capacidades sensoriais, pode ter sombreado o condicionamento do som. No sombreadamento, dois estímulos são condicionados em conjunto e, quando é testado o controle desses estímulos sobre a resposta, verifica-se que o controle é menor do que quando os estímulos são condicionados sozinhos, ou seja, o fato dos estímulos serem condicionados juntos pode diminuir o controle que eles iriam adquirir sobre a resposta (Catania, 1999; Thein, Westbrook, & Harris, 2008). Desta forma, como o estímulo sonoro e o estímulo olfativo (odor do etanol) foram condicionados em conjunto como estímulos discriminativos, é possível que o condicionamento do odor de etanol como discriminativo tenha sombreado o condicionamento do estímulo sonoro como discriminativo.

Katner et al. (1999) realizaram, então, um segundo teste de reinstalação, utilizando os mesmos sujeitos do teste anterior, com a finalidade de verificar essa

hipótese. Nesse teste foram utilizados como estímulo discriminativo etanol (S^{D3}) ou água (S^{D4}) pingados no chão da caixa experimental minutos antes do início da sessão. Assim, o odor exalado pelo etanol serviria de estímulo discriminativo. Esse teste de reinstalação possuía quatro condições experimentais diferentes. Na primeira sessão de reinstalação foi apresentado apenas o S^{D3} , na segunda foram apresentados o S^{D3} e o S^{D1} simultaneamente, na terceira apenas o S^{D4} e na quarta sessão o S^{D4} e o S^{D2} simultaneamente. Os resultados da fase de reinstalação indicaram que os estímulos discriminativos associados ao etanol (S^{D1} e S^{D3}), reinstalaram a resposta de pressão à barra quando apresentados em conjunto, mas apenas S^{D3} reinstalou a resposta de pressão à barra quando apresentado separadamente. Os estímulos S^{D2} e S^{D4} não foram capazes de reinstalar a resposta de pressão à barra quando apresentados em conjunto ou individualmente.

Com o objetivo de replicar os dados do experimento anterior, Katner e Weiss (1999) programaram um novo experimento onde avaliaram as propriedades discriminativas de odores associados com a auto-administração de etanol. Nesse experimento ratos treinados a auto-administrar etanol foram divididos em dois grupos. No treino do primeiro grupo foram utilizadas como estímulo discriminativo gotas de etanol (S^{D1}) ou gotas de quinino³ (S^{D2}) para respostas de pressão à barra. Na presença de S^{D1} as respostas foram reforçadas por etanol e na presença de S^{D2} por quinino; para o segundo grupo o odor de banana foi usado como S^{D3} da resposta reforçada por etanol e o odor de laranja foi usado como S^{D4} da resposta reforçada por quinino. Depois, foram realizadas sessões de extinção, na ausência de todos os estímulos olfativos. Em seguida foram realizadas sessões de reinstalação com a reintrodução dos estímulos olfativos,

³ O quinino é uma substância de gosto amargo que tem funções antitérmicas, antimaláricas e analgésicas; além de usado como flavorizante da água tônica.

mas sem consequências programadas. Nessas sessões foi observado que S^{D1} e S^{D3} , mas não S^{D2} e S^{D4} , reinstalaram a resposta de pressão à barra. Esses resultados são coerentes com a hipótese levantada por Katner et al. (1999) de que o odor de etanol presente durante o treino pode se tornar um estímulo discriminativo da disponibilidade de etanol como reforçador. Também parecem sugerir que quando são utilizados estímulos sonoros e luminosos como discriminativos da disponibilidade de etanol como reforçador, pode haver sombreamento desses estímulos pelo odor do etanol, conforme sugerem os dados de Katner et al. (1999).

Uma variação do procedimento *cue-induced*, foco de interesse deste estudo, emprega reforçadores condicionados durante o treino discriminativo. Nesses experimentos (Bachteler, et al., 2005; Ciccocioppo, Angeletti, & Weiss, 2001; Ciccocioppo, Economidou, et al., 2004; Ciccocioppo, Lin, Martin-Fardon, & Weiss, 2003) freqüentemente são usados odores como estímulos discriminativos e estímulos luminosos e sonoros como reforçadores condicionados. O delineamento experimental é esquematizado na Figura 2. Como mostrado nessa figura, o procedimento consta de uma fase pré-experimental (quando é utilizado o etanol como reforçador) e três fases experimentais. Na fase pré-experimental, os sujeitos são treinados a administrar etanol oralmente pelo procedimento de *fade in* de etanol e *fade out* de sacarose (Samson, 1986; Samson, Files, Denning, & Marvin, 1998; Samson, Sharpe, & Denning, 1999; Samson, Tolliver, Lumeng, & Li, 1989). Depois são submetidos à fase de treino no qual a resposta é reforçada sob dois componentes diferentes. Em um dos componentes, um odor (S^{D1}) sinaliza a disponibilidade de etanol como reforçador e cada pressão à barra aciona um estímulo luminoso (S^{r1}) e libera o etanol como reforçador (S^{R1}). No outro componente, outro odor (S^{D2}) sinaliza a disponibilidade de água como reforçador e cada pressão à barra aciona um estímulo sonoro (S^{r2}) e libera a água como reforçador (S^{R2}).

Finalizada essa fase, os sujeitos passam pela fase de extinção da resposta de pressão à barra sem a presença dos estímulos previamente mencionados (S^{Ds} , S^{rs} e S^{Rs}); e depois pela fase de reinstalação, na qual os estímulos da fase de treino são reintroduzidos, porém, as respostas de pressão à barra não liberam etanol ou água.

Figura 2 – Diagramação da fase pré-experimental e das fases experimentais do modelo animal de recaída *cue-induced* quando são incluídos reforçadores condicionados à contingência do treino discriminativo e é usado etanol como reforçador.

Em um dos experimentos que utilizou o procedimento descrito anteriormente (Ciccocioppo, Martin-Fardon e Weiss, 2002), ratos foram treinados a auto-administrar etanol ou água sob dois componentes diferentes. No primeiro componente, a disponibilidade de etanol foi sinalizada por um estímulo olfativo (S^{D1}) e cada pressão à barra era seguida pela iluminação da caixa experimental (S^{r1}) e pela droga (S^{R1}). No segundo componente, a disponibilidade de água foi sinalizada por um estímulo olfativo

diferente (S^{D2}) e as respostas de pressão em sua presença foram seguidas por um tom (S^{r2}). Como estímulos olfativos foram usadas essências colocadas na serragem no chão da caixa imediatamente antes do início da sessão. Uma vez finalizado o treino, entrou em vigência a fase de extinção, na qual a resposta de pressão à barra foi submetida à extinção na ausência dos estímulos discriminativos e reforçadores condicionados (S^{D1}/S^1 e S^{D2}/S^{r2}). Em seguida, foi realizada a fase de reinstalação, na qual os estímulos utilizados no treino foram reapresentados, porém as respostas de pressão à barra não liberavam o etanol e a água como reforçador. No primeiro dia de reinstalação metade dos sujeitos foi testada com os estímulos do primeiro componente (S^{D1}/S^{r1}) e a outra metade com os estímulos do segundo componente (S^{D2}/S^{r2}). No segundo dia os sujeitos foram testados no componente em que não haviam sido testados o dia anterior. Os resultados obtidos na fase de reinstalação revelaram que a re-exposição aos estímulos associados ao etanol, mas não aos associados à água, resultou na pronta reinstalação da pressão à barra.

Estudos do modelo *cue-induced* indicam que a preferência inata por etanol parecer ser uma variável que afeta o desempenho obtido nas fases de treino e reinstalação (Ciccocioppo, Angeletti, et al., 2001; Ciccocioppo & Hyttia, 2006). Por exemplo, Ciccocioppo, Angeletti, et al. (2001) submeteram duas cepas diferentes de ratos, Cepa P (*preferring*) e Cepa NP (*non-preferring*)⁴, a um procedimento semelhante ao realizado por Ciccocioppo, et al. (2002). Introduziram, no entanto, um esquema de razão progressiva⁵ nas sessões finais da fase de treino com a finalidade fortalecer o controle de S^{D1}/S^{r1} sobre comportamento de auto-administração de etanol. Finalizada a

⁴ Ratos da cepa P são ratos selecionados pela sua preferência inata por etanol e ratos da cepa NP são ratos selecionados pela baixa preferência por etanol.

⁵ No esquema de razão progressiva a razão de resposta exigida para a obtenção do reforçador é aumentada progressivamente até o animal parar de responder (*break-point*).

fase de treino, os animais passaram pela fase de extinção, e em seguida passaram pela fase de reinstalação. Na primeira sessão da fase de reinstalação os sujeitos foram testados na presença dos estímulos S^{D1}/S^{r1} e na segunda na presença dos estímulos S^{D2}/S^{r2} . O resto das sessões dessa fase foi conduzido a cada três dias. Foram realizadas dez sessões em total com os estímulos S^{D1}/S^{r1} e duas com os estímulos S^{D2}/S^{r2} .

Semelhante ao relatado por outros estudos com o modelo *cue-induced*, os resultados mostraram que a apresentação dos estímulos S^{D1}/S^{r1} , mas não de S^{D2}/S^{r2} , reinstalou a resposta de pressão à barra em ambas as cepas de ratos. Contudo, a análise do desempenho de cada grupo revelou que a taxa de respostas dos sujeitos da cepa P foi significativamente maior do que a dos sujeitos NP. Foi também observado que ambos os grupos experimentais continuaram a responder na presença dos estímulos associados com o etanol até a última sessão de teste. Os dados obtidos mostram que o treino realizado foi efetivo em estabelecer o controle de estímulos associados ao consumo de etanol, mesmo em ratos selecionados pela sua baixa preferência por etanol. Ao mesmo tempo, os resultados revelaram que a taxa de respostas foi função da preferência inata por etanol e, portanto, é uma variável que deve ser considerada dentro da pesquisa de dependência de drogas.

Os resultados das pesquisas anteriormente descritas foram replicados com outras drogas reforçadoras como cocaína e metanfetamina (Ciccocioppo, Sanna, et al., 2001; Di Ciano & Everitt, 2004; Weiss, et al., 2000), corroborando que o procedimento de treino do modelo *cue-induced* é efetivo para estabelecer estímulos neutros como discriminativos e reforçadores condicionados de respostas reforçadas por drogas de abuso e consolidando a validade do procedimento como modelo de recaída.

Análise funcional do modelo de recaída *cue-induced*

Apesar de ser um procedimento baseado em princípios de análise do comportamento, o modelo *cue-induced* é principalmente utilizado por neurocientistas. Nas neurociências o modelo é freqüentemente empregado para estabelecer linhas de base de desempenho sobre as quais são realizadas diferentes manipulações experimentais que pretendem estudar os mecanismos neurofisiológicos dos processos envolvidos na recaída a drogas (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006). As informações que o modelo poderia revelar sobre as contingências comportamentais das quais a recaída é função é geralmente ignorada ou pouco explorada por esses pesquisadores.

Um primeiro passo para uma análise funcional dos aspectos da recaída ao uso de drogas, mimetizada pelo modelo *cue-induced*, é analisar as contingências de reforço que o caracterizam. Deste modo, a seguir serão analisadas as três fases experimentais desse modelo: o treino, a extinção e a reinstalação.

A primeira variável do treino que deve ser discutida é o esquema de reforço contínuo (CRF) utilizado para a manutenção da resposta de pressão à barra. Sob esse esquema, cada pressão à barra é seguida do reforçador. O uso do CRF pode dificultar o estabelecimento do controle discriminativo durante o treino, pois promove que o responder fique sob controle exclusivo das conseqüências. Portanto, o uso desse esquema de reforçamento pode prejudicar um dos principais objetivos desse modelo que é verificar o controle dos estímulos ambientais sobre a recaída.

Outra variável importante que pode ser analisada é o tipo de treino discriminativo que caracteriza o modelo (Catania, 1999; Matos 1981). No procedimento *cue-induced*, as discriminações são treinadas sucessivamente em sessões de treino distintas. Porém, a literatura indica que discriminações treinadas simultaneamente são mais efetivas em estabelecer estímulos como discriminativos que discriminações

treinadas sucessivamente⁶. Isso ocorre porque no treino sucessivo, o sujeito pode responder sem atentar para o estímulo antecedente e, ainda assim, ser reforçado em 50% das tentativas. No procedimento simultâneo, emitir a resposta “errada” implica num impedimento de responder corretamente. (Matos, 1981).

Apesar do treino sucessivo não ser tão eficaz em estabelecer discriminações quanto o simultâneo, o uso dele é justificável no modelo em função de serem usadas drogas psicoativas como reforçadores. Os efeitos da droga sobre o Sistema Nervoso Central (SNC) do sujeito mudam sua relação com o ambiente e alteram também sua atividade motora. Como consequência, alterações na taxa de respostas, decorrentes dos efeitos centrais da droga e não relacionados com o controle dos estímulos, podem afetar os resultados observados nos experimentos. Por exemplo, quando o treino discriminativo é realizado numa mesma sessão, seja com discriminação simultânea ou sucessiva, a resposta no componente que não libera a droga é afetada pelos efeitos da droga. É por esse motivo que alguns cuidados devem ser tomados para diminuir os efeitos centrais da droga sobre o comportamento estudado. Alguns dos cuidados adotados pelo modelo *cue-induced* são: uso de sessões de menor duração, de uma barra controle cuja pressão não fornece consequências experimentais e de sessões de discriminação sucessiva em sessões de treino distintas.

Outra variável que justifica o uso de sessões de treino discriminativo distintas é o uso de odores como estímulos discriminativos. Em caixas operantes comuns não é possível apresentar mais de um odor por sessão sem comprometer o controle experimental e as propriedades discriminativas dos estímulos olfativos usados. Desta

⁶ Na discriminação simultânea dois ou mais estímulos são apresentados ao mesmo tempo, enquanto na discriminação sucessiva dois ou mais estímulos são apresentados sucessivamente, um após o outro (Catania, 1999).

forma, o uso de mais de um estímulo olfativo em uma sessão requer de equipamento especializado que garanta a remoção de cada estímulo olfativo após sua apresentação.

Outra vantagem do treino sucessivo é que ele se assemelha mais ao consumo de drogas realizado por humanos do que o treino simultâneo, especialmente se a droga for ilícita, o que garante uma validade maior a esse modelo.

Um outro aspecto importante do treino realizado no modelo *cue-induced* é que o procedimento utilizado pode estabelecer uma cadeia de respostas, pois o reforçador condicionado da resposta de pressão à barra pode se tornar também um estímulo discriminativo da resposta de consumo da droga. Caso isso ocorra, dois estímulos (o reforçador condicionado e o discriminativo) irão sinalizar a disponibilidade do mesmo reforçador. Portanto, provavelmente, um dos estímulos irá adquirir maior controle sobre a resposta de pressão à barra do que o outro.

A fase de extinção do modelo *cue-induced* tem como objetivo extinguir controles por estímulos espúrios que podem ser adquiridos durante o treino, como, por exemplo, o som do mecanismo do bebedouro, o contexto da caixa operante, entre outros. Em geral, esse procedimento é efetivo em atingir o objetivo proposto. Possui também certa validade nominal na medida em que mimetiza a interrupção do uso de drogas em humanos. É sabido que uma das estratégias usadas por adictos para diminuir ou parar o uso de drogas é a esquiva dos estímulos ambientais que antes eram associados ao consumo da droga, fato que impede que ocorra a extinção da relação desses estímulos com a resposta de procura e consumo da droga.

Por sua vez, a fase de reinstalação apresenta problemas para a análise funcional da recaída ao uso de drogas, pois não permite diferenciar o controle dos estímulos discriminativos do controle dos reforçadores condicionados sobre as respostas de auto-administração de droga. Esse problema ocorre porque nos testes de reinstalação

realizados, que seriam análogos à recaída, os estímulos são apresentados em conjunto, impossibilitando a diferenciação do controle exercido pelo estímulo discriminativo do controle exercido pelo reforçador condicionado. No entanto, é importante salientar que, na dependência de drogas em humanos, os estímulos podem simultaneamente ser condicionados, e também estarem ambos presentes quando ocorre a recaída.

Apesar de não haver diferenciação do controle exercido por pelos reforçadores condicionados e estímulos discriminativos nos testes de reinstalação, tem sido sugerido que os resultados obtidos são indicativos do controle dos estímulos discriminativos, mas não dos reforçadores condicionados, sobre as repostas de auto-administração de droga (Bachteler, et al., 2005). Entretanto, não existe evidência empírica, nem aparente fundamentação teórica, para supor que o treino realizado na primeira fase do procedimento favoreça o controle dos estímulos discriminativos sobre o dos reforçadores condicionados. Deste modo, seria esperado que, na fase de reinstalação, tanto os reforçadores condicionados, quanto os estímulos discriminativos, controlassem a resposta de pressão à barra. Possíveis diferenças nesse controle poderiam oferecer informações metodológicas e teóricas relevantes para o estudo da função de estímulos ambientais sobre a resposta de auto-administração de drogas.

Diante dos problemas de procedimentos apresentados pelo modelo animal *cue-induced* o presente trabalho teve como objetivo principal manipular parâmetros experimentais para verificar separadamente o controle dos estímulos discriminativos e reforçadores condicionados sobre a resposta operante de pressão à barra reforçada por etanol. Especificamente, este estudo apresenta três objetivos: a) replicar os dados dos testes de reinstalação obtidos por outros experimentos que utilizaram esse modelo (Bachteler, et al., 2005; Ciccocioppo, Angeletti, et al., 2001; Ciccocioppo, Economidou, et al., 2004; Ciccocioppo, et al., 2003); b) comparar os dados obtidos com etanol com

outros reforçadores primários; c) analisar separadamente o controle que cada estímulo adquiriu sobre a resposta de pressão à barra após o treino.

A relevância deste estudo é justificada pela contribuição à investigação de variáveis relevantes do modelo animal de recaída *cue-induced*, pois é através desse tipo de investigação que ocorre o aprimoramento dos modelos animais tornando-os modelos com melhor validade experimental.

Do ponto de vista social, os resultados deste estudo serão úteis para agregar conhecimento sobre as variáveis das quais o abuso de drogas é função. Nesse sentido, poderão ajudar na identificação de variáveis relevantes para o planejamento de intervenções mais eficazes em pessoas que apresentam problemas de recaída no tratamento do abuso de drogas.

MÉTODO

Sujeitos

Foram utilizados nesse estudo um total de 56 ratos da cepa *Wistar*. No Experimento 1 foram utilizados 16 ratos machos de aproximadamente 65 dias provenientes do biotério do Instituto Butantan. Os animais foram mantidos em um ciclo de 12h luz/escuro, com as luzes sendo acesas às 7:00h da manhã.

No Experimento 2 foram selecionados 8 sujeitos do Experimento 1 e foram mantidos nas mesmas condições.

No Experimento 3 foram utilizados 40 sujeitos machos da cepa *Wistar* de aproximadamente 65 dias, provenientes do biotério da Faculdade de Medicina – USP. Os sujeitos foram mantidos em um ciclo de 12h luz/escuro com as luzes sendo acesas às 7:00h da manhã no início do experimento. Conforme descrito no procedimento, durante a fase de auto-administração o ciclo foi trocado e as luzes passaram a ser acesas às 21:00 h.

Todos os sujeitos foram alojados em duplas em gaiolas viveiro com dimensões de 38cm X 32cm X 16cm, de poliuretano semi-transparente com grade superior para a alimentação e tiveram água e comida *ad lib* exceto quando comunicado no procedimento.

Drogas e Soluções

As soluções de etanol foram preparadas por diluição de álcool etílico (99,5% - marca Synth) em água (volume/volume - v/v). As soluções de sacarose foram preparadas por diluição de açúcar de mesa em água (peso/volume - w/v). As soluções de

leite condensado também foram preparadas por diluição do leite condensado em água (w/v).

Equipamento

Foram usadas caixas de condicionamento operante de fabricação *Med Associates* de dimensões 32cm x 25cm x 21cm, separadas por caixas de isolamento acústico. No Experimento 1 a configuração da caixa operante foi mudada de acordo com a fase do experimento. Na fase de **Auto-administração oral de etanol/sacarose**, uma proveta de 100 ml foi colocada numa das paredes da caixa operante de forma que uma parte do seu bico ficasse exposto dentro da caixa. Nas fases de **Treino, Extinção e Reinstalação** a proveta foi removida e substituída por um bebedouro localizado no centro da caixa a 5 cm do chão. Na mesma parede foram colocadas duas barras de aproximadamente 5 cm de largura, a 8 cm do chão. Uma das barras (barra direita) estava localizada a 3,5 cm do lado direito do bebedouro e a outra (barra esquerda) a 3,5 cm do lado esquerdo. Na mesma parede do bebedouro estavam localizados um estímulo luminoso de 1 W (luz), localizado a 7 cm acima da barra esquerda, e um estímulos sonoro de 2900 Hz / 65 Db (som), localizado atrás da parede a 6 cm acima da mesma barra.

Um purificador de ar HEPA Air Purifier, modelo V9070 de fabricação Vicks foi utilizado para remover os resíduos de odor das caixas e sala experimentais.

O controle das sessões experimentais e registro dos dados foi feito através do programa MED-PC (*Med Associates*) e um computador *IBM-PC* conectado à interface da caixa.

Procedimento

Foram realizados três experimentos. O Experimento 1 foi composto por uma fase pré-experimental de Auto-administração de etanol e sacarose e seis fases experimentais divididas em dois blocos. Cada bloco era constituído por uma fase de Treino, uma de Extinção e uma de Reinstalação. O Experimento 2 tinha apenas três fases experimentais Treino, Extinção e Reinstalação. Por fim, o Experimento 3 foi composto por uma fase pré-experimental de Auto-administração de etanol e seis fases experimentais divididas em dois blocos. Cada bloco era constituído por uma fase de Treino, uma de Extinção e uma de Reinstalação.

Análise de dados

A análise de dados dos Experimentos 1 e 2 foi realizada através da inspeção visual dos gráficos. Especificamente, a análise da fase de Reinstalação contou também com o uso de um “critério de reinstalação” que determinava que a frequência de respostas dos sujeitos nas sessões dessa fase deveria ser no mínimo três vezes maior que a frequência de respostas dos sujeitos na fase de Extinção.

A análise da fase de Treino do Experimento 3 foi realizada através da inspeção visual dos gráficos e, para as outras fases do experimento, foram realizadas análises estatísticas. Como as frequências de respostas não apresentaram distribuição normal em todas as fases realizadas, os resultados obtidos foram analisados por testes não paramétricos.

As frequências de respostas obtidas nas sessões de Extinção e de Reinstalação foram analisadas pelo teste Friedman de medidas repetidas. Resultados significativos foram seguidos do teste de Wilcoxon, com correção Bonferroni para múltiplas comparações, foi usado para comparar por pares as condições.

EXPERIMENTO 1

Procedimento

Após três dias de habituação ao biotério, todos os animais foram privados por 24h e foram modelados a pressionar a barra esquerda da caixa operante. Como reforçador foi utilizada uma solução de 4% (w/v) de leite condensado dissolvido em água. Posteriormente, os animais foram submetidos a uma fase pré-experimental (Auto-administração oral de etanol/sacarose) e a três fases experimentais (Treino, Extinção e Reinstalação).

Auto-administração oral de etanol/sacarose

Os animais foram divididos em dois grupos experimentais. Um grupo foi submetido ao procedimento de auto-administração oral de etanol (grupo ET, $n = 10$) e o outro grupo ao procedimento de auto-administração de sacarose (grupo SAC, $n = 6$). Em todas as sessões dessa fase cada lambida no bico da proveta tinha como consequência a apresentação da solução contida nela.

Por três dias consecutivos todos os sujeitos foram submetidos a três sessões de 20 min nas uma solução de 10% de sacarose era contingente às lambidas sob um esquema de CRF. Ao longo desses três dias os animais tinham o acesso restrito à água por apenas 30 min ao dia. Após esses três dias foi introduzido para o grupo ET um procedimento de *fade in* de etanol e de *fade out* de sacarose (Samson, et al., 1998) e, para o grupo SAC, um procedimento de *fade in* de sacarose. Foram realizadas no total 43 sessões de *fade in* de etanol e sacarose.

A Tabela 1 mostra a ordem em que as sessões de auto-administração foram realizadas e a quantidade de sessões de cada solução administrada. Nas primeiras duas

sessões do grupo ET a concentração da solução foi de 2% de etanol e 10% e sacarose (2E/10S)⁷, seguida de duas sessões de 5E/10S, duas de 10E/10S, duas de 10E/5S, cinco sessões de 10E/2S e duas sessões de 10E. Devido ao consumo da solução ter diminuído mais de 50% quando pela retirada da sacarose da solução (sessões 10E), foram realizadas mais cinco sessões de 10E/2S e três sessões de 10E/1S intercaladas com sessões de 10E.

Tabela 1

Sessões de administração de etanol da fase pré-experimental de Auto-administração oral de etanol/sacarose do Experimento 1. As sessões estão discriminadas por concentração das soluções de etanol na ordem em que foram apresentadas e número de sessões realizadas com cada concentração.

Concentração da solução de etanol	Sessões
10S/2E	2 sessões
10S/5E	2 sessões
10S/10E	2 sessões
5S/10E	3 sessões
2S/10E	5 sessões
10E	2 sessões
10E/2S	1 sessão
10E	3 sessões
10E/2S	2 sessões
10E/1S	3 sessões
10E	4 sessões
10E/2S	1 sessão
10E	1 sessão
10E/2S	1 sessão
10E	9 sessões

O grupo SAC recebeu nas duas primeiras sessões soluções de concentração 2S, seguidas de duas sessões de 5S e dez sessões de 10S. Por último, a concentração de sacarose foi aumentada para 14,5S. Essa concentração foi selecionada por ser isocalórica com a concentração de 10E. A concentração de 14,5S foi administrada por 27 dias.

⁷ O número refere-se a concentração da solução (por exemplo 2=2%, 5= 5%) e a letra ao soluto utilizado (E=etanol e S=sacarose)

Todas as sessões dessa fase foram realizadas uma vez ao dia, cinco dias por semana (segunda a sexta).

A fase terminou quando a média de consumo de etanol dos sujeitos se estabilizou (não variou por mais de 20% em três dias consecutivos).

No final dessa fase, foram selecionados os animais do grupo ET que foram submetidos à próxima fase. O critério utilizado foi: nas sessões em que a solução de concentração 10E foi apresentada, os animais que consumiram doses “ativas” (0,25 mg/kg ou mais de etanol) em pelo menos uma dessas sessões foram incluídos na Fase de Treino. O uso desse critério é justificado por pesquisas que indicam que, em ratos, o consumo oral de doses de etanol iguais ou maiores a 0,25 mg/kg aumenta a atividade motora e causa mudanças significativas nos circuitos dopaminérgicos do sistema nervoso central (Williams-Hemby & Porrino, 1997a, 1997b).

1º Treino e Extinção

Essa fase se iniciou na sessão seguinte do término da fase de Auto-administração. As sessões de treino foram uma vez ao dia de segunda a sexta e as sessões de extinção foram realizadas diariamente. As sessões tinham 30 min de duração na caixa operante com as duas barras disponíveis. Respostas na barra direita eram registradas, porém não tinham consequência programada e respostas na barra esquerda davam acesso ao reforçador. Antes do início das sessões com etanol (grupo ET) ou sacarose (grupo SAC) como reforçador, cinco gotas (aproximadamente 0,1 ml) de extrato com odor de laranja (S^{D1}) eram colocadas na maravalha da bandeja da caixa experimental, permanecendo ao longo de toda a sessão. Nas sessões do primeiro componente, cada pressão na barra esquerda acionava por cinco segundos um estímulo luminoso (S^{r1}) e liberava 0,1 ml do reforçador. Nas sessões do segundo componente,

cinco gotas de extrato de odor de erva-doce (S^{D2}) eram colocadas na serragem da bandeja e cada pressão na barra da esquerda acionava por cinco segundo um estímulo sonoro (S^{r2}) e o bebedouro contendo 0,1 ml desse reforçador.

Os sujeitos foram submetidos a 20 sessões diárias de treino, 10 sessões com o primeiro componente e 10 sessões com o segundo. A ordem das sessões era semi-aleatória com a condição de que o mesmo componente não estivesse presente em mais de três sessões consecutivas. Ao final das sessões experimentais, as caixas eram limpas e um purificador eletrônico era acionado por 2 horas para eliminar vestígios de odor na sala e nas caixas.

Ao término do treino os ratos foram submetidos a 10 sessões diárias de extinção de pressão à barra de 30 min cada. Nessas sessões, a maravalha foi retirada da bandeja da caixa experimental, os estímulos discriminativos não foram apresentados e as respostas de pressão à barra não tiveram como conseqüências a apresentação dos reforçadores condicionados e primários, nem o acionamento do bebedouro.

Finalizadas as sessões de extinção, foi realizada uma nova seleção de sujeitos: foram excluídos do experimento os animais dos grupos ET e SAC que não apresentaram diferenças entre as freqüências de respostas emitidas no Treino e na Extinção.

Devido a problemas com o fabricante das essências, as sessões de extinção foram seguidas da repetição dos procedimentos de treino e extinção com novas essências de outro fabricante. Os critérios utilizados para o término dessa nova fase de treino foram: a) os animais deviam ter sido expostos a um mínimo de cinco sessões de cada componente e b) a freqüência de respostas de três sessões consecutivas devia ser similar (variação igual ou menor a 20%) a obtida nas últimas três sessões do treino realizado previamente. Por outro lado, as sessões de extinção foram finalizadas quando

a frequência de respostas de todos os sujeitos foi 85% menor do que a média das últimas três sessões do treino. No total foram realizadas 12 sessões de treino (seis de cada componente) e seis sessões de extinção.

Para facilitar a descrição de procedimentos e resultados, serão considerados ao longo do texto como 1º Treino e Extinção apenas as sessões de treino e extinção com as novas essências.

1ª Reinstalação

Nas sessões de reinstalação os estímulos discriminativos e reforçadores condicionados usados na fase de Treino foram reintroduzidos, mas as respostas de pressão à barra não acionavam o bebedouro, ou seja, não foram reforçadas por etanol, sacarose ou água.

Foram realizadas seis sessões diárias, cada uma com de 30 min de duração. A ordem dessas sessões foi era semi-aleatória com a condição de que os estímulos utilizados na fase de Treino fossem apresentados em conjunto nas duas primeiras sessões de teste. A ordem das sessões é apresentada na Tabela 2. Nas sessões que a luz e o som foram apresentados individualmente, a serragem foi retirada da bandeja da caixa experimental.

Ao finalizar a 1ª Reinstalação os animais foram mais uma vez submetidos às três fases experimentais com a finalidade de controlar a ordem de apresentação das sessões (Tabela 2). Foi, portanto, estabelecida uma nova linha de base das fases de Treino e Extinção (2º Treino e Extinção) e depois foram realizadas novamente sessões de Reinstalação (2ª Reinstalação – Tabela 2). Detalhes do 2º Treino, Extinção e Reinstalação são descritos a seguir.

Tabela 2

Condições experimentais de cada sessão da 1ª e 2ª Reinstalação do Experimento1. A Tabela mostra os estímulos ou a combinação de estímulos apresentadas em cada sessão de reinstalação.

Fase	Sessão	Estímulo discriminativo	Reforçador condicionado
1ª Reinstalação	1	S^{D1}	S^{r1}
	2	S^{D2}	S^{r2}
	3	-	S^{r1}
	4	-	S^{r2}
	5	S^{D2}	-
	6	S^{D1}	-
2ª Reinstalação	1	S^{D2}	S^{r2}
	2	S^{D1}	S^{r1}
	3	S^{D1}	-
	4	S^{D2}	-
	5	-	S^{r2}
	6	-	S^{r1}

Nota: S^{D1} = odor de laranja, S^{r1} = luz, S^{D2} = odor de erva-doce, S^{r2} = som

2º Treino e Extinção

O procedimento realizado nessa fase foi semelhante ao descrito para o 1º Treino e Extinção.

2ª Reinstalação

O procedimento realizado nessa fase foi similar ao da 1ª Reinstalação, porém a ordem das sessões era semi-aleatória com a condição de que cada estímulo fosse testado em uma ordem diferente da testada na 1ª Reinstalação. A ordem das sessões da 2ª Reinstalação está indicada na Tabela 2.

de etanol foi aumentada gradualmente e a concentração de sacarose foi diminuída gradualmente até que a solução final ingerida pelos ratos fosse de 10E. A Figura 3b representa a média de peso em gramas (g) dos sujeitos ao longo do procedimento. A Figura 3c representa a média de concentração de etanol ingerido em gramas por quilo (g/Kg).

Como mostrado na Figura 3a, apesar do consumo da solução ter sido irregular nessa fase, nota-se que esse comportamento foi função das mudanças nas concentrações de sacarose e etanol, pois: a) o consumo de solução diminuiu após a concentração de etanol ter sido aumentada para 10% (10E/10S), b) diminuições na concentração de sacarose foram acompanhadas de redução do consumo (concentrações 10E/5S, 10E/2S, 10E/1S) e c) os menores valores foram observados nas sessões em que a sacarose foi removida da solução (10E).

Na Figura 3b pode-se observar que houve, ao longo do procedimento, um aumento progressivo, porém discreto, de peso corporal dos sujeitos.

Como mostrado na Figura 3c, as doses de etanol ingeridas (g/kg) também foram sensíveis às mudanças de concentração de SAC e ET. Nota-se ainda nessa figura que o maior valor de dose ingerida ($1,83 \pm 0,33$ g/kg) foi observado com a máxima concentração de etanol e sacarose (10E/10S) e que o menor valor de dose ingerida foi obtido após a sacarose ser removida da solução (10E).

Apesar da ingestão de etanol ter diminuído depois da retirada da sacarose da solução, pode-se observar na Figura 3c que a dose ingerida se estabilizou nas últimas sete sessões em torno de 0,30 g/kg. Segundo (Williams-Hemby & Porrino, 1997a, 1997b) a ingestão oral de doses iguais ou superiores a 0,25 g/kg podem ser caracterizadas como doses “ativas”, pois aumentam a atividade motora e causam mudanças significativas nos circuitos dopaminérgicos do Sistema Nervoso Central

Figura 4 - Médias ($\pm$ EPM) de consumo da solução de sacarose e peso dos sujeitos do grupo SAC ao longo da fase de Auto-administração oral de etanol/sacarose. A Figura 4a representa a média de consumo (ml) dos sujeitos do grupo SAC em cada sessão do procedimento de *fading in* de sacarose. A Figura 4b representa a média de peso corporal em gramas (g) dos sujeitos do grupo SAC ao longo do procedimento.

1º e 2º Treino e Extinção

Os dados de seis sujeitos, quatro do grupo ET e dois do grupo SAC, não foram incluídos na análise de dados dessas fases. Um sujeito do grupo ET faleceu durante o treino e os outros cinco sujeitos, três do grupo ET e o dois do grupo SAC, foram excluídos do experimento porque a frequência de respostas emitidas por esses sujeitos se manteve em nível de extinção durante toda a fase de Treino.

Na Figura 5 é apresentado o desempenho dos sujeitos do grupo ET no 1º e 2º Treino e Extinção. Os dados representam a frequência de respostas de pressão à barra de cada sujeito em cada sessão. Todos os sujeitos mostraram, em geral, uma frequência maior de respostas nas sessões em que a resposta foi reforçada por etanol do que nas sessões em que a resposta foi reforçada por água. Essa diferença foi mais evidente para SUJ1 e SUJ10 do que para SUJ7 e SUJ8. Observa-se ainda nessa figura que na fase de Extinção que seguiu cada treino a frequência de respostas dos diminuiu consideravelmente a partir da primeira sessão (em torno de 89% menor em relação à respectiva fase de Treino) e que esse desempenho manteve-se relativamente estável ao longo dessa condição.

Na Figura 6 é mostrada a frequência de respostas de pressão à barra de cada sujeito do grupo SAC em cada sessão do 1º e 2º Treino e Extinção. Nota-se que a frequência de respostas de todos os sujeitos foi maior em todas as sessões de treino em que a resposta foi reforçada por sacarose do que nas sessões em que a resposta foi reforçada por água. Observa-se também que no 1º Treino, o desempenho de todos os

sujeitos foi mais estável do que no 2º Treino e que nesse último a frequência de respostas mostrou um padrão crescente. Nas duas fases de Extinção realizadas todos os animais mostraram diminuição estável da frequência de respostas (em torno de 97% em relação à fase de treino).

Figura 5 - Desempenho dos sujeitos do grupo ET no 1º e 2º Treino e Extinção do Experimento 1. Os dados representam a frequência de respostas de pressão à barra de cada sujeito em cada sessão das fases de Treino e Extinção. No Treino pressões à barra na presença do odor laranja eram seguidas de um estímulo luminoso e da liberação de etanol; e pressões à barra na presença do odor erva-doce eram seguidas de um estímulo sonoro e da liberação de água. Na Extinção, os estímulos olfativos, luminosos, auditivos e o etanol e a água não estavam presentes.

Em resumo, tanto o etanol quanto a sacarose mantiveram frequências de respostas mais altas do que a água no 1º e no 2º Treino. Porém, comparando os resultados do grupo ET (Figura 1) e do grupo SAC (Figura 2) observa-se que a

freqüência de respostas mantida pela sacarose foi maior e mais estável do que a mantida pelo etanol, indicando que a solução de sacarose foi mais reforçadora que a solução de etanol.

Figura 6 - Desempenho dos sujeitos do grupo SAC no 1º e 2º Treino e Extinção do Experimento 1. Os dados representam a freqüência de respostas de pressão à barra de cada sujeito em cada sessão das fases de Treino e Extinção. No Treino pressões à barra na presença do odor laranja eram seguidas de um estímulo luminoso e da liberação de sacarose; e pressões à barra na presença do odor erva-doce eram seguidas de um estímulo sonoro e da liberação de água. Na extinção, os estímulos olfativos, luminosos, auditivos e a sacarose e a água não estavam presentes.

1ª e 2ª Reinstalação

Na Figura 7 é mostrado a média da freqüência de respostas das últimas três sessões da fase de extinção (EXT) e a freqüência de respostas de cada sessão de Reinstalação do grupo ET. Os dados representam a freqüência de respostas apresentada

pelos sujeitos em cada uma das seis sessões realizadas em cada fase de Reinstalação. A comparação entre o desempenho apresentado na fase de Extinção com o obtido em cada sessão de Reinstalação revela que, a apresentação dos estímulos S^{D1} e S^{r1} na mesma sessão (S^{D1}/S^{r1}), reinstalou a resposta de pressão à barra em todos os sujeitos do grupo ET na 1ª Reinstalação e de três dos quatro sujeitos (SUJ1, SUJ8 e SUJ10) na 2ª Reinstalação. Ainda observa-se nessa figura que quando os estímulos foram testados separadamente, a apresentação do S^{r1} reinstalou a resposta de pressão à barra de três sujeitos (SUJ1, SUJ8 e SUJ10) na 1ª Reinstalação e de dois sujeitos (SUJ1 e SUJ10) na 2ª Reinstalação. Já a apresentação do S^{D1} sozinho reinstalou a resposta de pressão à barra apenas de um sujeito (SUJ10) na 1ª Reinstalação e de um sujeito (SUJ1) na 2ª Reinstalação. Entretanto, é importante notar que, para todos de todos os sujeitos, a frequência de respostas mantida por S^{r1} foi maior do que a mantida por S^{D1} .

Figura 7 - Desempenho dos sujeitos do grupo ET na 1ª e 2ª Reinstalação do Experimento 1. Os dados representam a frequência de respostas dos sujeitos do grupo ET em cada uma das sessões da fase de Reinstalação: luz/laranja (S^{D1}/S^{r1}), som/erva-doce (S^{D2}/S^{r2}), luz (S^{r1}), som (S^{r2}), laranja (S^{D1}) e erva-doce (S^{D2}) e a média da frequência de respostas das últimas três sessões da fase de extinção (EXT).

Pode também ser notado na Figura 7 que a apresentação de S^{D2} e S^{r2} , não reinstalou a resposta de pressão à barra de nenhum dos sujeitos em todas as sessões realizadas.

Na Figura 8 é mostrado a média da frequência de respostas das últimas três sessões da fase de extinção (EXT) e a frequência de respostas de cada sessão de Reinstalação do grupo SAC. A figura revela que nas condições S^{D1}/S^{r1} e S^{r1} a frequência de respostas foi evidentemente maior do que na condição de Extinção. Especificamente, três dos quatro sujeitos (SUJ11, SUJ13 e SUJ16) reinstalaram a pressão à barra na 1ª Reinstalação e dois sujeitos (SUJ13 e SUJ16) na 2ª Reinstalação, na condição S^{D1}/S^{r1} . Por outro lado, sob a condição S^{r1} dois sujeitos (SUJ11 e SUJ13) reinstalaram a pressão à barra na 1ª Reinstalação e três sujeitos (SUJ11, SUJ13 e SUJ16) na 2ª Reinstalação. Já a apresentação do S^{D1} sozinho não reinstalou a pressão à barra em nenhum dos sujeitos do grupo SAC em todos os testes realizados.

Figura 8 - Desempenho dos sujeitos do grupo SAC na 1ª e 2ª Reinstalação no Experimento 1. Os dados representam a frequência de respostas dos sujeitos do grupo SAC em cada uma das sessões da fase de Reinstalação. O resto igual à Figura 7.

Também pode ser observado na Figura 8 que, similar ao desempenho do grupo ET, a apresentação dos estímulos S^{D2} e S^{r2} reinstalou a resposta de pressão à barra.

O segundo Treino, Extinção e Reinstalação teve como objetivo verificar se os resultados obtidos na 1º Reinstalação poderiam ser atribuídos à ordem de apresentação das condições. Nesse sentido, observa-se nas Figuras 7 e 8 que a despeito da ordem em que foram apresentados (Tabela 2), apenas S^{D1}/S^{r1} e S^{r1} controlaram a resposta de pressão à barra.

Outra informação que pode ser extraída das Figuras 7 e 8 é que a frequência de respostas do grupo ET nas condições S^{D1}/S^{r1} e S^{r1} foi, em geral, maior do que a do grupo SAC. Esse dado é interessante se for levado em consideração que durante a Fase de Treino a frequência de respostas dos sujeitos do grupo ET foi até três vezes menor do que a dos sujeitos do grupo SAC, (Figuras 5 e 6).

Por último, foi realizada uma análise da frequência de respostas emitida na barra controle (dados não apresentados). Como descrito no método, respostas nessa barra não tinham consequências programadas. A análise revelou que a frequência de respostas emitidas nessa barra manteve-se de 0 a um máximo de 13 respostas por sessão ao longo de todo o experimento, para todos os sujeitos. Esses resultados sugerem que a resposta na barra direita permaneceu em extinção ao longo de todo o experimento.

Em resumo, o principal resultado desse experimento foi que o treino foi efetivo em estabelecer S^{r1} como reforçador condicionado da resposta reforçada por etanol, mas não estabeleceu S^{D1} como discriminativo dessa resposta. Entretanto, uma falha de controle de variáveis no delineamento experimental poderia explicar esses resultados.

Como descrito no método, as sessões de treino se caracterizavam pela apresentação de um odor (S^{D1} ou S^{D2}) que era adicionado à maravalha da bandeja da

caixa experimental. Nas fases de Extinção a maravalha não era colocada na bandeja e era de novo introduzida nas fases de Reinstalação apenas naquelas sessões em que S^{D1} ou S^{D2} foram apresentados. Nas duas primeiras sessões de reinstalação da 1ª e 2ª Reinstalação a maravalha estava presente. Por essas sessões terem sido conduzidas sem a liberação do reforçador primário, a presença da maravalha poderia ter adquirido propriedades discriminativas dessa condição. Desta forma, sua presença em algumas sessões de teste de reinstalação por ter influenciado na frequência de respostas dos sujeitos. Para avaliar se a variável “maravalha” explicava os resultados obtidos no Experimento 1, foi conduzido um segundo experimento no qual a presença e ausência de maravalha na bandeja na caixa operante foi experimentalmente controlada.

Adicionalmente, foi também controlada a variável “bebedouro”, que também poderia ter comprometido os resultados obtidos na fase de Reinstalação. No Experimento 1, o acionamento do bebedouro foi contingente à pressão à barra na fase de Treino, mas não nas fases de Extinção e Reinstalação. Pela sua relação de contingência com a apresentação dos reforçadores na fase de Treino, o acionamento do bebedouro poder ter adquirido nessa fase funções de reforçador condicionado da resposta de pressão à barra. Nesse caso, sua ausência na fase de Extinção e posteriormente na fase de Reinstalação poderia favorecer a rápida extinção da resposta na fase de Reinstalação.

EXPERIMENTO 2

Procedimento

Treino e Extinção

Os procedimentos dessas fases foram semelhante aos descritos para o 1º Treino e Extinção do Experimento 1. Contudo, duas mudanças foram realizadas no procedimento de Extinção: 1) as respostas de pressão à barra acionavam o mecanismo do bebedouro e 2) a maravalha sem essência foi colocada na bandeja da caixa experimental no início de cada sessão. Foram realizadas no total 12 sessões da fase de Treino (6 de cada componente) e 8 sessões de Extinção. As sessões de treino foram uma vez ao dia de segunda a sexta e as sessões de extinção foram realizadas diariamente.

Reinstalação

O procedimento dessa fase foi similar ao utilizado na 1ª e 2ª Reinstalação, com as seguintes diferenças: 1) as respostas de pressão à barra acionavam o mecanismo do bebedouro; 2) a maravalha foi colocada na bandeja da caixa experimental em todas as sessões e 3) a ordem das sessões era novamente semi-aleatória, com a condição de cada condição fosse apresentada em uma ordem diferente da testada nas 1ª e 2ª Reinstalação do Experimento 1 (Tabela 3).

Tabela 3

Condições experimentais de cada sessão da Reinstalação do Experimento 2. A Tabela mostra os estímulos ou a combinação de estímulos apresentadas em cada sessão de reinstalação.

Sessão	Estímulo discriminativo	Reforçador condicionado
1	S^{D2}	S^{r2}
2	S^{D1}	S^{r1}
3		S^{r2}
4	-	S^{r1}
5	S^{D1}	-
6	S^{D2}	-

Nota: S^{D1} = odor de laranja, S^{r1} = luz, S^{D2} = odor de erva-doce, S^{r2} = som

RESULTADOS EXPERIMENTO 2

Treino e Extinção

Nas Figuras 9 e 10 são mostradas as frequências de respostas dos sujeitos do grupo ET (Figura 9) e do grupo SAC (Figura 10) durante o Treino e Extinção. Pode-se observar nessas figuras que a frequência de respostas dos sujeitos de ambos os grupos foi, em geral, maior quando reforçada por etanol (grupo ET) ou sacarose (grupo SAC) do que por água. É ainda evidente a diminuição expressiva da frequência de respostas em todas as sessões da fase de extinção. Portanto, é possível afirmar que o desempenho dos sujeitos de ambos os grupos, tanto no Treino quanto na Extinção, foi similar ao observado em todas as fases de Treino e Extinção do Experimento 1.

Figura 9 - Desempenho dos sujeitos do grupo ET nas fases de Treino e Extinção do Experimento 2. Os dados representam a frequência de respostas de pressão à barra de cada sujeito em cada sessão das fases de Condicionamento e Extinção. O resto igual à Figura 5.

Figura 10 - Desempenho dos sujeitos do grupo SAC nas fases de Treino e Extinção do Experimento 2. Os dados representam a frequência de respostas de pressão à barra de cada sujeito em cada sessão das fases de Condicionamento e Extinção. O resto igual à Figura 6.

Reinstalação

A Figura 11 mostra a frequência de respostas dos sujeitos do grupo ET em cada uma das seis sessões da Reinstalação. Nota-se que, diferente do observado no Experimento 1, a resposta de pressão à barra não foi consistentemente mantida em todas as sessões em que S^{r1} foi apresentado. Especificamente, pode-se observar que SUJ1 reinstalou a resposta de pressão à barra quando S^{r1} foi apresentado na presença e na ausência de S^{D1} ; SUJ10 só reinstalou a resposta de pressão à barra quando S^{r1} foi apresentado na presença de S^{D1} ; SUJ8 reinstalou a resposta de pressão à barra apenas quando S^{r1} foi apresentado sem S^{D1} ; e por último, SUJ7 não reinstalou a resposta de pressão à barra em nenhuma das sessões de reinstalação realizadas nesse experimento.

Resultados pouco consistentes também foram obtidos pelo grupo SAC (Figura 12). Nesse grupo, SUJ 13 reinstalou a resposta de pressão à barra apenas quando S^{r1} foi apresentado na presença de S^{D1} ; dois sujeitos, SUJ11 e SUJ16 reinstalaram a resposta de

pressão à barra quando S^{r1} foi apresentado sozinho e SUJ15 não reinstalou a resposta de pressão à barra em nenhuma das sessões.

Figura 11- Desempenho dos sujeitos do grupo ET na fase de Reinstalação do Experimento 2. Os dados representam a frequência de respostas de pressão à barra em cada uma das sessões da fase de Reinstalação. O resto igual à Figura 7.

A despeito da variabilidade entre-sujeitos observada nos resultados de ambos os grupos, as Figuras 7 e 8 revelam que, em geral, a frequência de respostas reforçadas por S^{r1} , na presença ou na ausência de S^{D1} , foi maior do que a mantida pelos outros estímulos.

A frequência de respostas emitidas na barra controle (dados não apresentados) manteve-se em torno de 0 a 11 respostas por sessão ao longo de todo o experimento, para todos os sujeitos. Portanto, a resposta na barra direita permaneceu em extinção ao longo de todo o experimento.

Figura 12 - Desempenho dos sujeitos do grupo SAC na fase de Reinstalação do Experimento 3. Os dados representam a frequência de respostas de pressão à barra em cada uma das sessões da fase de Reinstalação. O resto igual à Figura 8.

Embora na fase de Treino a frequência de respostas do grupo ET tenha sido até três vezes menor do que a frequência do grupo SAC (Figuras 9 e 10), o desempenho do grupo ET quando S^{D1}/S^{r1} e quando S^{r1} foram apresentados nos testes de reinstalação foi semelhante ao desempenho do grupo SAC (Figuras 11 e 12). Esse dado é coerente com os resultados do Experimento 1, porém no primeiro experimento os dados do grupo ET nos testes de reinstalação foram, em geral, melhores que os do grupo SAC.

É importante notar que a frequência de respostas dos sujeitos dos dois grupos experimentais no testes de reinstalação desse experimento foi menor que a frequência dos testes de reinstalação do Experimento 1. Essa diferença pode ser atribuída a um efeito do re-treino, pois, pela história experimental os sujeitos podem ter aprendido que após o final da fase de treino o reforçador não seria mais liberado.

Finalmente, uma vez os resultados obtidos neste experimento foram semelhantes com os resultados do Experimento 1, é possível afirmar que a ordem de apresentação das condições experimentais na fase de Reinstalação não determinou o desempenho observado nessa fase.

DISCUSSÃO EXPERIMENTOS 1 E 2

Um dos objetivos deste trabalho foi analisar o controle de estímulos ambientais sobre as respostas reforçadas por etanol e sacarose de ratos submetidos ao procedimento *cue-induced*. Os resultados obtidos nos Experimento 1 e 2 mostraram que a apresentação do conjunto de estímulos associados com etanol ou sacarose (S^{D1}/S^{r1}), mas não o associado com água (S^{D2}/S^{r2}), manteve a resposta de pressão à barra dos sujeitos nos testes de reinstalação realizados. Corroboram, por tanto, com os dados obtidos por outros experimentos (Bachteler, et al., 2005; Ciccocioppo, Angeletti, et al., 2001; Ciccocioppo, Economidou, et al., 2004; Ciccocioppo, et al., 2003).

Adicionalmente, foi observado que a frequência de respostas mantida por S^{D1}/S^{r1} e S^{r1} foi geralmente maior quando o reforçador usado no treino foi etanol (grupo ET) do que quando foi sacarose (grupo SAC). Esse dado é relevante quando é considerado que a frequência de respostas do grupo ET foi até três vezes menor do que a frequência de respostas do grupo SAC no treino sob S^{D1}/S^{r1} . Ao mesmo tempo, é consistente com a proposta de vários autores de que estímulos associados à droga adquirem maior saliência do que estímulos associados a outros reforçadores primários (Kalivas & Volkow, 2005; Robinson & Berridge, 2001)⁸.

Outro objetivo deste experimento foi analisar separadamente o controle sobre a resposta de pressão à barra de cada um dos estímulos associados com etanol ou sacarose na fase de Treino. Essa análise parece estar ausente nas publicações que utilizam o procedimento *cue-induced*, entretanto, é necessária para a análise funcional do

⁸ Está fora do escopo do presente trabalho descrever os processos do SNC que levariam à maior saliência dos estímulos associados a drogas. No entanto, uma revisão sobre esse fenômeno pode ser encontrada em Kalivas e Volkow (2005).

fenômeno da recaída. Os resultados obtidos nos Experimentos 1 e 2 sugerem que, mesmo havendo algumas diferenças entre as condições experimentais desses experimentos, o treino foi efetivo em estabelecer um estímulo neutro (luz) como reforçador condicionado da resposta reforçada por etanol, mas falhou em estabelecer outro estímulo (odor) como discriminativo dessa resposta.

O treino discriminativo utilizado neste estudo foi diferente do tipicamente usado para o estabelecimento de discriminações simples. Usualmente, cada sessão de treino de discriminação simples envolve o reforço diferencial da resposta na presença de S^{D1} e S^{D2} sob algum esquema múltiplo de reforço, ou seja, pelo menos duas contingências de reforço são manipuladas ao longo da sessão. No presente trabalho, apenas uma das duas contingências de reforço permaneceu vigente ao longo da sessão. Em metade das sessões as respostas de pressão à barra eram reforçadas por luz e etanol (grupo ET) ou sacarose (grupo SAC) na presença de S^{D1} e no resto das sessões as respostas de pressão à barra eram reforçadas por som e água na presença de S^{D2} . Assim, poderia ser argumentado que a apresentação em sessões separadas das contingências discriminativas durante o treino foi um fator que dificultou a aquisição da discriminação entre S^{D1} e S^{D2} . Entretanto, Katner et al. (1999) e Katner e Weiss (1999) obtiveram resultados positivos com ratos após usarem um procedimento de treino de discriminação de odores similar ao usado neste experimento, mas sem manipulação experimental de reforçadores condicionados.

Uma vez que a principal diferença entre os experimentos de Katner et al. (1999) e de Katner e Weiss (1999) e os Experimentos 1 e 2 foi a apresentação de reforçadores condicionados (S^{r1} e S^{r2}) ao longo do treino discriminativo, é possível supor que foi essa a variável determinante dos resultados obtidos nos Experimento 1 e 2. Em outras

palavras, o uso do reforçador condicionado pode ter interferido no estabelecimento dos estímulos olfativos como discriminativos.

Uma das características do treino realizado que pode ter influenciado num controle maior do reforçador condicionado sobre a resposta de pressão à barra é a possibilidade da formação de uma cadeia de respostas. Caso isso tenha ocorrido, tanto os estímulos olfativos, quanto os estímulos sonoros e luminosos, sinalizavam a disponibilidade do mesmo reforçador.

O que pode acontecer nesses casos, é que o estímulo mais saliente adquira maior controle da resposta de pressão à barra (Thein, et al., 2008). Portanto, seria esperado que, pela especialização olfativa do rato, o odor adquirisse maior controle sobre a resposta do que o estímulo luminoso ou sonoro. No entanto, essa previsão é contrária aos resultados obtidos nos experimentos deste trabalho.

Entretanto, algumas características do treino realizado podem ter favorecido o maior controle do reforçador condicionado sobre a resposta de pressão à barra e ter prejudicado a aquisição da discriminação. A primeira característica é a relação temporal entre o estímulo discriminativo e o reforçador condicionado com o reforçador primário. Enquanto o estímulo discriminativo ficava presente ao longo de toda a sessão, o estímulo reforçador condicionado era apresentado apenas mediante a resposta de pressão à barra, ao mesmo tempo que o reforçador primário. Dessa forma, pode-se supor que o reforçador condicionado estaria sinalizando mais claramente ao sujeito a disponibilidade do reforçador primário.

O esquema de reforçamento utilizado também pode ter facilitado o maior controle do reforçador condicionado sobre a resposta. Tradicionalmente, o CRF é um esquema de reforço que estabelece maior controle pela consequência, portanto, seu uso

em treinos discriminativos geralmente é evitado, pois não favorece que o sujeito atente para o estímulo antecedente à resposta.

No entanto, deve ser lembrado que os estudos de Katner et al. (1999) e de Katner e Weiss (1999) acima citados reforçaram a resposta sob esquema de CRF e que os resultados da fase de Reinstalação demonstraram que o treino foi efetivo em estabelecer o estímulo olfativo como discriminativo. Pode ser possível, contudo, que a presença do reforçador condicionado no treino do presente experimento tenha fortalecido o controle pela consequência.

O Experimento 2 teve também como objetivo verificar se as variáveis “maravalha” e “bebedouro” foram determinantes dos resultados obtidos no Experimento 1. A presença da maravalha nas duas primeira sessões do teste de reinstalação do Experimento 1 poderia ter se tornado estímulo discriminativo de que o reforçador primário não seria liberado nas demais sessões em que ela estivesse presente. O mesmo acontece para o barulho do bebedouro que pode ter adquirido a função de reforçador condicionado pela sua relação de contingência com a apresentação dos reforçadores primários. Desta forma, sua ausência na fase de Extinção e posteriormente na fase de Reinstalação poderia favorecer a rápida extinção da resposta na fase de Reinstalação.

O controle dessas variáveis no Experimento 2 foi obtido pela apresentação de ambos os estímulos, maravalha e acionamento do bebedouro, em todas as fases e condições experimentais. Os padrões de desempenho obtidos nos Experimentos 1 e 2 foram semelhantes, sugerindo que a “maravalha” e o “bebedouro” não foram variáveis explicativas do desempenho observado no Experimento 1.

Outra variável que pode explicar a baixa frequência de resposta observada na presença de S^{D1} é a ausência dos reforçadores primários nas sessões de reinstalação. Tanto no Experimento 1, quanto no Experimento 2, as sessões de reinstalação na

presença de S^{D1} em conjunto com S^{r1} sempre antecedeu as sessões de apresentação individual desses estímulos. É possível, portanto, que o controle de S^{D1} sobre a resposta tenha se enfraquecido ou extinguido já na primeira sessão em que ele foi apresentado sem os reforçadores primários. Neste sentido, o desempenho observado na fase de Reinstalação poderia ser considerado como uma medida da resistência à extinção do controle adquirido no treino, mas não indicativa da efetividade do treino para estabelecer controle discriminativo sobre a resposta.

Além disso, cada fase de Reinstalação parece ter sido acompanhada de deterioro do desempenho, indicando que a frequência de respostas foi função da experiência com as sessões de reinstalação.

Com a finalidade de minimizar os efeitos da condição de extinção sobre a frequência de respostas da fase de Reinstalação foi realizado um terceiro experimento. No Experimento 3 as duas primeiras sessões da fase de Reinstalação foram seguidas do re-treino da linha de base. Foi ainda utilizado um delineamento de grupo para diminuir o número de sessões dessa fase.

EXPERIMENTO 3

Procedimento

Após três dias de habituação ao biotério, todos os animais foram privados por 24h e foram modelados a pressionar a barra esquerda da caixa operante. Como reforçador foi utilizada uma solução de 4% (v/v) de sacarose. Posteriormente, os animais foram submetidos a uma fase pré-experimental (Auto-administração oral de etanol) e a três fases experimentais (Treino, Extinção e Reinstalação).

Auto-administração oral de etanol

Essa fase tinha como objetivo que os sujeitos aprendessem a auto-administrar oralmente uma solução de 10% de etanol. As sessões dessa fase foram realizadas na caixa operante e cada pressão à barra dava acesso ao reforçador. Foram realizadas 64 sessões de 30 min de duração, seis dias por semana (segunda a sábado).

Inicialmente foi utilizado um procedimento de *fade in* de etanol e *fade out* de sacarose semelhante ao usado por (Samson, 1986). A Tabela 4 mostra a concentração das soluções usadas como reforçador em cada sessão. Nas duas primeiras sessões a concentração da solução foi de 10% de sacarose (10S), seguida de duas sessões de 2% de etanol e 10% e sacarose (2E/10S), três sessões de 5E/10S, três de 5E/5S, seis sessões intercaladas de 5E - 5E/5S, cinco sessões de 5E, cinco sessões de 10E/5S, três sessões de 10E/2S e duas sessões de 10E.

Depois de finalizada as sessões de 10E foram realizadas duas sessões de 10E/2E porque a frequência de respostas dos sujeitos diminuiu mais de 50% nas sessões em que a solução de 10E foi utilizada como reforçador. No entanto, a adição de sacarose na solução não foi suficiente para que os sujeitos retornassem à frequência de respostas das

sessões anteriores e por esse motivo foi introduzido um novo procedimento de auto-administração de etanol. O início desse novo procedimento é indicado na Tabela 4 por uma linha horizontal.

Tabela 4

Sessões da fase pré-experimental de Auto-administração oral de etanol do Experimento 3.
As sessões estão discriminadas por concentração das soluções de etanol na ordem em que foram apresentadas e número de sessões realizadas com cada concentração.

Concentração da solução	Sessões	Intervenções
10S	2 dias	
2E/10S	2 dias	
5E/10S	3 dias	
5E/5S	3 dias	
5E - 5E/5S	6 dias	
5E	5 dias	
10E/5S	5 dias	
10E/2S	3 dias	
10E	2 dias	
10E/2S	2 dias	
20E/10S	2 dias	Início novo procedimento
10E/10S	4 dias	
10E/5S	3 dias	
10E/2S	4 dias	
10E/2S	5 dias	Troca ciclo claro-escuro
10E	2 dias	
10E	3 dias	Álcool forçado na gaiola
10E	2 dias	
2S	2 dias	Linha de base sacarose
10E/2S	6 dias	

Como indicado na Tabela 4, nas duas primeiras sessões desse novo procedimento a concentração da solução foi de 20E/10S, seguida de quatro sessões de 10E/10S, três sessões de 10E/5S e de cinco sessões de 10E/2S. Após essas 11 sessões, a frequência de respostas permaneceu ainda muito baixa⁹, motivo pelo qual foi realizada uma troca do ciclo de luz/escuro dos ratos, pois conforme (Ciccocioppo, et al., 2006) durante essa parte do ciclo são observados, em ratos, picos de consumo de etanol. A troca do ciclo foi realizada gradualmente ao longo de três, para que os sujeitos pudessem se acostumar gradualmente com ela. Durante esses três dias, os sujeitos

⁹ Detalhes da frequência de respostas em cada concentração de solução são apresentados na seção de resultados.

continuaram passando pelas sessões diárias de auto-administração e a concentração da solução foi mantida em 10E/2S. Após a troca do ciclo de luz/escuro foram realizadas mais 2 sessões de 10E/2S e em seguida duas sessões de 10E.

Foi novamente registrada uma queda de mais de 50% na frequência de respostas durante os dois dias de administração das soluções de 10E. Os sujeitos foram, então, submetidos a três dias de álcool forçado, nos quais o acesso a água foi restrito à solução de 10% etanol disponível por 24h por dia. As soluções eram trocadas diariamente e não foram realizadas sessões na caixa experimental durante esses dias. Posteriormente, foram realizadas duas sessões na caixa experimental com a solução de 10E, porém, não foram observados aumentos da frequência de respostas.

Foram realizadas então duas sessões com a solução de 2% de sacarose (2S) como reforçador para estabelecer uma linha de base da frequência de respostas quando essa solução era usada com reforçador. Em seguida, foram realizadas seis sessões de 10E/2S até que a frequência de respostas dos sujeitos estabilizou. O critério de estabilidade utilizado foi que a frequência de resposta dos sujeitos não poderia variar mais de 20% em três dias consecutivos.

1º Treino e Extinção

Essa fase se iniciou na sessão seguinte ao término da fase pré-experimental de Auto-administração de etanol. As sessões de treino foram uma vez ao dia de segunda a sábado e as sessões de extinção foram realizadas diariamente. Foram realizadas sessões de 30 min de duração foram realizadas na caixa operante com as duas barras disponíveis. Respostas na barra direita eram registradas, porém não tinham consequência programada e respostas na barra esquerda davam acesso ao reforçador. Nessa fase foi realizado o treino de dois componentes distintos. Em um deles uma

solução de 10E/2S foi utilizada como reforçador e no outro foi utilizada uma solução de 2S. No primeiro componente, cinco gotas (aproximadamente 0,1 ml) de extrato com odor de laranja (S^{D1}) eram colocadas na maravalha da bandeja da caixa experimental, permanecendo ao longo de toda a sessão. Nessas sessões cada pressão à barra esquerda acionava por cinco segundos um estímulo luminoso (S^{r1}) e liberava 0,1 ml da solução de 10E/2S (S^{R1}). Nas sessões em que o reforçador era a solução de 2S (S^{R2}), cinco gotas de extrato de odor de erva-doce (S^{D2}) eram colocadas na serragem da bandeja e cada pressão na barra da esquerda acionava por cinco segundos um estímulo sonoro (S^{r2}) e o bebedouro contendo 0,1 ml desse reforçador.

Os sujeitos foram submetidos a 20 sessões de treino, 10 sessões com cada componente, realizadas seis dias por semana (segunda a sábado). A ordem das sessões era semi-aleatória com a condição de que o mesmo componente não estivesse presente em mais de três sessões consecutivas.

Ao final das sessões experimentais diárias, as caixas eram limpas e o purificador de ar eletrônico era acionado por 2 horas para eliminar vestígios de odor na sala e nas caixas experimentais.

Ao término do treino os ratos foram submetidos a 10 sessões diárias de extinção da pressão à barra de 30 min cada. Nessas sessões, a serragem foi mantida na bandeja, os estímulos discriminativos não foram apresentados e as respostas de pressão à barra, acionavam o bebedouro, mas não tinham como conseqüências a apresentação dos reforçadores condicionados e das soluções de etanol/sacarose e de sacarose.

1ª Reinstalação

Nas sessões de reinstalação os estímulos discriminativos e reforçadores condicionados usados no Treino foram reintroduzidos, as respostas de pressão à barra acionavam o bebedouro, mas não liberavam os reforçadores primários.

Foram realizadas duas sessões de 30 min de duração diariamente. No primeiro dia metade dos sujeitos foi submetido à sessão com o odor de erva-doce como estímulo discriminativo (S^{D2}) e respostas de pressão à barra tinham como consequência o acionamento do estímulo sonoro (S^{r2}); e a outra metade foi submetida a sessões com o odor de laranja como estímulo discriminativo (S^{D1}) e respostas de pressão à barra acionavam o estímulo luminoso (S^{r1}). No segundo dia cada metade dos sujeitos foi submetida ao componente em que não foi testada no primeiro dia.

2º Treino e Extinção

A fase de Treino começou no dia seguinte à última sessão de reinstalação. Foram realizados dois dias de treino, um com cada componente utilizado no 1º Treino. Em seguida foram realizadas duas sessões de extinção idênticas às realizadas na outra fase de extinção, na qual os estímulos discriminativos utilizados no treino não estavam presentes e respostas de pressão à barra não liberavam os reforçadores condicionados e primários.

2ª Reinstalação

A fase de Reinstalação se iniciou no dia seguinte ao término da fase de Extinção. Nessa fase os sujeitos foram divididos em quatro grupos experimentais com 10 ratos cada. A frequência de respostas dos sujeitos nos dois componentes do 1º Treino foi utilizada como critério para separar os ratos nesses grupos. Dessa forma, os grupos

formados eram homogêneos em relação ao desempenho apresentados pelos sujeitos no 1º Treino.

Nas sessões de reinstalação cada um dos quatro estímulos utilizados nas fases de Treino (S^{r1} , S^{D1} , S^{r2} e S^{D2}) foi apresentado separadamente para cada um dos quatro grupos experimentais. Respostas de pressão à barra não liberavam os reforçadores primários. Como mostrado na Tabela 5, o estímulo luminoso foi apresentado para o grupo 1 (S^{r1}), o odor de erva-doce foi apresentado para o grupo 2 (S^{D2}), o odor de laranja foi apresentado para o grupo 3 (S^{D1}) e o estímulo sonoro foi apresentado para o grupo 4 (S^{r2}) em todas as sessões de teste.

Tabela 5

Condições experimentais de cada sessão da 2ª Reinstalação do Experimento 3. A Tabela mostra os estímulos que foram apresentados para cada grupo experimental em cada sessão de reinstalação.

Sessão	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Sessão 1	S^{r1}	S^{D2}	S^{D1}	S^{r2}
Sessão 2	S^{r1}	S^{D2}	S^{D1}	S^{r2}
Sessão 3	S^{r1}	S^{D2}	S^{D1}	S^{r2}
Sessão 4	S^{r1}	S^{D2}	S^{D1}	S^{r2}

RESULTADOS EXPERIMENTO 3

Auto-administração oral de etanol

Como mencionado no método, a solução de 10% de etanol não foi reforçadora da resposta de pressão de barra, a despeito das mudanças realizadas no procedimento dessa fase. Na Figura 13 é apresentada a mediana da frequência de respostas e do consumo de etanol (ml/kg) na fase de Auto-administração. Nota-se nessa figura que a retirada da sacarose da solução (sessões 5E e 10E) foi consistentemente acompanhada de quedas abruptas da frequência de respostas (de 60 a 86% de diminuição em relação à concentração anterior). É também evidente na Figura 13 que os animais não consumiram doses ativas de etanol (3.15 ml/kg¹⁰) na maioria das sessões 10E.

Algumas manipulações, descritas com detalhe no método, foram realizadas para aumentar a frequência de respostas nas concentrações 10E: ingestão forçada, troca do ciclo claro/escuro e repetições do procedimento *fade*. A despeito das manipulações realizadas, a frequência de respostas nas soluções de etanol 5E e 10E permaneceu muito baixa.

Por esse motivo, foram realizadas duas sessões de linha de base com a concentração 2S e depois cinco sessões de linha de base com a concentração 10E/2S (últimas 5 sessões). Pode ser observado na Figura 13 que na concentração 2S a frequência de respostas aumentou 80% em relação a concentração anterior, e diminuiu cerca de 50% após a concentração 10E/2S ter sido reintroduzida. Nota-se ainda nessa

¹⁰ Essa quantidade de solução corresponde a 0,25 g/kg de etanol de uma solução de 10% de concentração de etanol

Figura 13 – Desempenho dos sujeitos na fase pré-experimental de Auto-administração oral de etanol do Experimento 3. Os dados representam as medianas da frequência de respostas e o consumo de etanol (ml/kg) em cada concentração da solução reforçadora da fase de Auto-administração de etanol. A linha pontilhada representa a quantidade de etanol em ml/kg correspondente a 0,25 g/kg de etanol.

figura que doses ativas de etanol foram consumidas nas últimas 5 sessões (entre 3,5 a 5,15 ml/kg).

1º Treino e Extinção

Na Figura 14 é apresentada a mediana da frequência de respostas nas fases do 1º Treino e Extinção. Como pode ser observado, a frequência de respostas dos sujeitos foi maior nas sessões em que a resposta foi reforçada por 2S (sacarose) do que nas sessões em que a resposta foi reforçada por a solução 10E/2S (etanol/sacarose).

Figura 14 – Desempenho dos sujeitos nas sessões do 1º Treino e Extinção do Experimento 3. Os dados representam a frequência de respostas de pressão à barra esquerda e direita de cada sujeito em cada sessão das sessões do 1º Treino e Extinção. No Treino pressões na barra esquerda na presença do odor de laranja foram seguidas de um estímulo luminoso e da liberação de etanol/sacarose; e pressões à barra na presença do odor de erva-doce eram seguidas de um estímulo sonoro e da liberação de sacarose. Na Extinção, os estímulos olfativos, luminosos, auditivos e o etanol/sacarose e a sacarose não estavam presentes. Em ambas as fases, pressões na barra da direita não tinham consequência programada.

Observa-se ainda na Figura 14 que na fase de Extinção a frequência de respostas dos animais diminuiu consideravelmente a partir da primeira sessão (em torno de 75% menor em relação às sessões de sacarose da fase de Treino) e que, ao final da fase de Extinção, a mediana da frequência de respostas manteve-se em torno de 4,5 respostas por sessão (aproximadamente 92% menor em relação às sessões de sacarose fase de

Treino). A frequência de respostas na barra da direita permaneceu em volta de duas respostas por sessão durante o 1º Treino e Extinção.

Um dado interessante é revelado ao serem comparadas a frequência de respostas obtidas nas sessões 10E/2S da fase de Auto-administração (Figura 13) com a frequência de resposta das sessões 10E/2S (etanol/sacarose) da fase de Treino (Figura 14). A despeito de ter sido usado o mesmo reforçador nas sessões mencionadas, nota-se que da fase de Auto-administração para a fase de Treino houve aumento em aproximadamente 35% da frequência de respostas.

1ª Reinstalação

Na Figura 15 são mostradas as medianas das frequências de respostas dos sujeitos nas duas condições da 1ª Reinstalação. Nota-se que a introdução dos estímulos S^{D1}/S^{r1} e S^{D2}/S^{r2} teve o efeito de aumentar a frequência de respostas dos sujeitos em relação à extinção. O Teste Friedman revelou que houve diferenças significativas entre as três medidas ($X^2 = 49.37$; $p < 0,001$). As comparações por pares (Teste Wilcoxon com correção Bonferroni) confirmaram que a frequência de respostas nas condições S^{D1}/S^{r1} e S^{D2}/S^{r2} foi maior do que em extinção ($Z = 5,49$; $p < 0,01$ e $Z = 5,09$; $p < 0,01$, respectivamente). Também indicaram que a frequência de respostas na condição S^{D1}/S^{r1} foi maior do que na condição S^{D2}/S^{r2} ($Z = 2.79$; $p < 0,05$).

Observa-se ainda na Figura 15 que a frequência de respostas dos sujeitos na barra da direita manteve-se em níveis de extinção durante as duas sessões da 1ª Reinstalação.

Figura 15 - Desempenho dos sujeitos na última sessão da 2ª Extinção e nas sessões da 1ª Reinstalação do Experimento 3. Os dados representam a mediana da frequência de respostas na última sessão da 2ª Extinção e da frequência de respostas na barra esquerda e direita nas duas sessões da 1ª Reinstalação: laranja / luz (S^{D1}/S^{r1}), erva-doce / som (S^{D2}/S^{r2}) e das últimas três sessões da fase de extinção (EXT). ** $p < 0,01$ para as comparações S^{D1}/S^{r1} e S^{D2}/S^{r2} com EXT e $^+p < 0,05$ para as comparações entre S^{D1}/S^{r1} e S^{D2}/S^{r2} .

Como descrito no método, devida às baixas frequências de respostas emitidas pelos sujeitos nas duas sessões de reinstalação em que os estímulos do treino foram re-apresentados em conjunto, foram realizadas uma sessão de treino de cada componente e duas de extinção. Em seguida foram realizadas as sessões de reinstalação em que os estímulos usados no treino foram apresentados separadamente.

2º Treino e Extinção

A Figura 16 mostra a mediana da frequência de respostas dos sujeitos nas duas sessões de treino realizadas no 2º Treino e Extinção. Como pode ser observado, a frequência de respostas dos sujeitos voltou aos níveis da linha de base do treino nas duas sessões realizadas. Também pode ser observado que as duas sessões de extinção realizadas foram suficientes para que a frequência de respostas dos sujeitos se igualasse à frequência de respostas dos sujeitos da primeira fase de Extinção.

Figura 16 – Desempenho dos sujeitos nas sessões do 2º Treino e Extinção do Experimento 3. Os dados representam a frequência de respostas de pressão à barra esquerda e direita de cada sujeito em cada sessão das sessões do 2º Treino e Extinção. No Treino pressões na barra esquerda na presença do odor de laranja foram seguidas de um estímulo luminoso e da liberação de etanol/sacarose; e pressões à barra na presença do odor de erva-doce eram seguidas de um estímulo sonoro e da liberação de sacarose. Na Extinção, os estímulos olfativos, luminosos, auditivos e o etanol/sacarose e a sacarose não estavam presentes. Em ambas as fases, pressões na barra da direita não tinham consequência programada.

2ª Reinstalação

Na Figura 17 é mostrada a mediana da frequência de respostas dos sujeitos dos quatro grupos experimentais nos três testes de reinstalação realizados. Nota-se que a frequência de respostas de três grupos foi maior na 1ª Reinstalação do que a frequência de respostas do último dia de extinção. O Teste Wilcoxon (correção Bonferroni) revelou que a apresentação dos estímulos S^{r1} , S^{D1} e S^{r2} , mas não de S^{D2} , reinstalou a frequência de pressão à barra ($Z = 2,49$; $p < 0,05$, $Z = 2,67$; $p < 0,05$, $Z = 2,70$; $p < 0,05$ e $Z = 1,98$; $p = \text{n.s.}$, respectivamente). Também pode ser observado nessa figura que as respostas na barra direita se mantiveram em nível de extinção em todas as sessões de reinstalação.

Figura 17 – Desempenho dos sujeitos na última sessão da 2ª Extinção e nas sessões da 2ª Reinstalação do Experimento 3. Os dados representam a mediana da frequência de respostas na última sessão da 2ª Extinção e a frequência de respostas na barra esquerda e direita nas três sessões da 2ª Reinstalação. O estímulo luminoso (S^{r1}) foi apresentado para o grupo 1, o odor de erva-doce (S^{D2}) foi apresentado para o grupo 2, o odor de laranja (S^{D1}) foi apresentado para o grupo 3 e o estímulo sonoro (S^{r2}) foi apresentado para o grupo 4 em todas as sessões de teste. * $p < 0,00$ para as comparações S^{r1} , S^{D1} e S^{r2} com EXT na primeira sessão de teste.

Como a frequência de respostas dos sujeitos foi muito baixa, a partir do segundo teste de reinstalação não se justificava realizar mais análises estatísticas.

A Figura 18 mostra o efeito da extinção sobre o desempenho dos quatro grupos experimentais nas sessões da 2ª Reinstalação. Nota-se que, apesar das frequências de respostas dos sujeitos ter sido muito baixa, é possível notar, ao longo das sessões de teste, que o controle estabelecido pelos estímulos S^{r1} e S^{r2} sobre a resposta de pressão à barra foi mais resistente à extinção que o controle estabelecido por S^{D1} .

Com a finalidade de observar com maior clareza a diminuição da frequência de respostas ao longo da 2ª Reinstalação, são apresentados na Figura 18 os dados das 3 sessões de reinstalação. A inspeção dessa figura sugere que a diminuição da frequência de respostas foi maior e mais rápida para os estímulos discriminativos S^{D1} e S^{D2} do que para os reforçadores condicionados (S^{r1} e S^{r2}).

Figura 18 – Efeito da extinção sobre o desempenho dos sujeitos ao longo das sessões da 2ª Reinstalação. Os dados representam o efeito da extinção sobre o desempenho dos quatro grupos experimentais nas três sessões da 2ª Reinstalação.

DISCUSSÃO EXPERIMENTO 3

Esse experimento teve o objetivo de minimizar os efeitos da condição de extinção sobre a frequência de respostas da fase de Reinstalação.

Os procedimentos utilizados na fase pré-experimental de auto-administração de etanol não foram eficazes para estabelecer a solução de 10% de etanol (10E) como reforçador. Deste modo, para tornar a solução de etanol reforçadora, foi necessário adoçá-la com sacarose. Como a solução de etanol foi adoçada, foi necessário também que a água, que seria utilizada como reforçador no segundo componente do treino fosse adoçada também com sacarose, para garantir que os resultados obtidos com a solução de etanol adoçada com sacarose não fossem atribuídos à presença de sacarose na solução.

Os dados obtidos na fase de Treino indicaram que a solução de sacarose foi mais efetiva como reforçador do que a solução de etanol/sacarose. Essa diferença poderia indicar que o etanol foi aversivo para a maioria dos sujeitos, pois a única variável que mudou nas soluções utilizadas como reforçador foi a presença do etanol. Entretanto, existem pesquisas que sugerem que esse resultado pode ser função do esquema de reforço utilizado, pois sob esquemas múltiplos de reforço FR4 FR4, as frequências de respostas mantidas por soluções de etanol adocicadas com sacarose são, geralmente, maiores do que as mantidas por soluções de apenas sacarose (Slawewski, Hodge, & Samson, 1997).

Existem ainda relatos vindos de pesquisas sobre valor reforçador de estímulos que sugerem que sob esquema de reforço contínuo as taxas de respostas mantidas por estímulos primários como comida ou água são maiores do que as mantidas por drogas, todavia, essa relação se inverte quando esquemas de reforço intermitente são utilizados (Bernardes, 2008; Garcia-Mijares, 2005). Uma possível explicação desses dados é que

alterações motoras decorrentes da ingestão da droga afetam mais o desempenho mantido sob esquemas CRF do que o mantido sob esquemas intermitentes. Isso acontece porque a ingestão de doses ativas da droga ocorre mais cedo quando cada resposta é reforçada e, como consequência, os efeitos da droga sobre a taxa de resposta são observados mais cedo na sessão.

Os resultados obtidos da 1ª Reinstalação do Experimento 3 indicaram que a apresentação conjunta de S^{D1}/S^{r1} e de S^{D2}/S^{r2} reinstalou a resposta de pressão à barra dos sujeitos. Esses dados são consistentes com os obtidos nos Experimentos 1 e 2 para etanol e sacarose e somam-se à evidência que mostra que estímulos associados à auto-administração de etanol passam a controlar esse comportamento (Bachteler et al., 2005; Ciccocioppo, Angeletti et al., 2001; Ciccocioppo, Economidou et al., 2004; Ciccocioppo et al., 2003; Ciccocioppo et al., 2002). Entretanto, como será discutido posteriormente, a frequência de respostas mantidas por esses estímulos foi muito baixa quando comparada com a obtida nos Experimentos 1 e 2.

Na 2ª Reinstalação foi observado que a resposta de pressão à barra foi reinstalada pelo estímulo discriminativo e pelo reforçador condicionado associados ao etanol S^{D1} e S^{r1} respectivamente, assim como pelo reforçador condicionado associado à sacarose (S^{r2}), mas não pelo estímulo discriminativo associado com essa solução (S^{D2}). Esse resultado é um pouco discordante dos obtidos nos Experimentos 1 e 2, nos quais foi verificado que os reforçadores condicionados associados com etanol ou sacarose, mas não os estímulos discriminativos, adquiriram controle sobre a resposta de pressão à barra. Contudo, é importante destacar que, neste experimento, a frequência de respostas observada na 2ª Reinstalação foi muito baixa quando comparada com a obtida nas fases de Reinstalação do Experimentos 1 e 2. Essa diferença de frequências de respostas parece ser indicativa de que, a despeito da sua significância estatística, o aumento da

freqüência de respostas na fase de Reinstalação do Experimento 3 não deve ser interpretado como medida do controle adquirido pelos estímulos associados aos reforçadores. Em outras palavras, as discrepâncias entre os resultados do Experimento 3 com os dos Experimentos 1 e 2 e a baixa freqüência de respostas mantidas pelos estímulos S^{D1} , S^{r1} , S^{r2} , S^{D2} sugere que o treino não foi eficaz em estabelecer esse estímulos como discriminativos ou reforçadores condicionados da resposta de pressão à barra.

Uma possível explicação para as diferenças entre o Experimento 3 e os Experimentos 1 e 2 mencionadas acima é que o valor reforçador das soluções usadas como reforçadores (etanol e sacarose) foi maior para os sujeitos dos Experimento 1 e 2 do que para os sujeitos do Experimento 3. Essa proposta parece ser apoiada pelos resultados das fases de Treino desses experimentos, nos quais é claramente observado que a freqüência de respostas do Experimento 3 foi muito mais baixas do que a dos Experimentos 1 e 2.

Esses dados parecem sugerir que os sujeitos dos Experimentos 1 e 2 tinham maior preferência por etanol do que os sujeitos do Experimento 3¹¹. Uma variável relevante para explicar as diferenças de preferência pode ser a procedência dos ratos, pois os animais do Experimento 3 foram adquiridos em um biotério diferente dos animais dos Experimento 1 e 2. Traços genéticos diferentes poderiam ter sido selecionados em cada biotério, apesar de ambos pertencerem à mesma linhagem. A diferença de desempenho de ratos Wistar de diferentes biotérios já foi observada por (Franceschini & Hunziker, 2007). Esse estudo comparou o desempenho de ratos criados

¹¹ A concentração de sacarose no experimento 1 e 2 foi 14,5% e foi 2% no Experimento 3. Por esse motivo, não é possível comparar a preferência por sacarose dos sujeitos do Experimento 3 com os dos Experimentos 1 e 2.

no biotério da veterinária da USP (grupo Vet) e de ratos do Instituto Butantan (grupo But) quanto ao consumo de sacarose em testes de preferência de líquidos e quanto a outros comportamentos como fuga na *shuttlebox* e de fuga da estimulação térmica, não relevantes para o presente estudo. Os resultados obtidos revelaram que o consumo de sacarose dos ratos do grupo But foi significativamente maior do que o consumo dos ratos do grupo Vet. Também foram encontradas diferenças nos outros comportamentos medidos. Deste modo, os sujeitos do grupo But diferiram significativamente dos sujeitos do grupo Vet em todos os parâmetros testados. É interessante notar que também o nosso grupo de ratos proveniente do Instituto Butanta (Experimentos 1 e 2) mostrou maior consumo de etanol do que os ratos do outro biotério.

Está bem documentado que o controle de estímulos discriminativos e reforçadores condicionados sobre o comportamento é função do valor reforçador dos estímulos (reforçadores primários) a eles associados. (Matos, 1981; Kelleher & Gollub 1962). Conseqüentemente, a aquisição de discriminações é facilitada quando reforçadores “robustos” são usados durante o treino e, em contrapartida, é dificultada quando são usados reforçadores “fracos”¹².

Como proposto nesta discussão, os reforçadores usados durante o treino foram pouco efetivos em controlar a resposta de pressão à barra. É, portanto, possível supor que os estímulos associados a esses reforçadores também tenham adquirido pouco controle sobre essa resposta.

Outra variável que pode ter interferido no treino discriminativo e no reforço condicionado foi o número de sessões da fase de Auto-administração, que foi maior no

¹² Reforçadores “robustos” ou “fracos” são usados aqui como sinônimos do controle que os reforçadores têm sobre a manutenção da resposta.

Experimento 3 em relação à dos Experimentos 1 e 2. Portanto, os animais do Experimento 3 foram expostos a uma longa história de reforço antes dos estímulos serem introduzidos no treino. Essa história pode ter prejudicado o estabelecimento de controle dos estímulos sobre a resposta de pressão à barra, pois o treino dessa resposta sem os estímulos discriminativos e reforçadores condicionados foi mais extenso do que com eles.

O argumento até agora aqui defendido é que os estímulos apresentados durante o treino não adquiriram controle sobre a resposta de pressão à barra, e que essa é a explicação mais parcimoniosa dos resultados obtidos no Experimento 3. Entretanto, dois dados discretos, mas consistentes, parecem sugerir que os estímulos adquiriam algum controle sobre essas resposta.

O primeiro dado sugestivo é que a frequência de respostas mantida pelos estímulos associados com etanol (S^{D1}/S^{r1}) foi maior do que a mantida pelos estímulos associados com sacarose (S^{D2}/S^{r2}). Pode ser argumentado que a diferença observada foi muito pequena (em torno de 5 respostas) para ser considerada importante em termos comportamentais. No entanto, esse resultado foi também observado nos Experimentos 1 e 2 e é compatível com a literatura que mostra estímulos associados com drogas adquirem maior controle sobre a resposta do que estímulos associados com outros reforçadores primários (Bachteler et al., 2005; Ciccocioppo, Angeletti et al., 2001; Ciccocioppo, Economidou et al., 2004; Ciccocioppo et al., 2003; Ciccocioppo et al., 2002, Katner, Magalong, & Weiss, 1999; Katner & Weiss, 1999, Kalivas, 2005, Ciccocioppo, Sanna et al., 2001; Di Ciano & Everitt, 2004; Rogers, De Santis, & See, 2008; F. Weiss et al., 2000).

O segundo resultado provém dos dados obtidos na segunda e na terceira sessão da 2ª Reinstalação, pois sugerem que a extinção da resposta foi mais demorada quando a resposta foi reforçada por S^{r1} e S^{r2} do que quando evocada por S^{D1} e S^{D2} . Note-se que esse resultado é também compatível com a proposta apresentada na discussão dos Experimentos 1 e 2 de que o desempenho observado na fase de Reinstalação pode ser uma medida da resistência a extinção do treino discriminativo e reforço condicionado.

Em resumo, os resultados do Experimento 3 não são conclusivos, pois a frequência mantida pelos estímulos usados como reforçadores primários foi baixa e, por conseguinte, a frequência mantida pelos estímulos discriminativos e reforçadores condicionados a eles associados foi também baixa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um dos objetivos deste trabalho foi replicar os dados obtidos por pesquisas que sugerem que o modelo animal *cue-induced* é efetivo para estabelecer controle de estímulos discriminativos e reforçadores condicionados sobre as respostas reforçadas por etanol e sacarose. Nesse procedimento uma mesma classe de respostas (por exemplo, pressão à barra) é treinada sob duas condições de reforço diferentes. Em uma das condições, as respostas são emitidas na presença de um estímulo discriminativo (S^{D1}) e têm como consequência a apresentação de um reforçador condicionado (S^{R1}) e a liberação de uma droga (S^{R1}). Na outra condição, as respostas são emitidas na presença de estímulo discriminativo (S^{D2}) e têm como consequência a apresentação de um reforçador condicionado (S^{R2}) e a liberação de água ou salina (S^{R2}). Finalizado o treino, é testado em extinção o controle que cada conjunto de estímulos (S^{D1}/S^{R1} ou S^{D2}/S^{R2}) adquiriu sobre a classe de respostas. Usando esse procedimento, vários experimentos têm mostrado repetidamente que as respostas são mantidas apenas pelo conjunto de estímulos S^{D1}/S^{R1} e não pelo conjunto S^{D2}/S^{R2} (Bachteler, et al., 2005; Ciccocioppo, Angeletti, et al., 2001; Ciccocioppo, et al., 2003; Ciccocioppo, et al., 2002; Ciccocioppo, Sanna, et al., 2001). Esse resultado é geralmente considerado uma evidência de que estímulos ambientais associados com respostas reforçadas por drogas induzem a recaída a drogas e mantêm a auto-administração dessas substâncias. Os resultados obtidos nos Experimentos 1 e 2 deste estudo replicaram essas pesquisas e verificaram sua generalidade para outros reforçadores primários além das drogas de abuso.

Embora o modelo *cue-induced* seja o procedimento mais utilizado para estudar os processos neurofisiológicos associados ao fenômeno de recaída a drogas (Heinz, Beck, Grusser, Grace, & Wrase, 2009), seu valor para a análise dos processos

comportamentais da dependência tem sido limitado, pois não permite distinguir o controle dos estímulos discriminativos do controle dos reforçadores condicionados sobre a resposta de auto-administração da droga (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006). Deste modo, outro dos objetivos da presente pesquisa foi analisar separadamente o controle sobre a resposta de pressão à barra de cada um dos estímulos discriminativos e reforçadores condicionados associados durante o treino com etanol ou sacarose, pois essa análise parece estar ausente nas publicações que utilizam o modelo *cue-induced*.

Os resultados obtidos nos dois primeiros experimentos deste estudo sugerem que o treino foi efetivo em estabelecer um estímulo neutro (luz) como reforçador condicionado da resposta de pressão à barra reforçada por etanol ou sacarose, mas falhou em estabelecer outro estímulo neutro (odor) como discriminativo dessa mesma resposta. Esses dados sugerem, portanto, que a reinstalação da resposta de pressão à barra, tipicamente observada na fase de teste do modelo *cue-induced*, é função do reforço condicionado e não do treino discriminativo realizados na fase de treino.

Entretanto, podia ser argumentado que a experiência com as primeiras sessões das fases de Reinstalação extinguiram o controle estabelecido pelo estímulo discriminativo sobre a resposta de pressão à barra. Como consequência, a frequência de respostas foi baixa nas sessões posteriores em que foi apresentado. Neste sentido, os resultados da fase de Reinstalação podiam ser considerados medidas da resistência à extinção da resposta discriminada e não da efetividade do treino para estabelecer controle discriminativo sobre a resposta. Para resolver essa questão, foi realizado mais um experimento (Experimento 3) que pretendeu minimizar os efeitos da condição de extinção da fase de Reinstalação sobre a frequência de respostas.

Os resultados obtidos no Experimento 3 foram difíceis de serem interpretados, pois o procedimento utilizado na fase de Auto-administração não foi suficiente para que o etanol se tornasse reforçador para os sujeitos. Depois de terem sido efetuadas várias manipulações, foi necessário adoçar a solução de etanol com sacarose e, em contrapartida, a água também foi adoçada, pois era usada como reforçador no outro componente do treino. Os resultados do Experimento 3 mostraram que ambos os reforçadores mantiveram baixas frequências de respostas. Como consequência, as frequências de respostas obtidas na fase de Reinstalação foram também baixas. Embora as análises estatísticas realizadas tenham acusado diferenças significativas entre as frequências de respostas mantidas nas fases de Extinção e Reinstalação, essas diferenças também foram pequenas¹³. Baseado nesses resultados foi sugerido que o treino não foi eficaz para estabelecer os estímulos como discriminativos ou reforçadores condicionados da resposta de pressão à barra.

Todavia, deve ser destacado que os resultados do Experimento 3 foram, em geral, consistentes com os obtidos nos Experimentos 1 e 2. Adicionalmente, sugerem que a extinção da resposta foi mais demorada quando a resposta teve como consequência os reforçadores condicionados do que quando evocada pelos estímulos discriminativos, o que é compatível com a proposta de que os resultados dos Experimentos 1 e 2 poderiam ser interpretados como medidas de resistência à extinção.

Em resumo, os dados obtidos nesse estudo indicam que o procedimento utilizado no modelo *cue-induced* é eficaz em estabelecer o controle de reforçadores condicionados sobre a resposta de auto-administração de etanol e de sacarose. No

¹³ A maioria dos sujeitos emitiu entre 5 a 6 respostas a mais na fase de Reinstalação do que na Extinção. Esse dado contrasta com as diferenças de até 60 respostas observadas nos Experimentos 1 e 2.

entanto, os dados são inconclusivos no que tange ao estabelecimento do controle de estímulos discriminativos sobre essa mesma resposta.

Considerando o até aqui exposto, parece que são ainda necessários maiores refinamentos no procedimento para a obtenção de resultados que permitam avaliar os controles estabelecidos pelas contingências de reforço da fase de Treino.

Para resolver a possibilidade dos dois estímulos estarem sinalizando o reforço e, portanto, um adquirir maior controle que o outro, é necessário que o treino do estímulo discriminativo e do reforçador condicionado não seja realizado na mesma sessão. Desta forma, poderiam ser realizadas sessões de treino separadas para garantir que o treino de um estímulo não interfira no do outro.

Para melhorar a efetividade dos treinos de discriminação a apresentação e remoção dos estímulos olfativos deveria ser controlada com maior precisão e os estímulos não deveriam permanecer ao longo de toda a sessão experimental. Além disso, o esquema CRF precisaria ser mudado para algum esquema intermitente para garantir maiores frequências de respostas dos sujeitos e maior controle pelo antecedente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Associação Americana de Psiquiatria (1994/2002). *Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais-IV*. Trad. D. Batista. Porto Alegre: Artes Médicas.
- Bachteler, D., Economidou, D., Danysz, W., Ciccocioppo, R., & Spanagel, R. (2005). The effects of acamprosate and neramexane on cue-induced reinstatement of ethanol-seeking behavior in rat. *Neuropsychopharmacology*, 30(6), 1104-1110.
- Bernardes, A. M. T. (2008). *Efeito de enriquecimento ambiental na auto-administração oral de álcool em ratos*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo.
- Catania, A. (1999). *Aprendizagem: Comportamento, Linguagem e Cognição* (D. d. G. d. Souza, Trans. 4 ed. Porto Alegre: Artmed Editora.
- Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas/Universidade Federal de São Paulo (Cebrid) (2005). *Bebidas Alcoólicas*. Disponível: http://www.unifesp.br/dpsicobio/cebrid/folhetos/alcool_.htm. Acessado em 30/10/2009.
- Childress, A. R., Hole, A. V., Ehrman, R. N., Robbins, S. J., McLellan, A. T., & O'Brien, C. P. (1993). Cue reactivity and cue reactivity interventions in drug dependence. *NIDA Res Monogr*, 137, 73-95.
- Ciccocioppo, R., Angeletti, S., & Weiss, F. (2001). Long-lasting resistance to extinction of response reinstatement induced by ethanol-related stimuli: role of genetic ethanol preference. *Alcohol Clin Exp Res*, 25(10), 1414-1419.
- Ciccocioppo, R., Economidou, D., Cippitelli, A., Cucculelli, M., Ubaldi, M., Soverchia, L., et al. (2006). Genetically selected Marchigian Sardinian alcohol-preferring

(msP) rats: an animal model to study the neurobiology of alcoholism. *Addict Biol*, 11(3-4), 339-355.

Ciccocioppo, R., Economidou, D., Fedeli, A., Angeletti, S., Weiss, F., Heilig, M., et al. (2004). Attenuation of ethanol self-administration and of conditioned reinstatement of alcohol-seeking behaviour by the antiopioid peptide nociceptin/orphanin FQ in alcohol-preferring rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 172(2), 170-178.

Ciccocioppo, R., & Hyytia, P. (2006). The genetic of alcoholism: learning from 50 years of research. *Addict Biol*, 11(3-4), 193-194.

Ciccocioppo, R., Lin, D., Martin-Fardon, R., & Weiss, F. (2003). Reinstatement of ethanol-seeking behavior by drug cues following single versus multiple ethanol intoxication in the rat: effects of naltrexone. *Psychopharmacology (Berl)*, 168(1-2), 208-215.

Ciccocioppo, R., Martin-Fardon, R., & Weiss, F. (2002). Effect of selective blockade of mu(1) or delta opioid receptors on reinstatement of alcohol-seeking behavior by drug-associated stimuli in rats. *Neuropsychopharmacology*, 27(3), 391-399.

Ciccocioppo, R., Martin-Fardon, R., & Weiss, F. (2004). Stimuli associated with a single cocaine experience elicit long-lasting cocaine-seeking. *Nat Neurosci*, 7(5), 495-496.

Ciccocioppo, R., Sanna, P. P., & Weiss, F. (2001). Cocaine-predictive stimulus induces drug-seeking behavior and neural activation in limbic brain regions after multiple months of abstinence: reversal by D(1) antagonists. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(4), 1976-1981.

- Di Ciano, P., & Everitt, B. J. (2004). Conditioned reinforcing properties of stimuli paired with self-administered cocaine, heroin or sucrose: implications for the persistence of addictive behaviour. *Neuropharmacology*, 47 Suppl 1, 202-213.
- Epstein, D. H., Preston, K. L., Stewart, J., & Shaham, Y. (2006). Toward a model of drug relapse: an assessment of the validity of the reinstatement procedure. *Psychopharmacology (Berl)*, 189(1), 1-16.
- Francesquini, A. C. T. & Hunziker, M. H. L. (2007). [Produção de anedonia e déficit de aprendizagem por dois modelos de estresse agudo: Desamparo aprendido e Chronic Mild Stress]. Dados não publicados.
- Fuchs, R. A., Tran-Nguyen, L. T., Specio, S. E., Groff, R. S., & Neisewander, J. L. (1998). Predictive validity of the extinction/reinstatement model of drug craving. *Psychopharmacology (Berl)*, 135(2), 151-160.
- Garcia-Mijares, M. (2005). *Efeitos da pré-exposição a dietilpropiona e a cafeína sobre o valor reforçador da dietilpropiona*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- Guerra, L. G. G. C. & Silva, M. T. A. (2002). Modelos animais de psicopatologia: fundamentos conceituais. In: H. J. Guilhardi; M. B. B. P. Madi; P. P. Queiroz; M. C. Scoz. (Org.). *Sobre comportamento e cognição*. Santo André: ESETec, v. 9, p. 232-235.
- Heinz, A., Beck, A., Grusser, S. M., Grace, A. A., & Wrase, J. (2009). Identifying the neural circuitry of alcohol craving and relapse vulnerability. *Addict Biol*, 14(1), 108-118.

- Kalivas, P. W., & Volkow, N. D. (2005). The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am J Psychiatry*, 162(8), 1403-1413.
- Katner, S. N., Magalong, J. G., & Weiss, F. (1999). Reinstatement of alcohol-seeking behavior by drug-associated discriminative stimuli after prolonged extinction in the rat. *Neuropsychopharmacology*, 20(5), 471-479.
- Katner, S. N., & Weiss, F. (1999). Ethanol-associated olfactory stimuli reinstate ethanol-seeking behavior after extinction and modify extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens. *Alcohol Clin Exp Res*, 23(11), 1751-1760.
- Katz, J. L., & Higgins, S. T. (2003). The validity of the reinstatement model of craving and relapse to drug use. *Psychopharmacology (Berl)*, 168(1-2), 21-30.
- Kelleher, R. T. & Gollub, L. R. (1962). A review of positive conditioned reinforcement. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 5, 543-597.
- Matos, M. A. (1981). O controle dos estímulos sobre o comportamento. *Psicologia*, 7 (2) p. 1-15, 1981.
- McKim, W. (2006). *Drugs and Behavior* (6th Edition ed.). New Jersey: Prentice Hall.
- O'Brien, C. P., Childress, A. R., Ehrman, R., & Robbins, S. J. (1998). Conditioning factors in drug abuse: can they explain compulsion? *J Psychopharmacol*, 12(1), 15-22.
- O'Brien, C. P., & Gardner, E. L. (2005). Critical assessment of how to study addiction and its treatment: human and non-human animal models. *Pharmacol Ther*, 108(1), 18-58.

- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (2001). Incentive-sensitization and addiction. *Addiction*, 96(1), 103-114.
- Samson, H. H. (1986). Initiation of ethanol reinforcement using a sucrose-substitution procedure in food- and water-sated rats. *Alcohol Clin Exp Res*, 10(4), 436-442.
- Samson, H. H., Files, F. J., Denning, C., & Marvin, S. (1998). Comparison of alcohol-preferring and nonpreferring selectively bred rat lines. I. Ethanol initiation and limited access operant self-administration. *Alcohol Clin Exp Res*, 22(9), 2133-2146.
- Samson, H. H., Sharpe, A. L., & Denning, C. (1999). Initiation of ethanol self-administration in the rat using sucrose substitution in a sipper-tube procedure. *Psychopharmacology (Berl)*, 147(3), 274-279.
- Samson, H. H., Tolliver, G. A., Lumeng, L., & Li, T. K. (1989). Ethanol reinforcement in the alcohol nonpreferring rat: initiation using behavioral techniques without food restriction. *Alcohol Clin Exp Res*, 13(3), 378-385.
- Sanchis-Segura, C., & Spanagel, R. (2006). Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. *Addict Biol*, 11(1), 2-38.
- Silva, M. T. A., Guerra, L. G. G. C., & Alvez, C. R. R. (2005). Modelos comportamentais em neurociências. *Revista Brasileira de Análise do Comportamento*, 1, p. 167-185.
- Slawecki, C. J., Hodge, C. W., & Samson, H. H. (1997). Dopaminergic and opiate agonists and antagonists differentially decrease multiple schedule responding maintained by sucrose/ethanol and sucrose. *Alcohol*, 14(3), 281-294.

- Thein, T., Westbrook, R. F., & Harris, J. A. (2008). How the associative strengths of stimuli combine in compound: summation and overshadowing. *J Exp Psychol Anim Behav Process*, 34(1), 155-166.
- Weiss, F., Maldonado-Vlaar, C. S., Parsons, L. H., Kerr, T. M., Smith, D. L., & Ben-Shahar, O. (2000). Control of cocaine-seeking behavior by drug-associated stimuli in rats: effects on recovery of extinguished operant-responding and extracellular dopamine levels in amygdala and nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(8), 4321-4326.
- Williams-Hemby, L., & Porrino, L. J. (1997a). I. Functional consequences of intragastrically administered ethanol in rats as measured by the 2-[14C]deoxyglucose method. *Alcohol Clin Exp Res*, 21(9), 1573-1580.
- Williams-Hemby, L., & Porrino, L. J. (1997b). II. Functional consequences of intragastrically administered ethanol in rats as measured by the 2-[14C]deoxyglucose method: the contribution of dopamine. *Alcohol Clin Exp Res*, 21(9), 1581-1591.
- Wilner, P. (1991). Behavioural models in psychopharmacology. In: P. Wilner, Editor, *Behavioural models in psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Woody, G. E., McLellan, A. T., & O'Brien, C. P. (1990). Research on psychopathology and addiction: treatment implications. *Drug Alcohol Depend*, 25(2), 121-123.
- Zironi, I., Burattini, C., Aicardi, G., & Janak, P. H. (2006). Context is a trigger for relapse to alcohol. *Behav Brain Res*, 167(1), 150-155.